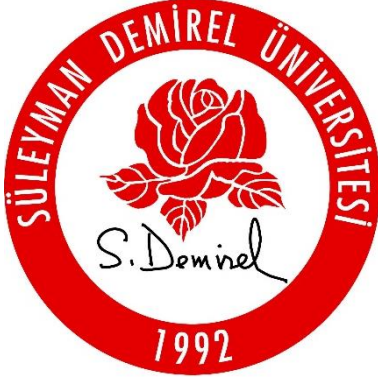


FASJS

Faculty of Arts and Science Journal of Science



SÜLEYMAN DEMİREL
UNİVERSİTY



Süleyman Demirel University
Faculty of Arts and Sciences
Journal of Science

Volume

18

Issue

2

Year

2023

e-ISSN

1306-7575

Issue Note: As of 01.01.2023, Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Sciences Journal of Science started to evaluate only the studies submitted in English. In this context, studies (prepared in Turkish or English) that were sent before 01.01.2023 or that are currently under evaluation on this date have been published in this issue.

Sayı Notu: Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi 01.01.2023 itibarıyla sadece İngilizce dilinde sunulmuş çalışmaları değerlendirmeye almaya başlamıştır. Bu bağlamda 01.01.2023 tarihinden önce gönderilmiş veya bu tarihte hali hazırda değerlendirme aşamasında olan çalışmalar (Türkçe ve İngilizce dillerinde hazırlanmış) bu sayıda yayınlanmıştır.

Journal Boards

Privilige Owner

Prof. Dr. Mehmet Ali TABUR

Editor-in-Chief

Prof. Dr. Abdullah KAPLAN

Section Editors

Prof. Dr. Mehmet GÜRDAL Prof. Dr. Abdullah KAPLAN Prof. Dr. Tahir TİLKİ Prof. Dr. Selda TEKİN ÖZAN

Advisory Board

Prof. Dr. Abdullah AYDIN	Prof. Dr. Alexander VASİN	Prof. Dr. Bayram ŞAHİN
Prof. Dr. Ekrem SAVAŞ	Prof. Dr. Gerhard WEBER	Prof. Dr. İzzet ŞENER
Prof. Dr. Nazan ÜZÜM	Prof. Dr. Mohamed BELGAID	Prof. Dr. Orhan KARABULUT
Prof. Dr. Oscar J. GARAY	Prof. Dr. Selma ÖZÇAĞ	Prof. Dr. Yogesh Chandra SHARMA
Prof. Dr. Hasan GENÇ	Prof. Dr. Özgür EMİROĞLU	Dr. Diogo PINHEIRO
Dr. Anna FARKAS	Dr. Julia Puseletso MOFOKENG	Dr. Zohra BEN SALEM

Technical Editors

Assoc. Prof. Dr. Mert ŞEKERCİ Assist. Prof. Dr. Mehmet Akif YETİM

Layout Editors

Assoc. Prof. Dr. Durmuş Ali ALDEMİR	Assist. Prof. Dr. Nurullah YILMAZ	Assist. Prof. Dr. Damla ÖNDER
Assist. Prof. Dr. Zekiye ÇİLOĞLU ŞAHİN	Assist. Prof. Dr. Kader POTURCU	Res Asst. Dr. Elif BEKLEN BARTO
Res Asst. Dr. İsmail ERKAYA	Res Asst. Özgecan TİRYAKİ	Res Asst. Yiğit ANTEPLİOĞLU
Res Asst. Yunus Emre BÜLBÜL	Res Asst. Elif MUSLU	Res Asst. Saime KOLANCI

Language Editors

Assist. Prof. Dr. Ali Osman YALKIN Assist. Prof. Dr. Yeşim Sultan AKBAY

Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Science Journal of Science is a peer-reviewed scientific journal published semi-annually, in May and November.

Original scientific research articles submitted in English in the fields of Biology, Physics, Chemistry and Mathematics are continued in the scientific review process after the preliminary evaluation stage, where similarity and layout checks are made.

No fee is charged from the author or institution under any name.

Special numbers/issues can be published without changing the periodic publication frequency during the year.

Since 2017; technical notes, letters to the editor, discussions, case reports and reviews will not be accepted.

As of 01.01.2023, Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Sciences Journal of Science will only accept studies submitted in English.

Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Science Journal of Science (SDUFASJS) takes into account the principles published by the Higher Education Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive and “Committee on Publication Ethics” (COPE). In this context, the issues that are important for the authors, referees and editors are specified in the “Ethical Principles and Publication Policy” page of the journal website.

Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Science Journal of Science is indexed in the following databases.

- ULAKBIM TR – Dizin
- Bielefeld Academic Search Engine (BASE)
- Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI) - CAB Direct
- China National Knowledge Infrastructure (CNKI)
- Crossref
- Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD)
- EBSCO host
- Elektronische Zeitschriftenbibliothek (EZB)
- German Union Catalogue of Serials (ZDB)
- Google Academic
- Index Copernicus
- Information Matrix for the Analysis of Journals (MIAR)
- MathSciNet
- ResearchBib
- WorldCat

İÇİNDEKİLER/CONTENTS

Berezin Yarıçapı İçin Diğer Eşitsizlikler	28
<i>Further Inequalities For The Berezin Radius</i> Hamdullah Başaran, Mehmet Gürdal	
²⁰⁹Bi izotopunun (p,xn), (p,xp), (p,xd) ve (p,xt) Reaksiyonlarının Teorik Nükleer Modeller İle İncelenmesi	41
<i>The Investigation of (p,xn), (p,xp), (p,xd) and (p,xt) Reactions of ²⁰⁹Bi isotope with Theoretical Nuclear Models</i> Hasan Özdoğan, Yiğit Ali Üncü	
Ir-191 ve Ir-193 izotoplarının (n,2n), (n,p) ve (n,α) Reaksiyon Tesir Kesitlerinin İncelenmesi	50
<i>Investigation of (n,2n) and (n,p) Reaction Cross Sections of Ir-191 and Ir-193 Isotopes</i> Halide Şahan, Eda Şenyiğit	
Prematüre Retina Kan Damarlarının Tespitinde Farklı Görüntü İşleme Yöntemlerinin Performanslarının Karşılaştırılması	62
<i>Comparison of Performances of Different Image Processing Methods in Detection of Prematurity Retinal Blood Vessels</i> Evren Sezgin, Yiğit Ali Üncü, Ahmet Yardımcı	
The effect of Na Atom on TlInSe₂ and TlInTe₂ Compounds	76
<i>Na Atomunun TlInSe₂ ve TlInTe₂ Bileşikleri Üzerindeki Etkisi</i> İsmail Yücel	
Nöroblastoma Hücre Hattında Uzun Süreli Darbeli Elektromanyetik Alan Maruziyetinin Apoptoz Üzerine Etkileri	88
<i>Effects of Long-Term Pulsed Electromagnetic Field Exposure on Apoptosis in Neuroblastoma Cell Line</i> Çiğdem Gökçek Saraç, Ebru Çetin, Serdar Karakurt	
Atakum İlçesinde İnsansız Hava Aracı ile Işık Kirliliği Ölçümleri ve Değerlendirilmesi	99
<i>Light Pollution Measurements and Evaluation by Unmanned Aerial Vehicle (UAV) in Atakum</i> Özgür Türk, Metin Yavuz	
4-Metil Umbelliferon'un Allium Testi Kullanılarak; Fizyolojik, Sitogenetik, Biyokimyasal ve Anatomik Değerlendirilmesi	110
<i>Using The Allium Test of 4-Methyl Umbelliferone: Physiological, Cytogenetic, Biochemical and Anatomical Evaluation</i> Dilek Çavuşoğlu	
Favipiravirin Su-Asetonitril İkilili Karışımlarında İyonlaşma Sabiti Değerinin Belirlenmesi ve İki Farklı C18 Kolonun Karşılaştırılması	129
<i>Determination of Ionization Constant Value in Water-Acetonitrile Binary Mixtures of Favipiravir and Comparison of Two Different C18 Columns</i> Ümit Ayhan Arzuoğlu, İlkay Konçe, Ebru Çubuk Demiralay	
Derin Öğrenme Yardımıyla Aktif Termogramlar Üzerinden Meme Lezyonlarının Sınıflandırması	140
<i>Classification of Breast Lesions via Active Thermograms with the Help of Deep Learning</i> Soner Çivilibal, Kerim Kürşat Çevik, Ahmet Bozkurt	
Kimyasal Modifiye Nar Kabuğu ile Anyonik Boyanın Biyosorpsiyonu: Modifikasyonun Uzaklaştırma Verimliliği Üzerine Etkisi	157
<i>Biosorption of an Anionic Dye onto Chemically Modified Pomegranate Peel: Effect of Modification on Removal Efficiency</i> Çiğdem AY	
FMS-TTP-SPE Ön Hazırlık Sistemi Kullanılarak Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Analizi için Yöntem Geliştirilmesi: Yöntemin Göl Suyu Numunelerine Uygulanması	170
<i>Development of a Method for the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using FMS-TTP-SPE Pretreatment System: Application of the Method to Lake Water Samples</i> Murat Kılıç, Ömer Dilek	
Benzotiyazolden Elde Edilen Bazı Azo Boyarmaddelerin Sentezi ve Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi ile Analizi	181

Berezin Yarıçapı İçin Diğer Eşitsizlikler

Hamdullah Başaran^{1,*}, Mehmet Gürdal²

¹Department of Mathematics, Faculty of Science and Arts, Suleyman Demirel University, 32260, Isparta, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0002-9864-9515>

* yazışılan yazar: 07hamdullahbasaran@gmail.com

²Department of Mathematics, Faculty of Science and Arts, Suleyman Demirel University, 32260, Isparta, TÜRKİYE

<https://orcid.org/-0003-0869-1869>

(Alınış / Received: 13.12.2022, Kabul / Accepted: 15.02.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: İşlevsel Hilbert uzayları, istatistik, yaklaşım teorisi, grup temsili teorisi, vb. dahil olmak üzere birçok alanda ortaya çıkar. İşlevsel Hilbert uzay sayesinde tanımlanan Berezin dönüşümü ise, düzgün fonksiyonları analitik fonksiyonların Hilbert uzayları üzerindeki operatörlerle ilişkilerini inceler. Berezin yarıçapını ve Berezin normunu karakterize etmek için bazı çalışmalarda birçok eşitsizlik ve bunların özellikleri vardır. Bu çalışmada fonksiyonel bir Hilbert uzayı üzerinde tanımlanan sınırlı lineer operatörlerin Berezin normu ve Berezin sayısı için yeni eşitsizlikler sunulmuştur. Bu makalenin benzersizliği veya yeniliği, iki operatör için yeni Berezin sayıları tahminlerinden oluşmaktadır. Bu tahminler, diğer benzer makaleler tarafından elde edilen Berezin sayılarının üst sınırlarını iyileştirmiştir. Daha sonra El-Haddad and Kittaneh ([10]) tarafından verilen eşitsizlik genelleştirilmiş ve iyileştirilmiştir. Bu çalışmada fikir ve sunulan metodolojiler, bu alanda gelecekteki araştırmalar için bir başlangıç noktası olarak hizmet edebilir.

Anahtar kelimeler: Berezin dönüşümü, Berezin kümesi, Berezin sayısı, Konveks fonksiyon, Süperkuadratik fonksiyon.

Further Inequalities For The Berezin Radius

Abstract: Functional Hilbert spaces are encountered in a variety of fields, including statistics, approximation theory, group representation theory, and so on. Smooth functions are associated with operators on Hilbert spaces of analytic functions through the Berezin transform defined by functional Hilbert space. We present new inequalities for the Berezin norm and Berezin number of limited linear operators defined on a functional Hilbert space in this study. We discovered various inequalities and their features in some papers to characterize the Berezin number and the Berezin norm. This article's originality or novelty consists of fresh Berezin number estimations for two operators. These estimates improve on the upper bounds of the Berezin numbers found in previous studies. The inequality given by El-Haddad and Kittaneh ([10]) is then improved and generalized after that. The concepts and approaches offered in this paper may serve as a starting point for future research in this field.

Key words: Berezin transform, Berezin set, Berezin number, Convex function, Superquadratic function.

1. Giriş

Operatör teorisi ile ilgili literatürde, bir operatörün Berezin normu ve Berezin sayısı mühendislik, kuantum hesaplama, kuantum mekaniği, sayısal analiz, diferansiyel denklemler vb. alanlardaki birçok uygulaması için incelenmiştir. Berezin sayısını ve Berezin normunu karakterize etmek için, önce bir Hilbert uzayında sınırlı lineer operatörlerin bazı kavramlarını ve özelliklerini sunuyoruz.

$\mathcal{L}(\mathcal{H})$ cebiri bir \mathcal{H} karmaşık Hilbert uzay üzerinde $\langle \cdot, \cdot \rangle$ iç çarpım ile tüm sınırlı lineer operatörlerin C^* -cebiri olsun. Eğer her $x \in \mathcal{H}$ için $\langle Px, x \rangle \geq 0$ ise $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ operatörüne pozitif denir ve $P \geq 0$ biçiminde yazılır. Eğer kendine eş P ve R operatörü için her $x \in \mathcal{H}$ için $\langle Px, x \rangle \geq \langle Rx, x \rangle$ ise $P \geq R$ olur. Aynı zamanda bazı m ve M skalerleri ve her $x \in \mathcal{H}$ için $m\langle x, x \rangle \leq \langle Px, x \rangle \leq M\langle x, x \rangle$ ise $m \leq P \leq M$ biçiminde yazabiliriz. Burada P nın mutlak değeri $|P| = (P^*P)^{\frac{1}{2}}$ ile gösterilir.

Bir $\mathcal{H} = \mathcal{H}(\Omega)$ fonksiyonel Hilbert uzayı nokta değerlendirmeleri sürekli, yani her bir $\lambda \in \Omega$ için $f \rightarrow f(\lambda)$ dönüşümü \mathcal{H} üzerinde bir sürekli lineer fonksiyonel özelliğine sahip Ω kümesi üzerinde karmaşık değerli fonksiyonların bir Hilbert uzayıdır. Bu ise Riesz teoremine göre her bir $\lambda \in \Omega$ ve $f \in \mathcal{H}$ için $f(\lambda) = \langle f, \hat{K}_\lambda \rangle$ olacak şekilde bir tek $\hat{K}_\lambda \in \mathcal{H}$ elemanının mevcut olduğunu garantiler. $\{\hat{K}_\lambda: \lambda \in \Omega\}$ ailesi \mathcal{H} 'nin çekirdeğinin üretene adını alır. Eğer $\{e_n\}$ bazı \mathcal{H} fonksiyonel Hilbert uzay için bir ortogonal baz ise o zaman \mathcal{H} 'nin çekirdek üretene $\hat{K}_\lambda = \sum_n \overline{e_n(\lambda)} e_n(z)$ ile verilir. $\lambda \in \Omega$ için $K_\lambda = \frac{\hat{K}_\lambda}{\|\hat{K}_\lambda\|}$ ifadesi \mathcal{H} 'nin normalleştirilmiş çekirdeği üretene olsun. \mathcal{H} üzerinde P sınırlı lineer bir operatörü için $\tilde{P}(\lambda) := \langle PK_\lambda, K_\lambda \rangle$ ile Ω kümesi üzerinde tanımlı \tilde{P} fonksiyonu P nin Berezin sembolüdür ([3]). P operatörünün Berezin küme ve Berezin sayısı sırasıyla

$$\mathbf{Ber}(P) = \{\tilde{P}(\lambda): \lambda \in \Omega\} \text{ ve } \mathbf{ber}(P) = \{|\tilde{P}(\lambda)|: \lambda \in \Omega\} \quad (1)$$

ile tanımlanır (bkz. [22]). $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ 'nin numerik yarıçapı

$$w(P) := \sup\{|\langle Px, x \rangle|: x \in \mathcal{H}(\Omega) \text{ ve } \|x\| = 1\} \quad (2)$$

ile tanımlıdır. Her $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ için $\mathbf{ber}(P) \leq w(P) \leq \|T\|$ olduğu bilinen bir gerçektir. Hilbert uzay operatörlerinin sayısal yarıçap eşitsizliklerine ilişkin son katkılar [9]'da ve oradaki referanslarda bulunabilir. Hilbert uzaylarındaki bazı operatörlerin özellikleri [18, 21]'te bulunabilir.

Ayrıca Berezin sembolü kavramı Hardy ve Bergman uzayları üzerinde Toeplitz ve Hankel operatörleri için detaylı incelenmiştir. O analizin çeşitli sorularında geniş uygulamalara sahiptir. Berezin sembolü hakkında diğer bilgiler için [4, 5, 6, 7, 8, 14, 15, 16, 17, 23, 24, 28] çalışmalarına ve referanslarına bakılabilir.

Bu makalenin benzersizliği veya yeniliği, çekirdek Hilbert uzayını yeniden üretmeye etki eden farklı sınırlı lineer operatör türlerinin Berezin sayısı ve Berezin normunun yeni tahminlerinden oluşur. Bu tahminler, diğer benzer makaleler tarafından elde edilen Berezin sayılarının üst sınırlarını iyileştirir.

Bu makale şu şekilde düzenlenmiştir: Bölüm 2'de, ana sonuçlarımızı oluşturmak için gerekli olan bazı önermeler toplanmıştır. Bölüm 3'te, operatörlerin çeşitli Berezin sayısı ve norm eşitsizliklerini içeren ana sonuçlarımızı sunuyoruz. Özellikle iki operatörün

toplamı için yeni bir tahmin sağlanmıştır. Daha sonra El-Haddad and Kittaneh ([10]) tarafından verilen

$$\|P + R\|^2 \leq \| |P|^2 + |R|^2 \| + \| |P^*|^2 + |R^*|^2 \| \quad (3)$$

eşitsizliği genelleştirilmiş ve iyileştirilmiştir. Özel durumda $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$, $r \geq 2$ ve f süperkuadratik fonksiyonu için

$$f(\mathit{ber}(P)) \leq \left\| f(|P|) - \inf_{\lambda \in \Omega} f \left(\left| |P| - \mathit{ber}(P) \right|^{\frac{1}{2}} K_{\lambda} \right) \right\|_{\mathit{ber}}^2 \quad (4)$$

eşitsizliği ispatlanmıştır. Bu amaçlar için [26] çalışmasından bazı metotlar uygulanmıştır.

2. Materyal and Metot

Bu bölümde, bu makaledeki amacımıza ulaşmak için kullanılacak olan bazı iyi bilinen faydalı Yardımcı teoremler ve gerekli notasyonlar toplanmıştır.

Pozitif tersinebilir P operatörü, pozitif R operatörü ve $0 < v < 1$ için ağırlıklı operatör aritmetik ortalama ∇_v ve geometrik ortalama $\#_v$ aşağıdaki

$$P \nabla_v R = (1 - v)P + vR \text{ ve } P \#_v R = P^{\frac{1}{2}} \left(P^{-\frac{1}{2}} R P^{-\frac{1}{2}} \right)^v P^{\frac{1}{2}} \quad (5)$$

ile tanımlanır. Eğer $v = \frac{1}{2}$ ise aritmetik ve geometrik ortalama sırasıyla ∇ ve $\#$ ile tanımlanır.

Huban vd. ([20]) herhangi $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$, için

$$\mathit{ber}(P) \leq \frac{1}{2} \| |P| + |P^*| \| \leq \frac{1}{2} \left(\|P\| + \|P^2\|^{\frac{1}{2}} \right) \quad (6)$$

ve

$$\mathit{ber}^r(P) \leq \frac{1}{2} \| |P|^{2rv} + |P^*|^{2(1-v)r} \|, r \geq 1, 0 < v < 1 \quad (7)$$

eşitsizliklerini ispatlamıştır. Daha sonra Huban vd. (bkz. [19]) çalışmasında

$$\mathit{ber}^r(P^*R) \leq \frac{1}{2} \| |P|^{2r} + |R|^{2r} \|, r \geq 1 \quad (8)$$

eşitsizliğini vermiştir. Diğer taraftan Taghavi vd. ([27]) ise

$$\text{ber}^r(P^*XR) \leq \frac{1}{2} \left\| (P^*|X|^{2(1-v)}P)^r + (R^*|X|^{2v}R)^r \right\|, r \geq 1, \quad 0 < v < 1 \quad (9)$$

sonucunu elde etmiştir.

Şimdi ihtiyaç duyulan bazı yararlı Yardımcı teoremler verilebilir.

Yardımcı Teorem 1 ([9]). $x, y, z \in \mathcal{H}$ olsun. Bu durumda

$$|\langle z, x \rangle|^2 + |\langle z, y \rangle|^2 \leq \|z\|^2 \max(\|x\|^2, \|y\|^2) + |\langle x, y \rangle| \quad (10)$$

sağlanır.

Yardımcı Teorem 2 ([21]). $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ ve $x, y \in \mathcal{H}$ herhangi vektörler olsunlar. Eğer, $f, g, f(t)g(t) = t, (t \geq 0)$, bağıntısını sağlayan $[0, \infty)$ üzerinde negatif olmayan sürekli fonksiyonlarsa, bu durumda

$$|\langle Px, y \rangle| \leq \|f(|P|)x\| \|f(|P^*|)y\| \quad (11)$$

eşitsizliği elde edilir.

Yardımcı Teorem 3 ([25]). Eğer f, P kendine eş operatörün spektrumunu içeren J gerçel aralığında konveks fonksiyonsa, o zaman herhangi bir $x, y \in \mathcal{H}$ için,

$$f(\langle Px, x \rangle) = \langle f(P)x, x \rangle \quad (12)$$

olur ve f konkavsa ters eşitsizlik elde edilir.

Yardımcı Teorem 4 ([2]). $f, [0, \infty)$ üzerinde negatif olmayan azalmayan konveks fonksiyon ve $P, R \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ pozitif operatör olsunlar. O zaman herhangi bir $0 < v < 1$ için,

$$\|f((1-v)P + vR)\| \leq \|(1-v)f(P) + vf(R)\| \quad (13)$$

sağlanır.

Yardımcı Teorem 5 ([12,13]). $a, b > 0$ ve $\min\{a, b\} \leq m \leq M \leq \max\{a, b\}$ bağıntısını sağlayan m, M pozitif gerçel sayılar olduğunu varsayalım. Bu durumda

$$\frac{M+m}{2\sqrt{Mm}}\sqrt{ab} \leq \frac{a+b}{2} \quad (14)$$

olur.

$f: [0, \infty) \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu her $s \geq 0$ için, her $t \geq 0$ için

$$f(|t-s|) + C_s(t-s) + f(s) \leq f(t) \quad (15)$$

olacak şekilde $C_s \in \mathbb{R}$ sabiti varsa f fonksiyonuna süperkuadratik fonksiyon denildiği hatırlanabilir.

Yardımcı Teorem 6 ([1]). f süperkuadratik ve negatif olmayan fonksiyon olsun. O zaman f fonksiyonu konveks ve artan fonksiyondur. Ayrıca, eğer C_s sabiti (15) eşitsizliğinde olduğu gibi ise, o zaman $C_s \geq 0$ dir.

3. Bulgular

Bu makaledeki ilk sonucumuz şu şekildedir:

Teorem 1. $P, R \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ olsun. O zaman

$$\begin{aligned} \mathit{ber}^2(P+R) &\leq \frac{1}{2} [\| |P^*|^2 + |R^*|^2 \|_{\mathit{ber}} + \mathit{ber}(|P^*|^2 - |R^*|^2)] + \mathit{ber}(RP^*) \\ &+ 2\mathit{ber}(P)\mathit{ber}(R) \end{aligned} \quad (16)$$

elde edilir.

İspat. K_λ normleştirilmiş çekirdeğin üreteni olsun. (10) numaralı eşitsizlikte $x = P^*K_\lambda$, $y = R^*K_\lambda$ ve $z = K_\mu$ alınarak

$$|\langle K_\mu, P^*K_\lambda \rangle|^2 + |\langle K_\mu, R^*K_\lambda \rangle|^2 \leq \|K_\mu\|^2 \max(\|P^*K_\lambda\|^2, \|R^*K_\lambda\|^2) + |\langle P^*K_\lambda, R^*K_\lambda \rangle|$$

eşitsizliği elde edilir. Burada $\lambda, \mu \in \Omega$ dir. Bu eşitsizlik $\max\{a, b\} = \frac{1}{2}(a+b - |a-b|)$ ($a, b \in \mathbb{R}$) sayesinde

$$\begin{aligned} |\langle PK_\mu, K_\lambda \rangle|^2 + |\langle RK_\mu, K_\lambda \rangle|^2 \\ \leq \frac{1}{2} [\langle (PP^* + RR^*)K_\lambda, K_\lambda \rangle + \langle (PP^* - RR^*)K_\lambda, K_\lambda \rangle] + |\langle RP^*K_\lambda, K_\lambda \rangle| \end{aligned}$$

eşitsizliği elde edilir. Şimdi, üçgen eşitsizliğinden

$$|\langle (P+R)K_\mu, K_\lambda \rangle|^2 \leq |\langle PK_\mu, K_\lambda \rangle|^2 + |\langle RK_\mu, K_\lambda \rangle|^2 + 2|\langle PK_\mu, K_\lambda \rangle| |\langle RK_\mu, K_\lambda \rangle|$$

$$\leq \frac{1}{2} [|\langle (PP^* + RR^*)K_\lambda, K_\lambda \rangle| + |\langle (PP^* - RR^*)K_\lambda, K_\lambda \rangle|] + |\langle RP^*K_\lambda, K_\lambda \rangle| + 2|\langle PK_\mu, K_\lambda \rangle| |\langle RK_\mu, K_\lambda \rangle|$$

eşitsizliği elde edilir. Üstte elde edilen eşitsizlikte $\lambda = \mu$ ile $\lambda, \mu \in \Omega$ supremum alınarak

$$\mathbf{ber}^2(P + R) \leq \frac{1}{2} [\| |P^*|^2 + |R^*|^2 \|_{ber} + \mathbf{ber}(|P^*|^2 - |R^*|^2)] + \mathbf{ber}(RP^*) + 2\mathbf{ber}(P)\mathbf{ber}(R)$$

eşitsizliği bulunur.

Uyarı 1. Her P ve R iki normal operatör olmak üzere Teorem 1'den

$$\mathbf{ber}^2(P + R) \leq \frac{1}{2} [\| |P|^2 + |R|^2 \|_{ber} + \mathbf{ber}(|P|^2 - |R|^2)] + \mathbf{ber}(RP^*) + 2\mathbf{ber}(P)\mathbf{ber}(R)$$

eşitsizliği elde edilir.

Eğer Teorem 1'in ispatında $\lambda \neq \mu$ alınırsa o zaman aşağıdaki sonuç verilebilir.

Sonuç 1. $P, R \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ olsun. O zaman

$$\|P + R\|_{ber}^2 \leq \frac{1}{2} [\| |P^*|^2 + |R^*|^2 \|_{ber} + \mathbf{ber}(|P|^2 - |R|^2)] + \mathbf{ber}(RP^*) + 2\|P\|_{ber}\|R\|_{ber}$$

olur.

(11), (12) ve (14) eşitsizliklerinden aşağıdaki daha genel sonuç elde edilir.

Önerme 1. $P, R, S \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ ve f ve g her $t \in [0, \infty)$ için $f(t)g(t) = t$ bağıntısını sağlayan ve sürekli olan $[0, \infty)$ üzerinde negatif olmayan fonksiyonlar olsunlar. Eğer h üzerinde negatif olmayan artan konveks fonksiyonsa, o zaman herhangi bir $0 < v < 1$ için,

$$h(\mathbf{ber}^2(P^*SR)) \leq \left\| (1-v)h\left((R^*f(|S|)R)^{\frac{1}{1-v}}\right) + vh\left((P^*g(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}}\right) \right\|_{ber} \quad (17)$$

ve

$$\mathbf{ber}^{2r}(P^*SR) \leq \frac{1}{2} \|(R^*f(|S|)R)^{2r} + (P^*f(|S^*|)P)^{2r}\|_{ber} \quad (18)$$

eşitsizlikleri elde edilir.

İspat. $\lambda \in \Omega$ bir sabit olsun. O zaman ağırlıklı AM-GM eşitsizliğini ve (11) eşitsizliğini kullanarak

$$\begin{aligned} |\langle P^*SRK_\lambda, K_\lambda \rangle|^2 &= |\langle SRK_\lambda, PK_\lambda \rangle|^2 \leq \langle R^*f^2(|S|)RK_\lambda, K_\lambda \rangle \langle P^*g^2(|S^*|)PK_\lambda, K_\lambda \rangle \\ &\leq \left\langle \left((R^*f^2(|S|)R)^{\frac{1}{1-v}} \right)^{(1-v)} K_\lambda, K_\lambda \right\rangle \left\langle \left((P^*g^2(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} \right)^v K_\lambda, K_\lambda \right\rangle \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\leq \langle (R^* f^2(|S|)R)^{\frac{1}{(1-v)}} K_\lambda, K_\lambda \rangle^{(1-v)} \langle (P^* g(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} K_\lambda, K_\lambda \rangle^v \\ &\quad (f(t) = t^r \ (0 < v < 1) \text{ konkav fonksiyonu için}) \\ &\leq (1-v) \langle (R^* f^2(|S|)R)^{\frac{1}{(1-v)}} K_\lambda, K_\lambda \rangle + v \langle (P^* g(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} K_\lambda, K_\lambda \rangle \end{aligned}$$

elde edilir. Bu elde edilen eşitsizlikte $\lambda \in \Omega$ için supremum alınırsa

$$\mathbf{ber}^2(P^*SR) \leq \left\| (1-v)(R^* f(|S|)R)^{\frac{1}{(1-v)}} + v(P^* g(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} \right\|_{\mathbf{ber}}$$

olur. h varsayımından dolayı,

$$\begin{aligned} h(\mathbf{ber}^2(P^*SR)) &\leq h\left(\left\| (1-v)(R^* f(|S|)R)^{\frac{1}{(1-v)}} + v(P^* g(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} \right\|_{\mathbf{ber}}\right) \\ &= \left\| h\left((1-v)(R^* f(|S|)R)^{\frac{1}{(1-v)}} + v(P^* g(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} \right) \right\|_{\mathbf{ber}} \\ &\leq \left\| (1-v)h\left((R^* f(|S|)R)^{\frac{1}{(1-v)}} \right) + v h\left((P^* g(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} \right) \right\|_{\mathbf{ber}} \end{aligned}$$

yazılır. (18) eşitsizliğinde $h(t) = t^r$ ($r \geq 1$) ve $v = \frac{1}{2}$ alınırsa (17) den direk olarak bulunur.

Teorem 2. $P, R, S \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ ve f ve g her $t \in [0, \infty)$ için $f(t)g(t) = t$ bağıntısını sağlayan ve sürekli olan $[0, \infty)$ üzerinde negatif olmayan fonksiyon olsunlar. Eğer h $[0, \infty)$ üzerinde negatif olmayan artan konveks fonksiyon, $0 < R^* f^2(|S|)R \leq m < M \leq P^* g^2(|S^*|)P$ veya $0 < P^* g^2(|S^*|)P \leq m < M \leq R^* f^2(|S|)R$ ise, bu durumda

$$h(\mathbf{ber}(P^*SR)) \leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \|h(R^* f^2(|S|)R) + h(P^* g^2(|S^*|)P)\|_{\mathbf{ber}} \quad (19)$$

eşitsizliği sağlanır.

İspat. K_λ normalleştirilmiş çekirdeğin üreteni olsun. (11) eşitsizliğinden

$$|\langle P^*SRK_\lambda, K_\lambda \rangle| \leq \sqrt{\langle R^* f^2(|S|)RK_\lambda, K_\lambda \rangle \langle P^* g^2(|S^*|)PK_\lambda, K_\lambda \rangle} \quad (20)$$

elde edilir. (14) eşitsizliği

$$\begin{aligned} &\sqrt{\langle R^* f^2(|S|)RK_\lambda, K_\lambda \rangle \langle P^* g^2(|S^*|)PK_\lambda, K_\lambda \rangle} \\ &\leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} (\langle R^* f^2(|S|)RK_\lambda, K_\lambda \rangle + \langle P^* g^2(|S^*|)PK_\lambda, K_\lambda \rangle) \\ &= \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \langle (R^* f^2(|S|)R + P^* g^2(|S^*|)P)K_\lambda, K_\lambda \rangle \end{aligned} \quad (21)$$

eşitsizliği sağlanır. (20) ve (21) eşitsizlikleri beraber düşünülürse,

$$|\langle P^*SRK_\lambda, K_\lambda \rangle| \leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \langle (R^* f^2(|S|)R + P^* g^2(|S^*|)P)K_\lambda, K_\lambda \rangle$$

eşitsizliği bulunur. Yukarıdaki eşitsizlikte $\lambda \in \Omega$ supremum alınırsa,

$$\mathit{ber}(P^*SR) \leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \|R^*f^2(|S|)R + P^*g^2(|S^*|)P\|_{\mathit{ber}}$$

eşitsizliği elde edilir. Şimdi, h negatif olmayan artan konveks fonksiyon olduğundan,

$$\begin{aligned} h(\mathit{ber}(P^*SR)) &\leq h\left(\frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \|R^*f^2(|S|)R + P^*g^2(|S^*|)P\|_{\mathit{ber}}\right) \\ &\leq \frac{2\sqrt{Mm}}{M+m} \left(\frac{h(\|R^*f^2(|S|)R + P^*g^2(|S^*|)P\|_{\mathit{ber}})}{2}\right) \\ &= \frac{2\sqrt{Mm}}{M+m} \left\| h\left(\frac{R^*f^2(|S|)R + P^*g^2(|S^*|)P}{2}\right) \right\|_{\mathit{ber}} \\ &\leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \|h(R^*f^2(|S|)R) + h(P^*g^2(|S^*|)P)\|_{\mathit{ber}} \end{aligned} \quad (22)$$

eşitsizliği sağlanmaktadır. Burada eğer f negatif olmayan konveks fonksiyon ve $\alpha \leq 1$ ise, o zaman $f(\alpha t) \leq \alpha f(t)$ (yani, $\frac{2\sqrt{Mm}}{M+m} \leq 1$) olduğundan dolayı (22) eşitsizliği bulunur.

Uyarı 2. Aşağıda (19) eşitsizliğinin bazı belirli ilgi çeken eşitsizliklerini ifade ediyoruz.

- (i) Eğer $r \geq 1$ ve $0 \leq v \leq 1$ ve $0 < R^*|S|^{2(1-v)}R \leq m < M \leq P^*|S^*|^{2v}P$ veya $0 < P^*|S^*|^{2v}P \leq m < M \leq R^*|S|^{2(1-v)}R$ olursa o zaman

$$\mathit{ber}^r(P^*SR) \leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \left\| (R^*|S|^{2(1-v)}R)^r + (P^*|S^*|^{2v}P)^r \right\|_{\mathit{ber}}$$

elde edilir. Yukarıdaki eşitsizlik, (9) eşitsizliğinin refine edilmiş halidir.

- (ii) Eğer $r \geq 1$ ve $0 \leq v \leq 1$ ve her ne zaman $0 < |S|^{2(1-v)} \leq m < M \leq |S^*|^{2v}$ veya $0 < |S^*|^{2v} \leq m < M \leq |S|^{2(1-v)}$ ise o zaman

$$\mathit{ber}^r(P^*SR) \leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \left\| |S|^{2r(1-v)} + |S^*|^{2rv} \right\|_{\mathit{ber}}$$

dir. Yukarıda verilen eşitsizlik, (6) eşitsizliğinin refine edilmiş halidir.

- (iii) Eğer $r \geq 1$ ve her zaman $0 < |R|^2 \leq m < M \leq |P|^2$ veya $0 < |P|^2 \leq m < M \leq |R|^2$ ise o zaman

$$\mathit{ber}^r(P^*SR) \leq \frac{\sqrt{Mm}}{M+m} \left\| |R|^{2r} + |P|^{2r} \right\|_{\mathit{ber}}$$

dir. Yukarı verilen eşitsizlik, (8) eşitsizliğinin refine edilmiş halidir.

Teorem 3. $P, R, S \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ ve f ve g her $t \in [0, \infty)$ için $f(t)g(t) = t$ bağıntısını sağlayan ve sürekli olan $[0, \infty)$ üzerinde negatif olmayan fonksiyon olsunlar. Eğer h $[0, \infty)$ üzerinde negatif olmayan artan konveks fonksiyon ve verilen m' ve M' için, $0 < m' \leq R^*f^2(|S|)R \leq P^*g^2(|S^*|)P < M'$ veya $0 < m' \leq P^*g^2(|S^*|)P \leq R^*f^2(|S|)R < M'$ ise, bu durumda

$$h(\mathbf{ber}(P^*SR)) \leq \frac{1}{2\xi} \|h(R^*f^2(|S|)R) + h(P^*g^2(|S^*|)P)\|_{ber}$$

eşitsizliği elde edilir. Burada $h' = \frac{M'}{m'}$ ile $\xi = \frac{1}{\left(1 - \frac{1}{8}\left(1 - \frac{1}{h'}\right)^2\right)}$ dir.

İspat. [11] çalışmasındaki Sonuç 3.15'den, $0 < m' \leq R^*f^2(|S|)R \leq P^*g^2(|S^*|)P < M'$ veya $0 < m' \leq P^*g^2(|S^*|)P \leq R^*f^2(|S|)R < M'$ elde edilen $m', M' > 0$ ile $P, R > 0$ için

$$\exp_r\left(\frac{v(1-v)}{2}\left(1 - \frac{1}{h'}\right)^2\right) P \#_v R \leq P\nabla_v R$$

olur. Burada $\exp_r(x) = (1 + rx)^{\frac{1}{r}}$ olur. Eğer $1 + rx > 0$ ise, ve aksi halde tanımlanamaz. $\exp_r(x)$ değeri $r \in [-1, 0]$ aralığında azalan olduğundan, $r = -1$ olduğu zaman yukarıdaki eşitsizlikte alt sınır bulunur. Sonunda $0 < m' \leq \min\{a, b\} \leq \max\{a, b\} \leq M'$ olacak şekilde $m', M' > 0$ ve $a, b > 0$ için

$$\phi\sqrt{ab} \leq \frac{a+b}{2}$$

skaler eşitsizliğini elde ederiz. Teorem 2 de olduğu gibi benzer argümanlar ile bu eşitsizliğe uygulayarak, istenen sonuç bulunur.

Biz ayrıca Uyarı 2 ile benzer uyarıları elde ederiz. Burada Yardımcı Teorem 4, Önerme 1 ve Teorem 2 de önemli rol oynamaktadır.

Şimdi Yardımcı Teorem 4'ün iyileştirilmesi verilebilir.

Önerme 2. Yardımcı Teorem 4 deki varsayımları sağlansın. Bu durumda

$$\|f((1-v)P + vR)\|_{ber} \leq \|(1-v)f(P) + vf(R)\|_{ber} - r\xi(f) \quad (23)$$

olur. Burada $r = \min\{v, 1-v\}$ ve

$$\xi(f) = \inf_{\lambda \in \Omega} \left\{ f(\tilde{P}(\lambda)) + f(\tilde{R}(\lambda)) - 2f\left(\frac{\tilde{P} + \tilde{R}}{2}(\lambda)\right) \right\} \quad (24)$$

dir.

İspat. $0 \leq v \leq \frac{1}{2}$ olduğunu varsayalım, $\lambda \in \Omega$ bir sabit olsun. O zaman

$$\begin{aligned} & f(\langle ((1-v)P + vR)K_\lambda, K_\lambda \rangle) + r\xi(f) \\ & \leq f(\langle (1-v)PK_\lambda, K_\lambda \rangle + v\langle RK_\lambda, K_\lambda \rangle) + r\xi(f) \\ & \leq f\left(\langle (1-2v)PK_\lambda, K_\lambda \rangle + 2v\left\langle \frac{P+R}{2}K_\lambda, K_\lambda \right\rangle\right) + r\xi(f) \\ & \leq (1-2v)f(\langle PK_\lambda, K_\lambda \rangle) + 2vf\left(\left\langle \frac{P+R}{2}K_\lambda, K_\lambda \right\rangle\right) + r\xi(f) \\ & \quad + r\left(f(\langle PK_\lambda, K_\lambda \rangle + \langle RK_\lambda, K_\lambda \rangle) - 2f\left(\left\langle \frac{P+R}{2}K_\lambda, K_\lambda \right\rangle\right)\right) \end{aligned} \quad (25)$$

$$\begin{aligned}
& (f \text{ fonksiyonunun konveksliğinden}) \\
& \leq (1 - v) f(\langle PK_\lambda, K_\lambda \rangle) + v f(\langle RK_\lambda, K_\lambda \rangle) \\
& \leq (1 - v) \langle f(P)K_\lambda, K_\lambda \rangle + v \langle f(R)K_\lambda, K_\lambda \rangle \\
& \leq \langle ((1 - v) f(P) + v f(R))K_\lambda, K_\lambda \rangle
\end{aligned}$$

olur. (24) eşitsizliğinden (25) eşitsizliği elde edilir. Eğer $\frac{1}{2} \leq v \leq 1$ için benzer argümanlar uygulanırsa,

$$f(\langle ((1 - v)P + vR)K_\lambda, K_\lambda \rangle) \leq \langle ((1 - v) f(P) + v f(R))K_\lambda, K_\lambda \rangle - r\xi(f)$$

eşitsizliği yazılabilir. Eğer $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ pozitif operatör ise, o zaman $\|P\|_{ber} = \sup_{\lambda \in \Omega} \langle PK_\lambda, K_\lambda \rangle$ olduğu bilinir. f 'nin artanlığını ve sürekliliğini kullanarak,

$$\begin{aligned}
\|f((1 - v)P + vR)\|_{ber} &= f(\sup_{\lambda \in \Omega} \langle ((1 - v)P + vR)K_\lambda, K_\lambda \rangle) \\
&= \sup_{\lambda \in \Omega} f(\langle ((1 - v)P + vR)K_\lambda, K_\lambda \rangle) \\
&\leq \sup_{\lambda \in \Omega} (\langle ((1 - v) f(P) + v f(R))K_\lambda, K_\lambda \rangle) - r\xi(f) \\
&= \|(1 - v)f(P) + v f(R)\|_{ber} - r\xi(f).
\end{aligned}$$

eşitsizliği bulunur. Diğer taraftan, eğer $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ ve f $[0, \infty)$ aralığında negatif olmayan artan fonksiyon ise, o zaman $f(\|S\|_{ber}) = \|f(S)\|_{ber}$ olur. Bu ise istenen sonucu verir.

Uyarı 3. Eldeki (23) eşitsizliği ile Önerme 1 ve Teorem 2 iyileştirilebilir. Örneğin, Önerme 1 in varsayımı altında,

$$h(\mathbf{ber}^2(P^*SR)) \leq \left\| (1 - v)(R^*f^2(|S|R))^{\frac{1}{(1-v)}} + v(P^*g^2(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}} \right\|_{ber} - r\beta(f)$$

ifadesi elde edilir. Burada

$$\begin{aligned}
\beta(f) &= \inf_{\lambda \in \Omega} \left\{ h \left((R^*f^2(\widetilde{|S|})R)^{\frac{1}{(1-v)}} \right) (\lambda) + h \left(P^*g^2(\widetilde{|S^*|})P \right)^{\frac{1}{v}} (\lambda) \right. \\
&\quad \left. - 2h \left(\frac{(R^*f^2(|S|R))^{\frac{1}{(1-v)}} + (P^*g^2(|S^*|)P)^{\frac{1}{v}}}{2} \right) (\lambda) \right\}
\end{aligned}$$

dir.

(15) eşitsizliği ve Yardımcı Teorem 6 kabul edilerek, $\mathbf{ber}(P) \leq \|P\|_{ber}$ refine edilebilir.

Teorem 4. $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ ve f negatif olmayan süperkuadratik fonksiyon olsun. O zaman

$$f(\mathbf{ber}(P)) \leq \left\| f(|P|) - \inf_{\lambda \in \Omega} f \left(|P| - \mathbf{ber}(P) \Big|_{\frac{1}{2}} K_\lambda \right) \right\|_{ber}^2 \quad (26)$$

sağlanır.

İspat. K_λ normalleştirilmiş çekirdeğin üretenei olsun. (15) eşitsizliğinde $s = \mathit{ber}(P)$ koyarak,

$$f(|t - \mathit{ber}(P)|) + C_{\mathit{ber}(P)}(t - \mathit{ber}(P)) + f(\mathit{ber}(P)) \leq f(t) \quad (27)$$

eşitsizliği elde edilir. (27) deki $|P|$ fonksiyonel temel kalkülüs işlemleri uygulayarak,

$$f(|P| - \mathit{ber}(P)) + C_{\mathit{ber}(P)}(|P| - \mathit{ber}(P)) + f(\mathit{ber}(P)) \leq f(|P|) \quad (28)$$

eşitsizliğine ulaşılır. Sonuç olarak, herhangi bir $\lambda \in \Omega$ için

$$\left\| f(|P| - \mathit{ber}(P)) \right\|_{\frac{1}{2}K_\lambda}^2 + C_{\mathit{ber}(P)}(\langle |P|K_\lambda, K_\lambda \rangle - \mathit{ber}(P)) + f(\mathit{ber}(P)) \leq f(\langle |P|K_\lambda, K_\lambda \rangle) \quad (29)$$

olur. Şimdi, (29) de $\lambda \in \Omega$ supremum alarak ve $\mathit{ber}(P) = \|P\| \geq \mathit{ber}(P)$ gerçeğini kullanarak ve üçgen eşitsizliğini uygulayarak istenen sonuç bulunur.

Teorem 4 ifadesinde $f(t) = t^r$ ($r \geq 2$) süperkuadratik fonksiyonu alınırsa aşağıdaki sonuç elde edilir.

Sonuç 2. $P \in \mathcal{L}(\mathcal{H})$ olsun. Herhangi $r \geq 2$ için

$$\mathit{ber}^r(P) \leq \left\| |P|^r - \inf_{\lambda \in \Omega} |P| - \mathit{ber}(P) \right\|_{\frac{r}{2}K_\lambda}^2$$

ve

$$\mathit{ber}(P) \leq \sqrt{\| |P|^2 - \inf_{\lambda \in \Omega} |P| - \mathit{ber}(P) \|_{K_\lambda}^2} \leq \|P\|_{\mathit{ber}}$$

elde edilir.

4. Sonuç ve Yorum

Bu çalışmada sunulan fikirler ve metodolojiler, bu alanda gelecekteki araştırmalar için bir başlangıç noktası olarak hizmet edebilir. Berezin sayısının olası bir genellemesini inceleyerek, operatörlerin norm eşitsizlikleri ile Berezin sayısı arasındaki diğer bağlantıları arayacağız. İki operatörün toplamı için Berezin sayısını kullanarak bazı üst sınırlar bulmak istiyoruz. Ayrıca, fonksiyonel Hilbert uzayı üzerinde pozitif bir operatör operatör tarafından indirgenen ek bir yarı iç çarpım yapısı dikkate alındığında, Berezin sayısı ve Berezin normu ile ilgili bazı sınırlar incelenmiştir. Gelecek çalışmalarımızda araştırmamızın “Fraktallar ve Kesirli Hesap” ile bağlantılara nasıl katkıda bulunabileceğini planlıyoruz.

Yazar Katkı Beyanı

H. Basaran: Araştırma, Doğrulama, İnceleme ve Düzenleme;

M. Gürdal: Araştırma, Orijinal Taslak Yazımı.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FDK-2022-8878.

Kaynaklar

- [1] S. Abramovich, G. Jameson, and G. Sinnamon, “Inequalities for averages of convex and superquadratic function”, *J. Inequal. Pure Appl. Math.*, 5(4), 1-14, 2004.
- [2] J. S. Aujla and F. Silva, “Weak majorization inequalities and convex functions”, *Linear Algebra Appl.*, 369, 217-233, 2003.
- [3] F. A. Berezin, “Covariant and contravariant symbols for operators”, *Math. USSR-Izvestiya*, 6, 1117-1151, 1972.
- [4] H. Başaran, M. Gürdal, A. N. Günçan, “Some operator inequalities associated with Kantorovich and Hölder-McCarthy inequalities and their Applications”, *Turkish J. Math.*, 43(1), 523-532, 2019.
- [5] H. Başaran and M. Gürdal, “Berezin number inequalities via inequality”, *Honam Math. J.*, 43(3), 523-537, 2021.
- [6] H. Başaran and V. Gürdal, “Berezin radius and Cauchy-Schwarz inequality”, *Montes Taurus J. Pure Appl. Math.*, 5(3), 16-22, 2023.
- [7] H. Başaran, M. B. Huban and M. Gürdal, “Inequalities related to Berezin norm and Berezin number of operators”, *Bull. Math. Anal. App.*, 14(2), 1-11, 2022.
- [8] I. Chalendar, E. Fricain, M. Gürdal and M. Karaev, "Compactness and Berezin symbols", *Acta Sci. Math. (Szeged)*, 78(1), 315-329, 2012.
- [9] S. S. Dragomir, *Inequalities for the Numerical Radius of Linear Operators in Hilbert spaces*, Melbourne, Springer, 2013.
- [10] M. El-Haddad and F. Kittaneh, “Numerical radius inequalities for Hilbert space operators II”, *Studia Math.*, 182(2), 133-140, 2007.
- [11] S. Furuichi, “Further improvements of Young inequality”, *Rev. R. Acad. Cienc. Exactas Fis. Nat. Ser. A Mat.*, 113, 255-266, 2019.
- [12] S. Furuichi and H. R. Moradi, “On further refinements for Young inequalities”, *Open Math.*, 16, 1478-1482, 2018.
- [13] S. Furuichi, H. R. Moradi and M. Sababheh, “New sharp inequalities for operator means”, *Linear Multilinear Algebra*, 67(8), 1567-1578, 2019.
- [14] M. T. Garayev, M. Gürdal and A. Okudan, “Hardy-Hilbert's inequality and a power inequality for Berezin numbers for operators”, *Math. Inequal. Appl.*, 19, 883-891, 2016.
- [15] M. T. Garayev, M. Gürdal and S. Saltan, “Hardy type inequality for reproducing kernel Hilbert space operators and related problems”, *Positivity*, 21, 1615-1623, 2017.
- [16] M. Garayev, F. Bouzeffour, M. Gürdal and C. M. Yangöz, “Refinements of Kantorovich type, Schwarz and Berezin number inequalities”, *Extracta Math.*, 35, 1-20, 2020.
- [17] M. T. Garayev, H. Guedri, M. Gürdal and G. M. Alsahli, “On some problems for operators on the reproducing kernel Hilbert space”, *Linear Multilinear Algebra*, 69(11), 2059-2077, 2021.
- [18] K. E. Gustafson and D. K. M. Rao, *Numerical Range: The field of Values of Linear Operators and Matrices*, Universitext. Springer-Verlag, New York, 1997.
- [19] M. B. Huban, H. Başaran and M. Gürdal, “New upper bounds related to the Berezin number inequalities”, *J. Inequal. Spec. Funct.*, 12(3), 1-12, 2021.
- [20] M. B. Huban, H. Başaran and M. Gürdal, “Some new inequalities via Berezin numbers”, *Turk. J. Math. Comput. Sci.*, 14(1), 129-137, 2022.
- [21] F. Kittaneh, “Notes on some inequalities for Hilbert space operators”, *Publ. RIMS Kyoto Univ.*, 24, 283-293, 1988.
- [22] M. T. Karaev, “Berezin symbol and invertibility of operators on the functional Hilbert spaces”, *J. Funct. Anal.*, 238, 181-192, 2006.

- [23] M. T. Karaev and M. Gürdal, “On the Berezin symbols and Toeplitz operators”, *Extracta Math.*, 25(1), 83-102, 2010.
- [24] M. Karaev, M. Gürdal and U. Yamancı, “Some results related with Berezin symbols and Toeplitz operators”, *Math. Inequal. Appl.*, 17(3), 1031-1045, 2014.
- [25] B. Mond and J. Pečarić, “On Jensen's inequality for operator convex functions”, *Houston J. Math.*, 21, 739-753, 1995.
- [26] S. Tafazoli, H. R. Moradi, S. Furuichi and P. Harikrishnan, “Further inequalities for the numerical radius of Hilbert space operators”, *J. Math. Inequal.*, 13(4), 955-967, 2019.
- [27] A. Taghavi, T. A. Roushan and V. Darvish, “Some upper bound for the Berezin number of Hilbert space operators”, *Filomat*, 33(14), 4353-4360, 2019.
- [28] U. Yamancı, R. Tunç and M. Gürdal, “Berezin number, Grüss-type inequalities and their applications”, *Bull. Malaysian Math. Sci. Soc.*, 43(3), 2287-2296, 2020.

^{209}Bi izotopunun (p,xn), (p,xp), (p,xd) ve (p,xt) Reaksiyonlarının Teorik Nükleer Modeller İle İncelenmesi

Hasan Özdoğan^{*1}, Yiğit Ali Üncü²

¹Antalya Bilim Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Görüntüleme Teknikleri Programı, 07190, Antalya, TÜRKİYE
<https://orcid.org/0000-0001-6127-9680>

*yazışılan yazar: hasan.ozdogan@antalya.edu.tr

²Akdeniz Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, 07070, Antalya, TÜRKİYE
<https://orcid.org/0000-0001-7398-9540>

(Alınış / Received: 12.12.2022, Kabul / Accepted: 21.02.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Nükleer fizik alanındaki gelişmeler; arkeoloji, jeoloji, mühendislik, astrofizik, kozmoloji, kimya, biyoloji, tıp gibi bilim dallarını da etkilemektedir. Nükleer reaksiyon mekanizmalarını anlamak, reaksiyon modelleri oluşturmak ve mevcut nükleer reaksiyon modellerinin geçerliliğini değerlendirmek için nükleer modellerin incelenmesi gereklidir. Bu çalışmada protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun nötron, proton, döteryum ve trityum yayınlanma spektrumları incelenmiştir. Çalışmadaki sonuçlar, TALYS 1.95 nükleer reaksiyon kodu kullanılarak yapılmış, elde edilen sonuçlar Uluslararası Deneysel Nükleer Reaksiyon Data (EXFOR) kütüphanesinden elde edilen deneysel verilerle karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak incelenen, direkt reaksiyon, bileşik çekirdek ve denge öncesi mekanizmalarının sonuçları deneysel veriler ile uyumlu olarak çıkmıştır.

Anahtar kelimeler: Direkt reaksiyonlar, Bileşik çekirdek reaksiyonları, Denge öncesi reaksiyonlar, TALYS

The Investigation of (p,xn), (p,xp), (p,xd) and (p,xt) Reactions of ^{209}Bi isotope with Theoretical Nuclear Models

Abstract: Recent developments in nuclear physics also affect branches of science such as archeology, geology, engineering, astrophysics, cosmology, chemistry, biology, and medicine. Examining nuclear models is necessary to understand nuclear reaction mechanisms, construct reaction models, and evaluate the validity of existing nuclear reaction models and for use in nuclear physics applications. In this study, neutron, proton, deuterium, and tritium emission spectra of ^{209}Bi isotope bombarded with protons has been investigated. The results of the study have been made using the TALYS 1.95 nuclear reaction code, and the results have been compared with the experimental data obtained from the International Experimental Nuclear Reaction Data (EXFOR) library. Consequently, the results of the direct reaction, compound nuclei, and pre-equilibrium mechanisms examined have been in agreement with the experimental data.

Key words: Direct reactions, Compound nucleus reactions, Pre-equilibrium reactions, TALYS

1. Giriş

Nükleer reaksiyonlar yönetildiği mekanizmalar olarak direkt reaksiyonlar, bileşik çekirdek reaksiyonları, ve bu iki reaksiyonun arasındaki durum olan denge öncesi reaksiyonları olarak sınıflandırılırlar. Direkt reaksiyonlarda öncelikli olarak mermi çekirdek, çekirdeğin yüzeyinde etkileşmektedir. Artan mermi parçacığının enerjisinde dalga boyu çekirdek mertebesinde nükleon mertebesine kadar küçülür. Bu nedenle; düşük enerjilerde bileşik çekirdek reaksiyonları, yüksek enerjilerde ise, direkt reaksiyonları gözlemlemek daha olasıdır [1].

Bileşik çekirdek teorisi, ilk olarak Bohr tarafından ortaya konmuştur [2]. Bohr bileşik çekirdek reaksiyonlarını, reaksiyona ilk olarak giren parçacıkların birleşmesi ile bileşik çekirdeği oluşturduğu sonrasında oluşacak bileşik çekirdeğin bozularak son ürünler kümesini meydana getirdiği iki aşamada gerçekleştiğini öne sürmüştür [3]. Bileşik çekirdek reaksiyonlarında gelen parçacıklar çekirdeklerin yarıçaplarına göre daha küçük çarpışma parametresi ile hedef çekirdeğe girer. Parçacıklardaki olası saçılmalar ile hedef nükleonlardan biriyle etkileşme olasılığı fazladır. Diğer nükleonlarla ardışık çarpışmalar ise geri tepen nükleon ve gelen parçacık ile olabilir [1].

Denge öncesi reaksiyon modelleri yayınlanan parçacıkların açısal dağılımlarını tahmin etmede çokta başarılı olmasa da 10-60 MeV enerjili proton, nötron ve alfa parçacıkları ile oluşturulan reaksiyonlarda enerji spektrumunun yüksek enerji bölgelerini açıklamakta başarılıdır. Denge öncesi modeller, 200 MeV enerjinin altındaki enerjilerde nükleer tesir kesitlerinin modellenmesinde genellikle kullanılır. 10 MeV enerjinin üstündeki enerjilerde ise denge öncesi bileşenler nükleer reaksiyonlara göz ardı edilmeyecek derecede katkıda bulunur [4].

Nükleer reaksiyon deney sonuçları, temel nükleer fiziği anlamak için kritik öneme sahiptir. Nükleer reaksiyonların enerji bağımlılığı iyi anlaşılmadığında, çok çeşitli enerjiler için tesir kesitlerinin ve emisyon modellerinin araştırılması gerekmektedir. Çekirdeklerin tesir kesitleri ve parçacık emisyon spektrumlarını direkt olarak ölçmek her zaman mümkün değildir. Doğrudan ölçülemeyen tesir kesiti hesapları daha önceden teorik hesaplanarak bu konu hakkında işlem yapmak isteyenler için kullanılır [5-41].

Bu çalışmada mono-enerjetik protonlarla bombardıman edilen, 209-Bi (²⁰⁹Bi) izotopunun parçacık yayınlanma spektrumlarına direkt, bileşik çekirdek, ve denge-öncesi reaksiyonlarının etkisi incelenmiştir. Bu çalışma, TALYS 1.95 nükleer reaksiyon kodu kullanılarak yapılmış, elde edilen hesaplamalar Uluslararası Deneysel Nükleer Reaksiyon Data (EXFOR) kütüphanesinden elde edilen deneysel verilerle karşılaştırılıp yorumlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

TALYS nükleer reaksiyon programı, nükleer modeller kullanarak nükleer reaksiyonların eksiksiz ve doğru bir simülasyonunu sağlamak amacıyla, NRG (Hollanda) ve CEA'da (Fransa) Koning ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş bir bilgisayar kodudur. TALYS, temel bilimsel deneylerin analizi veya uygulamaları için nükleer veri üretmek amacıyla kullanılmaktadır.

TALYS ile yapılan hesaplamalarda optiksel modeller, seviye yoğunluğu modelleri, fisyon reaksiyon modelleri, direkt reaksiyon modelleri, bileşik çekirdek reaksiyon modelleri ve denge-öncesi reaksiyon modelleri gibi çeşitli modeller kullanılabilir. Bu modellere bağlı olarak; yayınlanma spektrumu, toplam ve kısmi tesir kesiti, açrya

bağlı çift katlı tesir kesiti, elastik ve inelastik saçılma tesir kesiti, gama ve fisyon yayınlanma tesir kesiti, üretim tesir kesitleri, radyoizotop üretimi hesaplanabilir. Ayrıca bolluk oranları analizi, yarıömür, astrofizik reaksiyon hızları, reaksiyonlar üzerine seviye yoğunluğu parametrelerinin etkisi açığa bağlı yayınlanma spektrumu gibi birçok hesaplamalar TALYS ile yapılabilir [42].

Bu çalışmada, 10,14, 11,2 ve 90 MeV enerjili protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun nötron, proton, döteryum ve trityum yayınlanma spektrumları TALYS 1.95 kodu ile incelenmiştir. Hesaplamalarda, bileşik çekirdek, direkt ve denge-öncesi reaksiyonların katkıları tek tek hesaplanmış ve toplam spektrum elde edilmiştir. Hesaplamalarda TALYS 1.95 kodunda seviye yoğunluğu olarak Sabit Sıcaklık Fermi Gaz Modeli kullanılmıştır [43]. Denge-öncesi katkısı; İki Bileşenli Eksiton Modelle [44], bileşik çekirdek reaksiyonu ise Hauser-Feshbach Modeli ile hesaplanmıştır [45]. Çalışmadaki sonuçlar, EXFOR kütüphanesinden alınan sonuçlar ile karşılaştırılarak analiz edilmiştir [46].

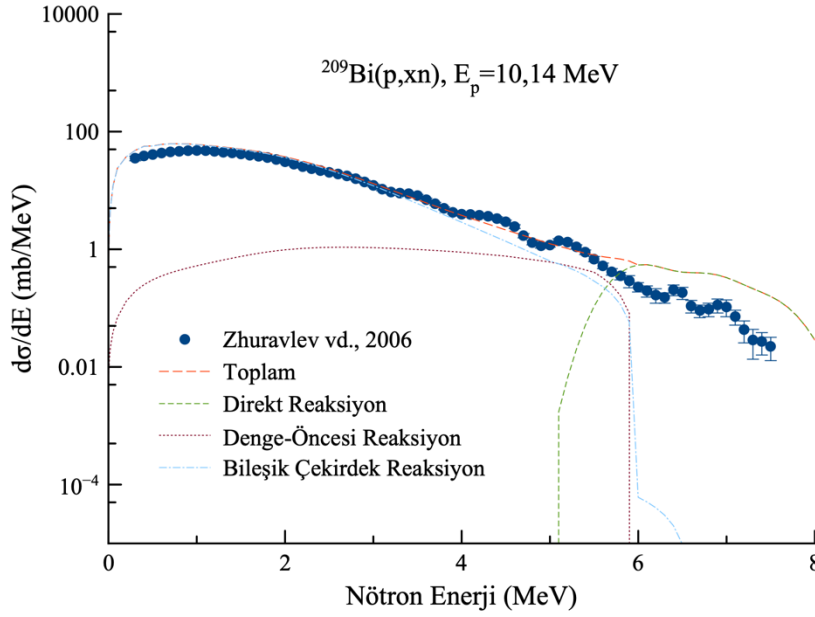
3. Bulgular

Bu çalışmada, ^{209}Bi izotopunun mono-enerjetik protonlarla bombardımanı sonrasında çıkan parçacıkların enerji spektrumları incelenmiştir. İncelenen enerji aralığında meydana gelebilecek bazı reaksiyonların Q değerleri Tablo 1’de verilmiştir.

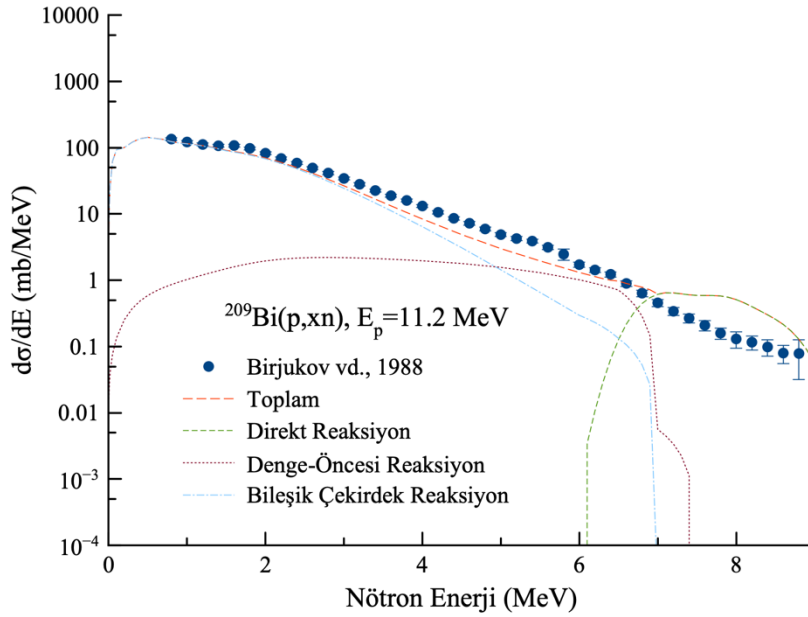
Tablo 1. Reaksiyonların Q Değerleri

Reaksiyonlar	(p,n)	(p,2n)	(p,3n)	(p,4n)	(p,d)	(p,2d)	(p,2p)	(p,3p)	(p,4p)	(p,xt)
Q Değeri (MeV)	-2.675	-9.643	-18.038	-25.070	-5.235	-13.466	-3.800	-11.802	-19.180	-5.865

Şekil 1’de 10,14 MeV protonlarla oluşturulan $^{209}\text{Bi}(p,xn)$ reaksiyon hesaplamalarının Zhuravlev vd. 2006 [47] deneysel verileriyle karşılaştırılması gösterilmiştir. Sonuca bakıldığında genel olarak hesaplamaları deneysel verilerle uyumlu bulunmuştur. Şekil 1.’de bileşik çekirdek reaksiyonunun 5 MeV nötron yayınlanma enerjisine kadar baskın olduğu gözlenmiştir. Direkt reaksiyon katkısı ise 5 MeV nötron yayınlanma enerjisinden sonra ortaya çıkmıştır. Denge-öncesi reaksiyonu ise 5 MeV nötron yayınlanma enerjisine kadar, reaksiyona katkı sağlamış, direkt reaksiyon mekanizmasının baskın hale gelmesiyle etkisini yitirmiştir.

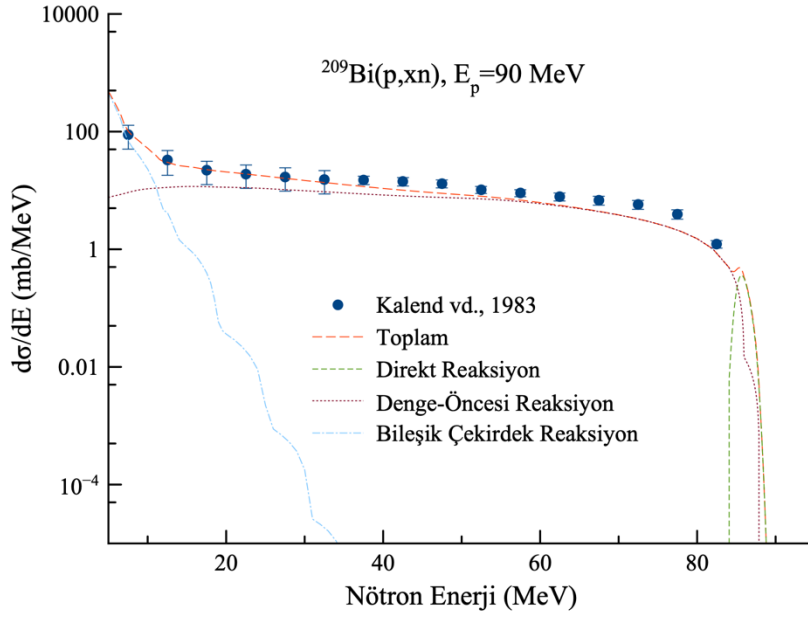


Şekil 1. 10,14 MeV protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun nötron yayınlama spektrum hesaplamaları



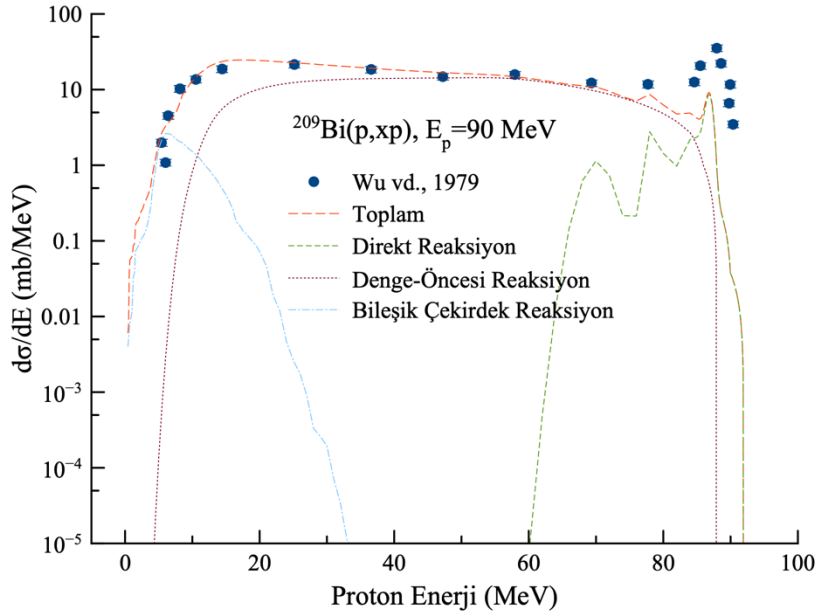
Şekil 2. 11,2 MeV protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun nötron yayınlama spektrum hesaplamaları

11,2 MeV protonlarla oluşturulan $^{209}\text{Bi}(p,xn)$ reaksiyon hesaplamalarının deneysel verilerle [48] karşılaştırılması Şekil 2.'de verilmiştir. Tüm reaksiyon mekanizmalarının toplam katkısı deneysel verilerle uyumlu olduğu görülmüştür. Şekil 2'de bileşik çekirdek reaksiyonu yaklaşık 4 MeV nötron enerjisine kadar deneysel verilerle uyum göstermiştir. Denge-öncesi mekanizması 7,5 MeV nötron yayınlama enerjisine kadar reaksiyona katkıda bulunmuştur. Direkt reaksiyon 6 MeV nötron enerjisinden sonra reaksiyona katkı sağlamış ve baskın etkileşim olmuştur.



Şekil 3. 90 MeV protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun nötron yayınlanma spektrum hesaplamaları

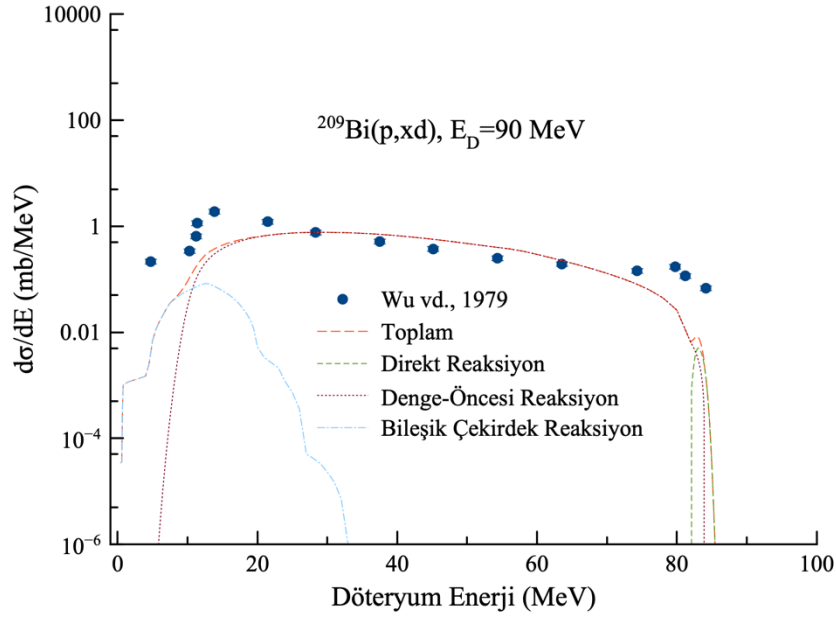
Şekil 3'te 90 MeV enerjili protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun nötron yayınlanma spektrum hesaplamalarının deneysel verilerle [49] karşılaştırılması verilmiştir. Tüm reaksiyon mekanizmalarının toplamının deneysel sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmektedir. Şekil 3'te bileşik çekirdek mekanizması yaklaşık 10 MeV nötron enerjisinden sonra etkisini yitirmiştir. Denge-öncesi reaksiyon mekanizmasının 80 MeV nötron enerjisine kadar baskın etkileşim olduğu görülmüştür. Direkt reaksiyon etkisi 80 MeV nötron enerjisinden sonra ortaya çıkmaktadır.



Şekil 4. 90 MeV protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun proton yayınlanma spektrum hesaplamaları

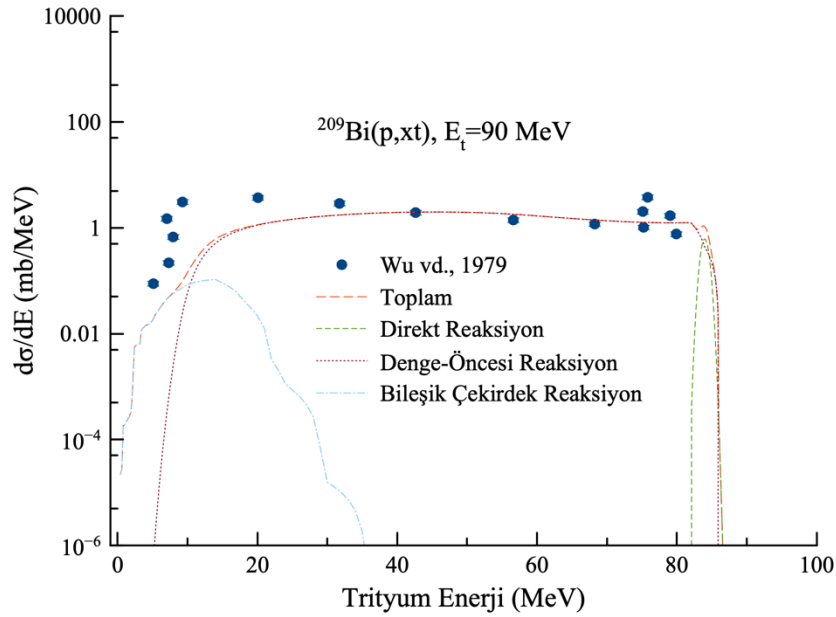
90 MeV enerjili protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun proton yayınlanma spektrum hesaplamaları Şekil 4'de verilmiştir. Bileşik çekirdek mekanizmasına ait katkının 10 MeV proton enerjisinden sonra etkisini yitirdiği görülmektedir. Denge-öncesi reaksiyon mekanizması 20-60 MeV proton enerji aralığında reaksiyondaki tek etkileşim

mekanizmasıdır. Direkt reaksiyon etkisi 60 MeV enerjiden sonra görülmüş ve 80 MeV enerjiden daha sonra baskın etkileşim olmuştur. Deneysel olarak elde edilen verilerde de [50] 80 MeV enerjisinden sonra direkt reaksiyon pikleri görülmüştür.



Şekil 5. 90 MeV protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun döteryum yayınlanma spektrum hesaplamaları

90 MeV protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun döteryum yayınlanma spektrum hesaplamalarının Wu ve arkadaşlarının [50] deneysel sonuçları ile karşılaştırılması Şekil 5.'de verilmiştir. Bileşik çekirdek reaksiyonu 10 MeV döteryum yayınlanma enerjisine kadar reaksiyona katkı vermiş, 10 MeV'den sonra baskın etkileşim denge-öncesi reaksiyon mekanizması olmuştur. Direkt reaksiyonun 80 MeV döteryum yayınlanma enerjisinden sonra olduğu görülmektedir.



Şekil 6. 90 MeV protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun trityum yayınlanma spektrum hesaplamaları

Şekil 6'da 90 MeV enerjili protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun trityum yayınlanma spektrum hesaplamalarının deneysel verilerle [50] karşılaştırılması verilmiştir. Bileşik çekirdek reaksiyonu 15 MeV trityum enerjisine kadar gözlenmiştir.

Denge-öncesi reaksiyonun ise 15 MeV-80 MeV trityum enerji aralığında gerçekleşmiş olduğu gözlenmiştir. Direkt reaksiyonun 85 MeV trityum yayınlanma enerjisinden sonra oluştuğu görülmektedir.

4. Sonuç ve Yorum

Bu çalışmada mono-enerjetik protonlarla bombardıman edilen ^{209}Bi izotopunun (p,xn), (p,xp), (p,xd) ve (p,xt) reaksiyonlarına bileşik çekirdek, denge-öncesi ve direkt reaksiyon mekanizmalarının etkisi incelenmiş ve reaksiyonların enerji (Q) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 1). Hesaplamalar, TALYS 1.95 kodu ile kullanılarak yapılmış, sonuçlar EXFOR kütüphanesinden elde edilen deneysel sonuçlar ile karşılaştırılmıştır.

Genel olarak incelenen, bileşik çekirdek, denge-öncesi ve direkt reaksiyon mekanizmalarının toplamının deneysel verilerle uyum sağladığı gözlenmiştir. Bileşik çekirdek reaksiyonunun, reaksiyon sonrasında yayınlanan parçacık enerjisinin düşük olduğu enerjilerde meydana geldiği gözlenmiştir. Direkt reaksiyon ise, bileşik çekirdek reaksiyonunun aksine, yayınlanan parçacık enerjisinin yüksek olduğu enerjilerde gözlenmiştir. Direkt reaksiyon mekanizmasında $d\sigma/dE$ – Enerji grafiğinde, pikler meydana gelmiştir. Denge-öncesi reaksiyon ise, bileşik çekirdek reaksiyonunun etkisini yitirmesiyle baskın mekanizma olarak gözlenmiş ve direkt reaksiyon meydana gelinceye kadar toplam tesir kesitine daha fazla katkı sağlamıştır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Hasan Özdoğan: Araştırma, Biçimsel Analiz, Veri İyileştirme, Orijinal Taslak Yazımı.
Yiğit Ali Üncü: Araştırma, Doğrulama, İnceleme ve Düzenleme, Orijinal Taslak Yazımı

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir destek ve teşekkür beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] K. S. Krane, *Nükleer Fizik-II*. Çev. Şarer, B., Palme Yayıncılık, Ankara. 2002, 460s.
- [2] N. Bohr, “Neutron capture and nuclear constitution”, *Nature*, 137, 344–348,1936.
- [3] E. Gadioli and P.E. Hodgson, *Pre-Equilibrium Nuclear Reactions*, Oxford University Press, New York, 199., 518s.
- [4] A. J. Koning and J.M. Akkermans, “Pre-equilibrium nuclear reactions: An introduction to classical and quantum-mechanical mod,” 1998 Erişim Tarihi:13.10.2022. ftp://ftp.nrg.eu/pub/www/talys/bib_koning/1998_Koning_preeq_ICTP.pdf.
- [5] A. Aydın, H. Pekdoğan, A. Kaplan, İ. H. Sarpün, E. Tel, B. Demir, 2015. Comparison of Level Density Models for the 60,61,62,64Ni(p,n) Reactions of Structural Fusion Material Nickel from Threshold to 30 MeV. *J. Fusion Energ.*, 34 (5), 1105-1108.
- [6] H. Özdoğan, M. Şekerci, İ. H. Sarpün, and A. Kaplan, “Investigation of level density parameter effects on (p,n) and (p,2n) reaction cross-sections for the fusion structural materials 48Ti, 63Cu and 90Zr,” *Appl. Radiat. Isot.*, 140, 29-34, 2018.

- [7] H. Özdoğan, Y. A. Üncü, M. Şekerci, and A. Kaplan, "Estimations of level density parameters by using artificial neural network for phenomenological level density models," *Appl. Radiat. Isot.*, 169, 109583, 2021.
- [8] O. Karaman, H. Özdoğan, Y. A. Üncü, C. Karaman, and A. G. Tanır, "Investigation of the effects of different composite materials on neutron contamination caused by medical LINAC," *Kerntechnik*, 85, 401-407, 2020.
- [9] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, "Level density model effects on the production cross section calculations of some medical isotopes via (α, xn) reactions where $x=1-3$," *Mod. Phys. Lett. A*, 35, 2050202, 2020.
- [10] H. Özdoğan, Y. A. Üncü, O. Karaman, M. Şekerci, and A. Kaplan, "Estimations of giant dipole resonance parameters using artificial neural network," *Appl. Radiat. Isotopes*, 169, 109581, 2021.
- [11] H. Özdoğan, İ. H. Sarpün, M. Şekerci, and A. Kaplan, "Production cross-section calculations of ^{111}In via proton and alpha-induced nuclear reactions," *Mod. Phys. Lett. A*, 36 (8), 2150051, 2021.
- [12] H. Özdoğan, M. Şekerci, and A. Kaplan, "An investigation on the effects of some theoretical models in the cross-section calculations of $^{50,52,53,54}\text{Cr}(a,x)$ reaction," *Phys. Atom. Nuclei.*, 83, 820-827, 2020.
- [13] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, "Astrophysical s-factor calculations under the effects of gamma-ray strength functions for some alpha capture reactions," *Mosc. Univ. Phys. Bull.*, 75, 585-589, 2020.
- [14] H. Özdoğan, M. Şekerci, and A. Kaplan, "Photo-neutron cross-section calculations of $^{54,56}\text{Fe}$, $^{90,91,92,94}\text{Zr}$, ^{93}Nb and ^{107}Ag Isotopes with newly obtained giant dipole resonance parameters," *Appl. Radiat. Isotopes*, 165, 109356, 2020.
- [15] M. Şekerci, "An investigation of the effects of level density models and alpha optical model potentials on the cross-section calculations for the production of the radionuclides ^{62}Cu , ^{67}Ga , ^{86}Y and ^{89}Zr via some alpha induced reactions," *Radiochim. Acta*, 108 (6), 459-467, 2020.
- [16] M. Şekerci, "Theoretical cross-section calculations for the (a, n) and $(a, 2n)$ reactions on ^{46}Ti , ^{50}Cr , ^{54}Fe , and ^{93}Nb Isotopes," *Mosc. Univ. Phys. Bull.*, 75, 123-132, 2020.
- [17] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, "An investigation of effects of level density models and gamma ray strength functions on cross-section calculations for the production of ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{169}Er , ^{177}Lu and ^{186}Re therapeutic radioisotopes via (n,g) reactions," *Radiochim. Acta*, 108 (1), 11-17, 2020.
- [18] H. Özdoğan, M. Şekerci, and A. Kaplan, "Investigation of gamma strength functions and level density models effects on photon induced reaction cross-section calculations for the fusion structural materials $^{46,50}\text{Ti}$, ^{51}V , ^{58}Ni and ^{63}Cu ," *Appl. Radiat. Isotopes*, 143, 6-10, 2019.
- [19] H. Özdoğan, M. Şekerci, and A. Kaplan, "A new developed semi-empirical formula for the (a,p) reaction cross-section at 19 ± 1 MeV," *Mod. Phys. Lett. A*, 34 (6), 1950044, 2019.
- [20] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, "Investigation on the different production routes of ^{67}Ga radioisotope by using different level density models," *Mosc. Univ. Phys. Bull.*, 74, 277-281, 2019.
- [21] H. Özdoğan, M. Şekerci, and A. Kaplan, "S-Factor Analysis of Proton Capture Reactions on $^{112,114,116,119}\text{Sn}$ and $^{113,115}\text{In}$ Isotopes," *Phys. Atom. Nuclei*, 82, 324-329, 2019.
- [22] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, "75-77Br radyoizotoplarının üretim tesir kesiti hesaplamalarında bazı seviye yoğunluğu modellerinin etkilerinin incelenmesi," *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13 (2), 719-729, 2020.
- [23] M. Şekerci, "Gamma kuvvet fonksiyonlarının bazı samaryum izotoplarının (g,n) ve $(g,2n)$ reaksiyonlarının tesir kesiti hesaplamaları üzerindeki etkileri," *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13 (2), 643-654, 2020.
- [24] A. Kaplan, M. Şekerci, H. Özdoğan, and B. Demir, "A study on the calculations of cross-sections for $^{66,67}\text{Ga}$ and ^{75}Se radionuclides production reactions via ^3He particles," *ESTUJST-A*, 21 (4), 554-561, 2020.
- [25] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, "Charged particle penetration distance and mass stopping power calculations on some nuclear reactor control rod materials," *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12 (2), 1103-1115, 2019.
- [26] M. Şekerci, "Bazı medikal radyoizotopların (a,xn) reaksiyonlarıyla üretim tesir kesiti hesaplamalarında seviye yoğunluğu modellerinin etkilerinin incelenmesi," *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (4), 2035-2047, 2019.
- [27] H. Özdoğan, M. Şekerci, and A. Kaplan, "Füzyon reaktörü yapısal malzemelerinde kullanılan bazı elementler için proton girişli reaksiyonlarda ^3He yayınlanma spektrumlarının incelenmesi," *SDÜFEFFD*, 13 (1), 12-18, 2018.
- [28] M. Şekerci and A. Kaplan, " $^{151,153}\text{Eu}$ izotoplarında (p,n) ve $(p,3n)$ reaksiyonları için tesir kesiti hesaplamaları ve seviye yoğunluğu modellerinin incelenmesi," *SDÜFEFFD*, 13(2), 132-143, 2018.
- [29] A. Nikjou, M. Sadeghi, M. Sharifian, and R. Baghbani, "Nuclear model calculations on the production of auger electron emitter ^{111}In : As a theranostic radionuclide," *Appl. Radiat. Isotopes*, 166, 109354, 2020.

- [30] A. Jafari, M. R. Aboudzadeh, M. Sharifian, M. Sadeghi, A. Rahiminezhad, B. Alirezapour, and S. Rajabifar, "Cyclotron-based production of the theranostic radionuclide scandium-47 from titanium target," *Nucl. Instrum. Meth. A.*, 961, 163643, 2020.
- [31] A. Nikjou and M. Sadeghi, "Overview and evaluation of different nuclear level density models for the ^{123}I radionuclide production," *Appl. Radiat. Isotopes*, 136, 45-58, 2018.
- [32] M. Sadeghi, T. Kakavand, L. Mokhtari, and Z. Gholamzadeh, "Determination of ^{68}Ga production parameters by different reactions using ALICE and TALYS codes," *Pramana - J Phys.*, 72, 335-341 2009.
- [33] P.V. Cuong, T.D. Thiep, L.T. Anh, T.T. An, B.M. Hue, K.T. Thanh, N.H. Tan, N.T. Vinh, and T.T. Anh, "Theoretical calculation by Talys code in combination with Geant4 simulation for consideration of γ, n reactions of Eu isotopes in the giant dipole resonance region," *Nucl. Instrum. Meth. A.*, 479, 68-73, 2020.
- [34] M. Yiğit, "Study on (n,p) reactions of $^{58,60,61,62,64}\text{Ni}$ using new developed empirical formulas," *Nucl. Eng.*, 52, 791-796, 2020.
- [35] Ö. Sönmez and O. Karaman, "Investigation of level density parameter dependence for some ^{233}U , ^{235}U , ^{237}U , ^{239}U , ^{249}Cf , ^{251}Cf , ^{237}Pu and ^{247}Cm nuclei in neutron fission cross sections with the incident energy up to 20 MeV," *Kerntechnik*, 86, 78-85, 2021.
- [36] R. Santra, B. Dey, S. Roy, Md.S.R. Laskar, R. Palit, H. Pai, S. Rajbanshi, S. Ali, S. Bhattacharjee, F.S. Babra, A. Mukherjee, S. Jadhav, B. S. Naidu, A. T. Vazhappilly, and S. Pal, "Nuclear level density of ^{69}Zn from gamma gated particle spectrum and its implication on $^{68}\text{Zn}(n, \gamma)^{69}\text{Zn}$ capture cross section," *Phys. Lett.*, 806, 145487, 2020.
- [37] B. Canbula, " ^{55}Mn İzotopunun fotonükleer tesir kesitleri üzerinde kollektif nükleer seviye yoğunluğunun etkisi," *SDÜ Fen Bil. Enst. Der.*, 24, 138-142, 2020.
- [38] B. Canbula, "Bazı tellür izotoplarının nötron yakalama tesir kesiti analizi," *Celal Bayar University Journal of Science*, 13, 445-455, 2017.
- [39] C. Yalçın, "İnce katman aktivasyon yöntemi için $^{48}\text{Ti}(\alpha, n)^{51}\text{Cr}$ reaksiyon tesir kesiti hesabı," *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17, 432-439, 2017.
- [40] D. Canbula, "Cross section analysis of proton-induced nuclear reactions of thorium," *Nucl. Instrum. Meth. A.*, 478, 229-232, 2020.
- [41] J. Luo and L. Jiang, "Activation cross-sections for the $^{185}\text{Re}(n, 2n)$ reaction and the isomeric cross-section ratio of $^{184\text{m,g}}\text{Re}$ in the neutron energy range of 13-15 MeV," *Eur. Phys. J. A.*, 55, 27, 2019.
- [42] A. Koning, S. Hilaire, and S. Goriely, TALYS 1.95 Nuclear Research and Consultancy Group (NRG), The Netherlands, 2019.
- [43] A.V. Ignatyuk, K.K. Istekov, G.N. Smirenkin, "The role of collective effects in the systematics of nuclear level densities," *Yad. Fiz.*, 29, 875-883, 1979.
- [44] C. Kalbach, "Two-component exciton model: basic formalism away from shell closures," *Phys. Rev. C*, 33 (3), 818-833.
- [45] W. Hauser and H. Feshbach, "The inelastic scattering of neutrons," *Phys. Rev.*, 87, 366, 1952.
- [46] EXFOR, (Experimental Nuclear Reaction Data File), Brookhaven National Laboratory, National Nuclear Data Center, Database Version of 2020-03-02.
- [47] B.V. Zhuravlev, A.A. Lychagin, N.N. Titarenko, "Nuclear-level densities around $Z = 50$ from neutron evaporation spectra in (p, n) reactions," *Phys. Atom. Nuclei*, 69, 363-370, 2006.
- [48] N.S. Birjukov, B.V. Zhuravlev, A.P. Rudenko, V.I. Trykova, "Neutron spectra and angular distributions from the (p,n) reaction on ^{165}Ho , ^{197}Ta , ^{197}Au , ^{209}Bi nuclei at $E(p)=11.2$ MeV," *Phys. Ser.*, 52, 166, 1988.
- [49] A. M. Kalend, B. D. Anderson, A. R. Baldwin, R. Madey, J. W. Watson, C. C. Chang, H. D. Holmgren, R. W. Koontz, J. R. Wu, and H. Machner, "Energy and angular distributions of neutrons from 90 MeV proton and 140 MeV alpha-particle bombardment of nuclei," *Phys. Rev. C*, 28, 105-119, 1983.
- [50] J. R. Wu, C. C. Chang, and H. D. Holmgren, "Charged-particle spectra: 90 MeV protons on ^{27}Al , ^{58}Ni , ^{90}Zr , and ^{209}Bi ," *Phys. Rev. C*, 19, 698-713, 1979.

Ir-191 ve Ir-193 izotoplarının (n,2n), (n,p) ve (n, α) Reaksiyon Tesir Kesitlerinin İncelenmesi

Halide Şahan^{*1}, Eda Şenyiğit²

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, 80000, Osmaniye, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0002-6223-6807>

*yazışılan yazar: halidesahan@osmaniye.edu.tr

²Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, 80000, Osmaniye, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0003-3437-5807>

(Alınış / Received: 18.11.2022, Kabul / Accepted: 21.02.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: 20,0 MeV'e kadar nötron kaynaklı reaksiyonlar için nükleer veriler, nükleer fizik, astrofizik ve tıp gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Bu çalışmada, farklı seviye yoğunluk modelleri kullanılarak iridyum izotoplarının (^{191,193}Ir) (n,2n), (n,p) ve (n, α) reaksiyon tesir kesitleri 20,0 MeV'e kadar hesaplanmıştır. Model hesaplamalarında, ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 bilgisayar kodları kullanılmıştır. ALICE-ASH'de Fermi Gas Modeli, EMPIRE-3.2'de Genelleştirilmiş Süper Akışkan Modeli ve TALYS-1.95'de Sabit Sıcaklık Fermi Gaz Modeli seçilmiştir. Sonuçlar tartışılmış ve literatürde bulunan deneysel verilerle ve ENDF veri kütüphanesinden elde edilen değerlendirilmiş verilerle (ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017) kıyaslanmıştır. Sonuçların, gelecekte yapılacak olan tesir kesit araştırmalarının geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacağına inanılmaktadır.

Anahtar kelimeler: (n,2n), (n,p) ve (n, α) reaksiyon tesir kesitleri, Teorik nükleer reaksiyon modelleri: ALICE-ASH, EMPIRE-3.2, TALYS-1.95

Investigation of (n,2n) and (n,p) Reaction Cross Sections of Ir-191 and Ir-193 Isotopes

Abstract: The nuclear data for neutron induced reactions up to 20.0 MeV is used in many different fields such as nuclear physics, astrophysics, and medicine. In this study, cross-section calculations for (n,2n), (n,p) and (n, α) reactions of iridium isotopes (^{191,193}Ir) have been calculated using different level density models up to 20,0 MeV. The ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 and TALYS-1.95 nuclear codes were used in model calculations. The Fermi Gas Model in ALICE-ASH, The Generalized Superfluid Level Density Model in EMPIRE-3.2 and the Constant Temperature Fermi Gas Level Density Model in TALYS-1.95 code have been selected. The results have been discussed and compared with the experimental data found in literature and with different evaluated nuclear data (ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 and JENDL-2017). It is believed that the results will make important contributions to the development of future cross-section studies.

Key words: (n,2n), (n,p) and (n, α) reaction cross sections, Theoretical nuclear reaction models, ALICE-ASH, EMPIRE-3.2, TALYS-1.95

1. Giriş

Nötron tesir kesit verilerinin belirlenmesi, hem uyarılmış çekirdek özelliklerinin tutarlı teorik tanımlarının oluşturulmasında hem de nükleer fizikte, nükleer astrofizikte, atom çekirdeğinin yapısının ve bileşenlerinin daha iyi anlaşılmasında, nükleer tıpta ve tıptaki uygulamalı alanlarda, nükleer reaktörlerin tasarım ve bakımları gibi birçok alanda oldukça ilgi görmektedir. Ayrıca, bu veriler füzyon reaktörlerinin yapısal malzemelerinin, metallerin ve alaşımların radyasyon hasarının tespitinde ve reaksiyon hızının araştırılmasında kapsamlı bir şekilde kullanılabilir [1-20]. Bu nedenle, nükleer modellerin teorik olarak tahminlerini iyileştirmek için yeni nükleer kesit verilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle deneysel verilerin olmadığı, yetersiz olduğu veya deneysel olarak tesir kesitlerinin ölçülmesinin çok zor olduğu durumlarda, parçacık kaynaklı reaksiyon tesir kesitlerini tahmin etmek için nükleer reaksiyon modelleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Elde edilen teorik reaksiyon sistematiği, nükleer reaksiyon tesir kesitlerinin tahmininin ve hesaplanması ile ilgili çalışmanın önemli bir parçasıdır. Deneysel ölçüm sonuçları ve teorik modellerle yapılan hesaplamaların yardımıyla reaksiyon tesir kesiti değerlendirmelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [5, 21-22].

14,0-15,0 MeV civarındaki nötron gelme enerjileri; (n,p), (n,2n) ve (n, α) gibi reaksiyonlar için çekirdeği uyarıya yeterlidir. Nötron girişli reaksiyon tesir kesitleri, malzemelerin mekanik ve fiziksel özellikleriyle nükleer olayları anlamak için en temel ve gelişmiş füzyon reaktörlerinin tasarımı için oldukça önemlidir. Literatürde, araştırmacılar tarafından 14,0 MeV nötron enerjisi civarındaki tesir kesit oranlarının belirlenmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır [5-6, 8-9, 11-13, 23-29]. Fakat yarı kararlı durumlarda taban durum tesir kesit verilerinde uyumsuzluklar olduğu görülmekte ve geniş enerji bölgelerinde önemli miktarda yeni nükleer verilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, veri tabanının güvenilirliğini arttırmak için daha hassas ölçümlerin yapılması gerekmektedir.

Nükleer reaksiyon tesir kesit verileri, başta deneysel ölçümler olmak üzere, teorik model hesaplamaları ve ENDF (Evaluated Nuclear Data File) kütüphanesinde olduğu gibi değerlendirilmiş veri dosyaları olmak üzere üç farklı şekilde elde edilebilir. Teorik model hesaplamalarında genel olarak ALICE-ASH [5], TALYS-1.95 [26,28] ve EMPIRE-3.2 [30-32] gibi farklı nükleer reaksiyon programı kodları yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, ALICE-ASH, TALYS-1.95 ve EMPIRE-3.2 kodları kullanılarak farklı seviye yoğunluk modellerinde Ir-191 ve Ir-193 izotopları için (n,p), (n,2n) ve (n, α) reaksiyon tesir kesitlerinin teorik hesaplamaları araştırılmıştır. Periyodik tablonun 8B grubunda bulunan ve atom numarası 77 olan iridyum (Ir) elementi 1844 yılında kimyacı Klaus tarafından keşfedilmiştir. Çok sert, yoğun ve kırılğan bir yapıya sahip olan iridyum elementi, yüksek sıcaklıklarda işlenebilen ve en yüksek korozyon direncine sahip metaldir. Toz halindeki İridyum (Ir-192) reaktiftir ve gama ışını kaynağı olarak kullanılabilir. Saf iridyum, hiçbir asitten etkilenmez. Alaşımlara sertlik ve dayanıklılık kazandırmak amacıyla ve dayanıklı kimyasal materyallerin yapımında kullanılır.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada; $^{191}\text{Ir}(n,2n)^{190}\text{Ir}$, $^{193}\text{Ir}(n,2n)^{192}\text{Ir}$, $^{191}\text{Ir}(n,p)^{191}\text{Os}$, $^{193}\text{Ir}(n,p)^{193}\text{Os}$, $^{191}\text{Ir}(n,\alpha)^{188}\text{Re}$ ve $^{193}\text{Ir}(n,\alpha)^{190}\text{Re}$ reaksiyonları için tesir kesitleri hesaplanmıştır. Teorik model hesaplamalarında ALICE-ASH TALYS-1.95 ve EMPIRE-3.2 bilgisayar programları kullanılmıştır. Bu bilgisayar kodları, nükleer reaksiyonlarla tesir kesiti hesaplamalarında ve uyarma fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Hesaplamalardan elde edilen sonuçlar, EXFOR'dan (National Nuclear Data Center) elde edilen deneysel sonuçlarla ve ENDF'den (Evaluated Nuclear Data File) elde edilen değerlendirilmiş sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

İlk kez Blann (1991) [21] tarafından ALICE-91 kodu olarak geliştirilen ve daha sonra güncellenen ALICE-ASH kodu 300.0 MeV enerjiye kadar nükleer reaksiyon tesir kesit hesaplamalarında kullanılmaktadır. ALICE-ASH kodu, bileşik çekirdek bozunumu için Weisskopf-Ewing (WE) formalizmini [33,34] ve Denge-öncesi (pre-equilibrium: PEQ) bozunma süreci için Geometrik Bağımlı Hibrit Modellerini (GDH) uygular [21,34-36]. Bu çalışmada, Fermi gaz seviye yoğunluk (FGM) modeli kullanılmıştır.

1980 yılında ilk kez yayınlanan EMPIRE kodu doğrudan reaksiyonlar, denge öncesi reaksiyonlar ve bileşik reaksiyonlar için kullanılmaktadır [30-32]. Bu kod sistemi, Hauser-Feshbach modeli, optik modeli, Multi-step Direc (MSD), Multi-step Compound (MSC), eksiton ve hibrit Monte Carlo simülasyon modellerini hesaplar. Ağır iyon kaynaklı reaksiyonlar için enerji aralığı rezonans bölgesinin hemen üstünden birkaç yüz MeV'e kadar değişmektedir [32,36]. Bu çalışmada, EMPIRE-3.2 (Malta) ile Genelleştirilmiş Süper Akışkan Modeli (Generalized Superfluid Model: GSFM) [2-3] kullanılmıştır.

Linux tabanlı bir bilgisayar kod programı olan TALYS kod sistemi 1 keV – 1 GeV enerji aralığında çalışan, nükleer fizikçiler tarafından en çok kullanılan ve deneysel sonuçlarla oldukça uyumlu sonuçlar veren bir nükleer reaksiyon programıdır. Genel olarak, doğrudan, bileşik, denge öncesi ve fisyon reaksiyonları için en yeni nükleer modellerin birçoğunu uygulamak için kullanılabilir [28,33]. Bu çalışmada, Sabit Sıcaklık Fermi Gaz Modeli (Constant Temperature Fermi Gas Model: CTFGM) [1] kullanılmıştır.

3. Bulgular

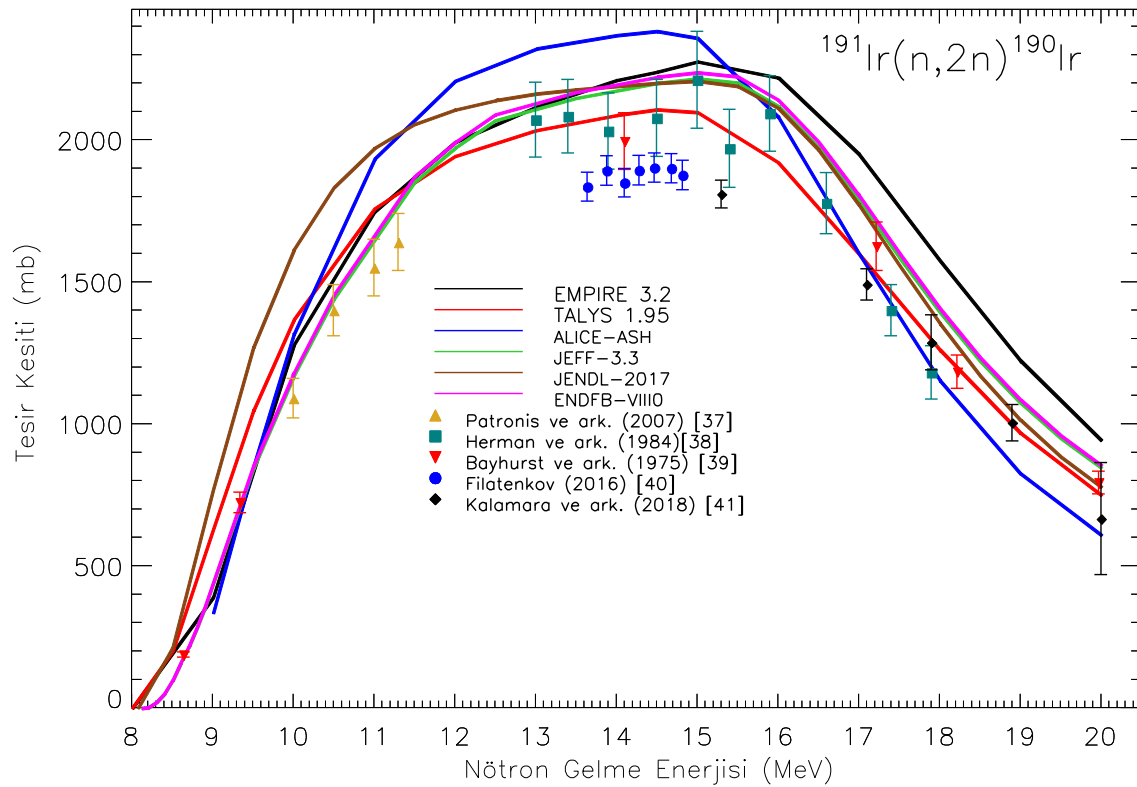
Bu çalışmada, 20,0 MeV'e kadar $^{191}\text{Ir}(n,2n)^{190}\text{Ir}$, $^{193}\text{Ir}(n,2n)^{192}\text{Ir}$, $^{191}\text{Ir}(n,p)^{191}\text{Os}$, $^{193}\text{Ir}(n,p)^{193}\text{Os}$, $^{191}\text{Ir}(n, \alpha)^{188}\text{Re}$ ve $^{193}\text{Ir}(n,\alpha)^{190}\text{Re}$ reaksiyonlarının tesir kesitleri teorik olarak hesaplanmıştır. Hesaplamalarda, ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 bilgisayar programları kullanılmıştır. Hesaplamalarda, seviye yoğunluğu hesaplamaları için ALICE-ASH kodunda Fermi gaz model (FGM), EMPIRE-3.2 kodunda Genelleştirilmiş Süper Akışkan Modeli (GSFM) [2-3] ve TALYS-1.95 kodunda Sabit Sıcaklık+Fermi Gaz Modeli (CTFGM) [1,3] yoğunluk modelleri kullanılmıştır. Modellerden hesaplanan $^{191,193}\text{Ir}$ izotoplarının (n,2n), (n,p) ve (n, α) tesir kesit sonuçları EXFOR (Experimental Nuclear Reaction Data) veri tabanındaki deneysel verilerle ve ENDF (Evaluated Nuclear Data File) veri tabanındaki ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 kütüphanelerindeki hesaplanmış olan değerlendirilmiş verilerle karşılaştırılır. Ayrıca, 14,5 MeV civarında modellerden, değerlendirilmiş verilerden ve deneysel verilerden oluşan sonuçlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. 14,5 MeV civarında $^{191,193}\text{Ir}$ izotopları için teorik (n,2n),(n,p) ve (n, α) reaksiyon tesir kesitleri

	$^{191}\text{Ir} (mb)$			$^{193}\text{Ir} (mb)$		
	<i>n,2n</i>	<i>n,p</i>	<i>n, α</i>	<i>n,2n</i>	<i>n,p</i>	<i>n, α</i>
EMPIRE-3.2	2240,90	10,01	1,10	2319,70	6,09	0,43
TALYS-1.95	2108,55	6,4	0,87	1980,72	3,92	0,29
ALICE-ASH	2384,30	7,92	0,66	2447,75	5,4	0,27
ENDFB-VIII.0	2201,53	4,57	0,71	2189,50	2,69	0,23
JEFF-3.3	2201,53	4,57	0,70	2189,50	2,68	0,22
JENDL-2017	2201,31	4,68	0,74	2199,59	2,51	0,29
Literatür (EXFOR)	2077,0 \pm 135	4,38 \pm 1,15	0,63 \pm 0,03	2005,0 \pm 100	4,9 \pm 0,6	0,1
	1995,0 \pm 100	4,8 \pm 0,8		1818,0 \pm 112	2,44 \pm 1,2	
	1902,0 \pm 5,14			2040,0 \pm 100		
				2034,0 \pm 4,56		

3.1 $^{191}\text{Ir}(n,2n)^{190}\text{Ir}$ reaksiyonu

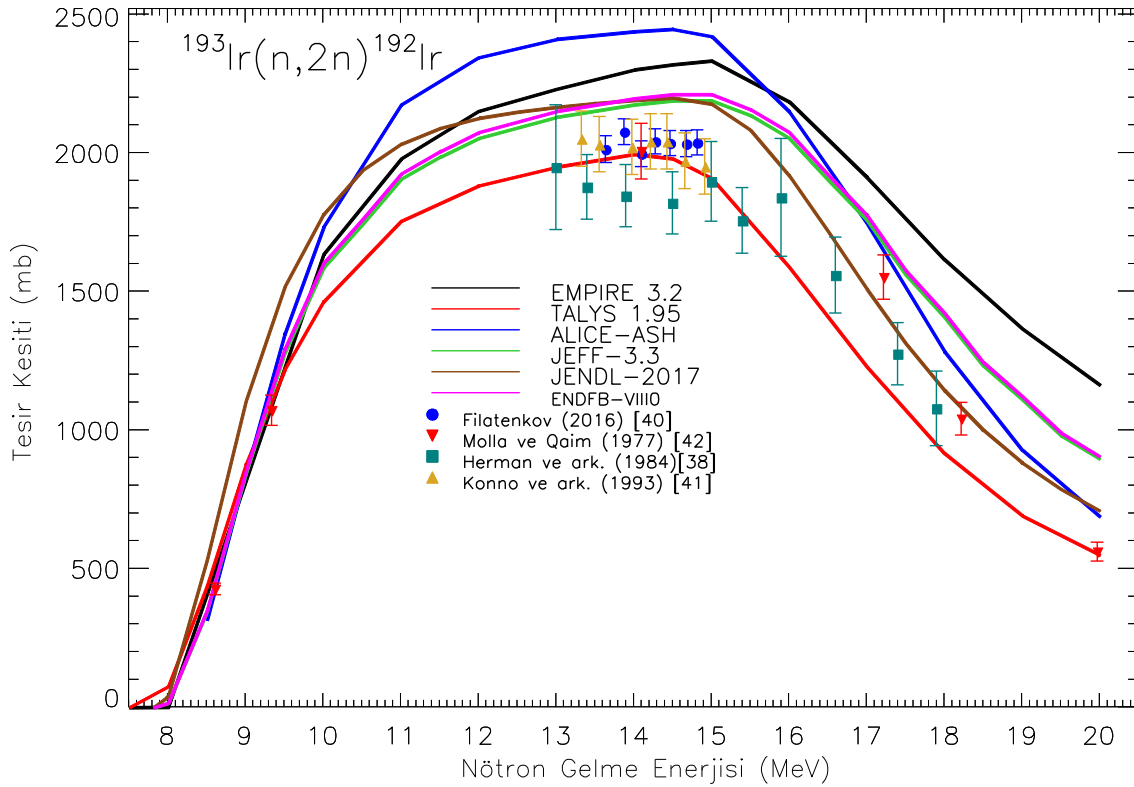
Üç farklı seviye yoğunluk modeli kullanılarak $^{191}\text{Ir}(n,2n)^{190}\text{Ir}$ reaksiyonunun 20,0 MeV'e kadar hesaplanan tesir kesitlerinin değişimini veren grafik Şekil 1'de verilmiştir. Modellerden hesaplanan tesir kesit eğrileri incelendiğinde, 8,0-11,0 MeV'e kadar EMPIRE-3.2, TALYS-1.95 ve ALICE-ASH modellerinden hesaplanan tesir kesit eğrileri Patronis ve ark. (2007) [37] tarafından verilen deneysel değerler ile yaklaşık olarak uyumlu olduğu görülmektedir. Ayrıca, aynı enerji aralığında JENDL-2017 dışında ENDF veri kütüphanesinden alınan diğer değerlendirilmiş tesir kesit verileriyle de uyumlu olduğu gözlenmiştir. 11,0-15,0 MeV'lik enerji aralığında EMPIRE-3.2 ile hesaplanan Genelleştirilmiş Süper Akışkan Modeli (GSFM) [2-3] ile hesaplanan tesir kesit değerleri bütün diğer tesir kesit değerlerinden daha yüksek olduğu gözlenirken, 15,0-20,0 MeV aralığında düşmeye başlamıştır. 16,0-18,0 MeV aralığında EXFOR'dan elde edilen Herman ve ark. (1984) [38] tarafından verilen deneysel değerler ile uyumluluk göstermiştir. Benzer şekilde, TALYS-1.95 kodunda CTFGM [1, 3] ile elde edilen tesir kesit değerleri 13,0 MeV'den sonra özellikle EXFOR'dan elde edilen Herman ve ark. (1984) [38] ve Bayhurst ve ark. (1975) [39] tarafından verilen deneysel değerler ile uyumluluk göstermiştir. ALICE-ASH kodunda FGM ile elde edilen tesir kesit değerleri yaklaşık olarak 14,0 MeV'den sonra diğerlerinden daha fazla değişim gösterdiği gözlenmiştir. Tablo 1'de verildiği gibi, 14,5 MeV'lik nötron enerjisinde EMPIRE-3.2, TALYS-1.95 ve ALICE-ASH seviye yoğunluk modellerinden hesaplanan tesir kesit değerleri sırasıyla 2240,9 mb, 2108,55 mb ve 2384,3 mb olarak verilmiştir. ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 kütüphanelerden alınan değerlendirilmiş verilerin ise sırasıyla 2100,42 mb, 2201,53 mb, 2201,53 mb ve 2201,31 mb olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, 14,5 MeV civarında Herman ve ark. (1984) [38], Bayhurst ve ark. (1975) [39] ve Filatenkov (2016) [40] tarafından elde edilen deneysel değer ise sırasıyla $2077,0 \pm 135$ mb, $1995,0 \pm 100$ mb ve $1902,0 \pm 5,14$ mb (EXFOR) olarak verilmiştir.



Şekil 1. $^{191}\text{Ir}(n,2n)^{190}\text{Ir}$ reaksiyonunun tesir kesitleri

3.2 $^{193}\text{Ir}(n,2n)^{192}\text{Ir}$ reaksiyonu

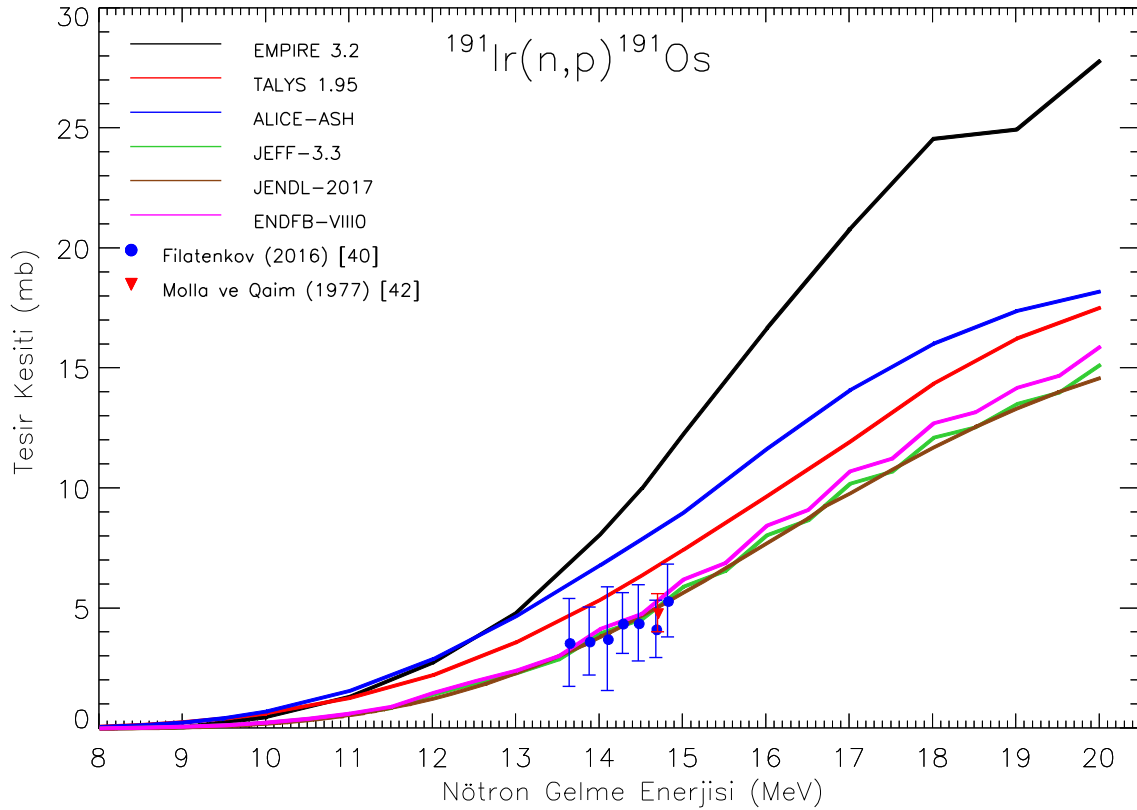
8,0-20,0 MeV enerji aralığındaki $^{193}\text{Ir}(n,2n)^{192}\text{Ir}$ reaksiyonu için hesaplanan ve elde edilen tesir kesit verileri Şekil 4.2’de verilmiştir. ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 ile hesaplanan tesir kesit eğrileri incelendiğinde, yaklaşık 11,0 MeV’e kadar değerlendirilmiş kütüphane (ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017) eğrileriyle ve EXFOR’dan alınan Bayhurst ve ark. (1975) [39] tarafından verilen deneysel eğrisiyle uyumlu olduğu gözlenmiştir. 10,0 MeV’den sonra EMPIRE-3.2 eğrisi diğer tesir kesit eğrilerine göre daha yüksek olarak artış gösterirken, TALYS-1.95 eğrisinin ise diğer tesir kesit eğrilerine göre daha düşük olarak artış gösterdiği görülmüştür. 12,0 MeV’den sonra ALICE-ASH eğrisi diğer tüm tesir kesit değerlerine göre daha yüksek değişim göstermiştir. Hemen hemen tüm enerji aralığında ENDFB-VIII.0 ve JEFF-3.3 kütüphane verilerinin bir biriyle uyumlu olduğu gözlenmiştir. 15,0 MeV’den sonra JENDL-2017 kütüphane verisinin ise hata değerleri aralığı göz önüne alındığında Bayhurst ve ark. (1975) [39] ve Herman ve ark. (1984) [38] tarafından verilen deneysel değere yaklaşık uyumlu olduğu gözlenmiştir. Tablo 1’de 14,5 MeV civarında Ir-193 izotopu için teorik (n,2n) reaksiyon tesir kesitleri EMPIRE-3.2 ile 2319,7 mb, TALYS-1.95 ile 1980,72 mb ve ALICE-ASH ile 2447,75 mb olarak hesaplanırken ENDF’den elde edilen eğrisi ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 ait değerlendirilmiş verilerin ise sırasıyla 2053,48 mb, 2189,5 mb, 2189,5 mb, ve 2199,59 mb olarak elde edilmiştir. 14,5 MeV’de EXFOR’dan elde edilen deneysel değerler Bayhurst ve ark. (1975) [39] tarafından $2005,0 \pm 100$ mb, Filatenkov (2016) [40] tarafından $2034,0 \pm 4,56$ mb, Herman ve ark. (1984) [38] tarafından $1818,0 \pm 11$ mb ve Konno ve ark. (1993) [41] tarafından $2040,0 \pm 1$ mb olarak verilmiştir.



Şekil 2. $^{193}\text{Ir}(n,2n)^{192}\text{Ir}$ reaksiyonunun tesir kesitleri

3.3 $^{191}\text{Ir}(n,p)^{191}\text{Os}$ reaksiyonu

13,0-20,0 MeV'lik enerji aralığında $^{191}\text{Ir}(n,p)^{191}\text{Os}$ reaksiyonunun modellerden, değerlendirilmiş kütüphane verilerinden ve EXFOR'dan alınan deneysel tesir kesit verileri Şekil 3'de verilmiştir. Şekil 3'den görüldüğü gibi, EMPIRE-3.2 ile hesaplanan tesir kesit eğrisi 13,0 MeV'den sonra diğer tesir kesit eğrilerine göre daha yüksek artış göstermiştir. ALICE-ASH ve EMPIRE-3.2 eğrileri tüm enerji aralığı boyunca deneysel değerlerden oldukça yüksek değerlere sahipken, TALYS-1.95 ile hesaplanan tesir kesit eğrisinin EXFOR'dan elde edilen deneysel değerlere en yakın değişim gösterdiği görülmektedir. 13,0 MeV – 15,0 MeV aralığında elde edilen deneysel değerlere en uygun eğrilerin ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 kütüphanelerden alınan değerlendirilmiş verilere oldukça yakın olduğu görülmektedir. Tablo 1'de görüldüğü gibi, 14,5 MeV civarında teorik olarak EMPIRE-3.2 ile 10,01 mb, TALYS-1.95 ile 6,4 mb ve ALICE-ASH ile 7,92 mb olarak hesaplanmıştır. Değerlendirilmiş kütüphane verileri ise sırasıyla ENDFB-VIII.0 ile 4,57 mb, JEFF-3.3 ile 4,57 mb ve JENDL-2017 ile 4,68 mb olarak tespit edilmiştir. Literatürden (EXFOR) elde edilen deneysel veriler ise aynı enerji civarında Filatenkov (2016) [40] tarafından $4,38 \pm 1,15$ mb ve Molla ve ark. (1977) [42] (EXFOR) tarafından 14,7 MeV'de $4,8 \pm 0,8$ mb olarak ölçülmüştür.

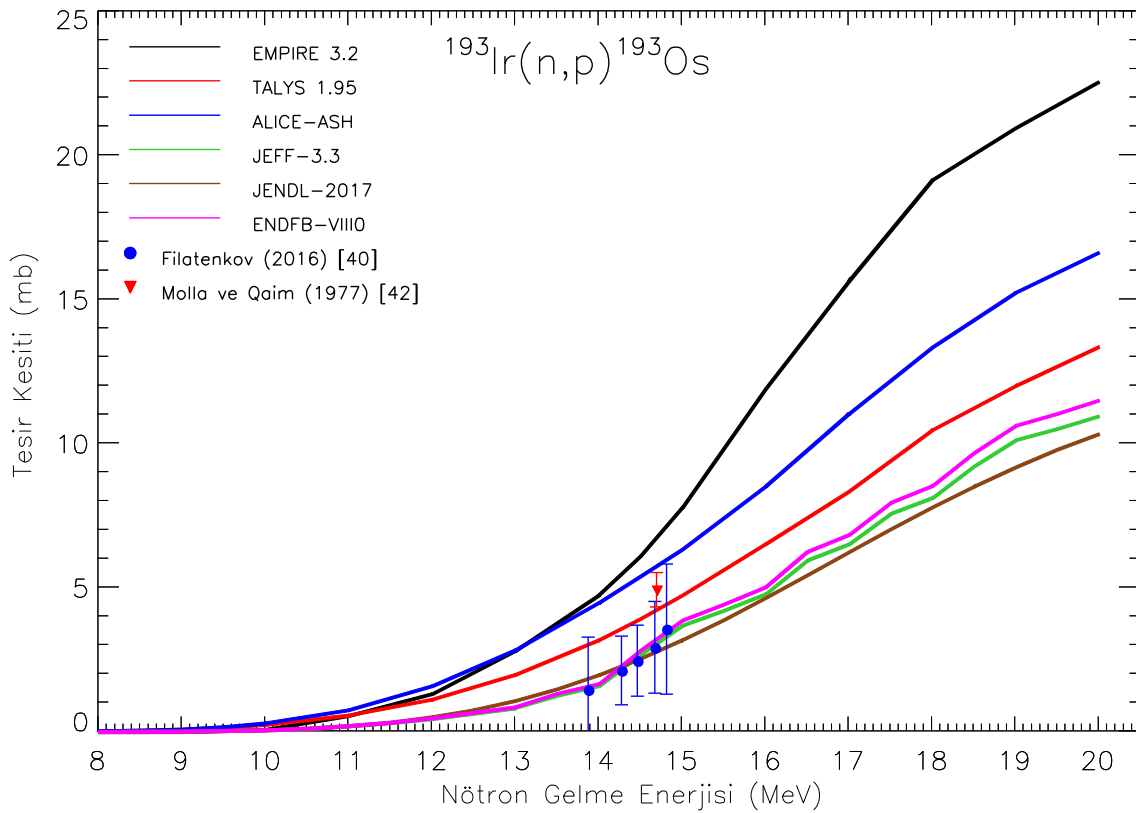


Şekil 3. $^{191}\text{Ir}(n,p)^{191}\text{Os}$ reaksiyonunun tesir kesitleri

3.4 $^{193}\text{Ir}(n,p)^{193}\text{Os}$ reaksiyonu

$^{193}\text{Ir}(n,p)^{193}\text{Os}$ reaksiyonunun nötron enerjisine bağlı tesir kesitlerini gösteren grafik Şekil 4'de verilmiştir. Şekil 4 incelendiğinde, EMPIRE-3.2 ile hesaplanan tesir kesit eğrisi 14,0 MeV'den sonra TALYS-1.95 ve ALICE-GDH'den elde edilen teorik tesir kesit eğrilerine göre ve özellikle ENDF kütüphane verilerine ve deneysel verilere göre daha yüksek artış göstermiştir. ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 ile hesaplanan tesir kesit eğrileri incelendiğinde ve kendi aralarında kıyaslandığında, ALICE-ASH eğrisinin EMPIRE-3.2 eğrisine göre daha düşük olduğu gözlenirken TALYS-1.95

eğrisine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 14,0 MeV – 15,0 MeV aralığındaki deneysel EXFOR verilerinin hata değerleri aralığında tesir kesit verilerinin TALYS-1.95 ile uyumlu oldukları gözlenmiştir. 14,7 MeV’de TALYS-1.95 kodu ile hesaplanan tesir kesit değerine en yakın deneysel değer Molla ve ark. (1977) [42] tarafından ($4,9 \pm 0,6$ mb) verilen değer olduğu görülmektedir. Ayrıca, ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 kütüphane verilerine en yakın değişim gösterdiği görülürken ALICE-GDH’den, EMPIRE-3.2 eğrilerinin daha yüksek oldukları görülmüştür. Tablo 1’de verildiği gibi 14,5 MeV civarında Ir-193 izotopunun (n,p) reaksiyonunun modellerden hesaplanan tesir kesit değerleri 6,09 mb (EMPIRE-3.2), 3,92 mb (TALYS-1,95 [28]) ve 5,4 mb (ALICE-ASH) olarak hesaplanırken, ENDF’den alınan değerler 2,69 mb (ENDFB-VIII.0), 2,68 mb (JEFF-3.3) ve 2,51 mb (JENDL-2017) olarak kaydedilmiştir. EXFOR’dan alınan Filatenkov (2016) [40] ve Molla ve ark. (1977) [42] tarafından elde edilen deneysel değerlerin ise sırasıyla $2,44 \pm 1,2$ mb ve $4,9 \pm 0,6$ mb olduğu görülmektedir.

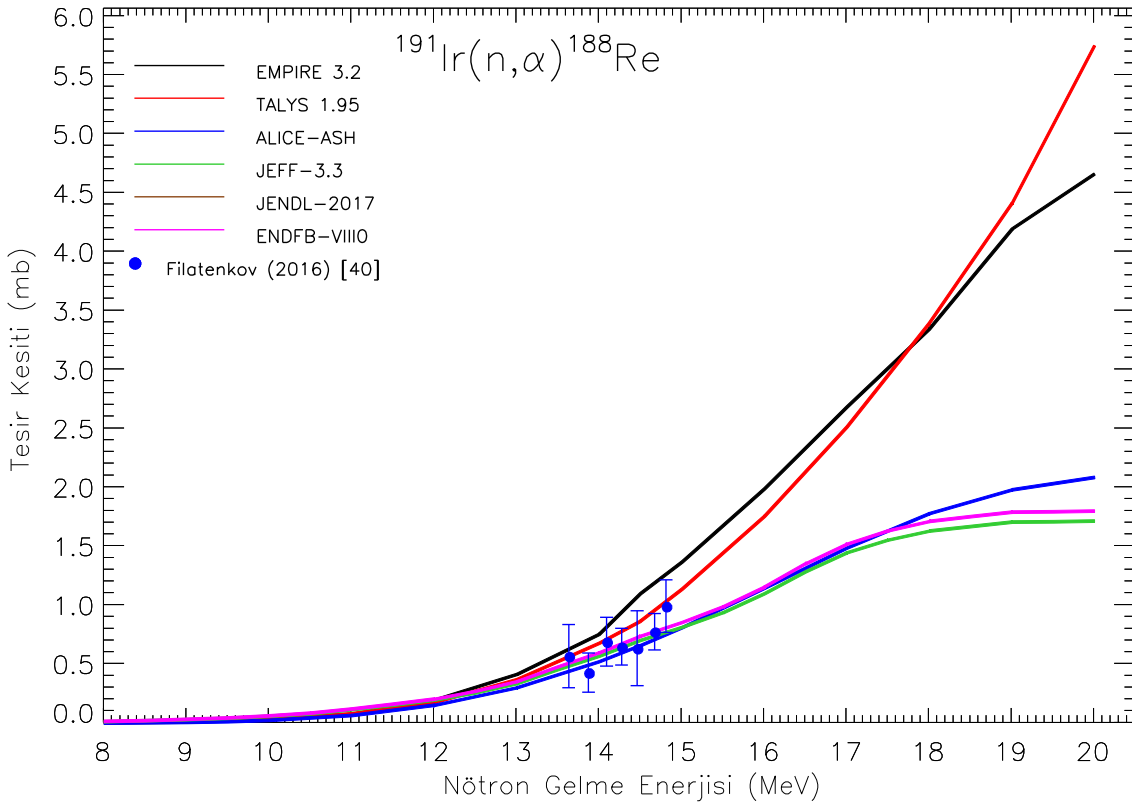


Şekil 4. $^{193}\text{Ir}(n,p)^{193}\text{Os}$ reaksiyonun tesir kesitleri

3.5 $^{191}\text{Ir}(n,\alpha)^{188}\text{Re}$ reaksiyonu

$^{191}\text{Ir}(n,\alpha)^{188}\text{Re}$ reaksiyonunun 10,0 - 20,0 MeV aralığında EMPIRE-3.2, TALYS-1.95 ve ALICE-ASH kodları kullanılarak değişik yoğunluk modellerinde hesaplanan tesir kesiti değerlerinin değişim grafikleri Şekil 5’de verilmiştir. Filatenkov (2016) [40] tarafından verilen deneysel tesir kesit değerleri 13,64 ile 14,82 MeV aralığında olup hata değerlerinin ise 0,42 mb ile 0,99 mb aralığındadır. 13,7 MeV’de her üç modelden hesaplanan tesir kesit değerleri Filatenkov (2016) [40] tarafından verilen deneysel tesir kesit değerlerine oldukça yakın değer almıştır. ALICE-ASH ve TALYS-1.95 kodları ile hesaplanan tesir kesit eğrilerinin hata değerleri aralığında deneysel değerler ile uyum içinde olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde, 10,0 - 20,0 MeV aralığında ALICE-ASH eğrisinin ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 eğrilerine benzer olduğu görülmektedir. Bu reaksiyonda, özellikle 15,0 MeV’den sonra modellerden hesaplanan EMPIRE-3.2 ile TALYS-1.95 tesir kesit eğrileri yaklaşık aynı değişimi gösterirken

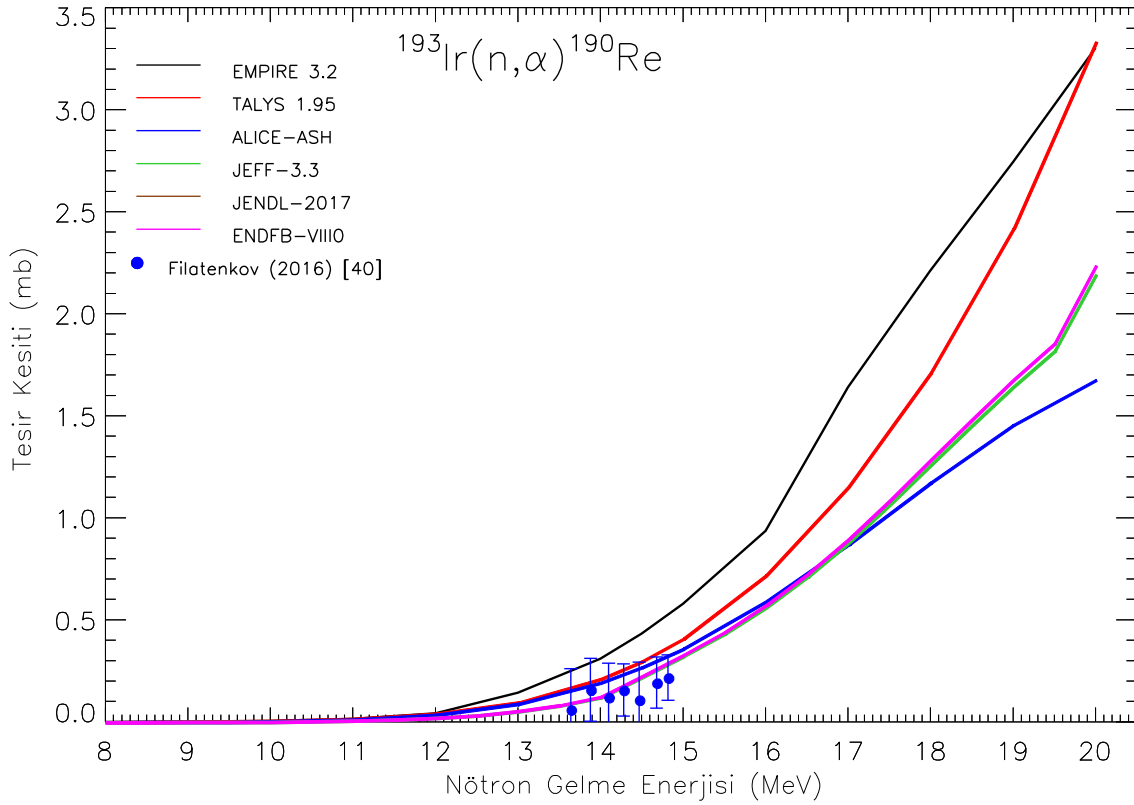
ALICE-ASH, ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 eğrilerine göre ise daha fazla artış gösterdiği görülmektedir. Tablo 1’de görüldüğü gibi yaklaşık 14,5 MeV’de Ir-191 izotopu için teorik (n, α) reaksiyon tesir kesitleri EMPIRE-3.2 ile 1,10 mb, TALYS-1.95 ile 0,87 mb ve ALICE-ASH ile 0,66 mb olarak hesaplanırken ENDF’den elde edilen eğrisi ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 ait değerlendirilmiş verileri ise sırasıyla 1,12 mb, 0,71 mb, 0,70 mb, ve 0,74 mb olarak elde edilmiştir. Filatenkov (2016) [40] tarafından (EXFOR) verilen deneysel tesir kesit değeri ise 14,7 MeV’de $0,63 \pm 0,03$ mb olarak verilmiştir.



Şekil 5. $^{191}\text{Ir}(n,\alpha)^{188}\text{Re}$ reaksiyonunun tesir kesitleri

3.6 $^{193}\text{Ir}(n,\alpha)^{190}\text{Re}$ reaksiyonu

20,0 MeV nötron gelme enerjisine kadar ^{193}Ir izotopunun (n, α) reaksiyonunun teorik tesir kesiti hesaplamalarının grafikleri Şekil 6’da verilmiştir. Şekil 6 incelendiğinde, EMPIRE-3.2 eğrisinin diğerlerine göre daha fazla artış gösterdiği görülmektedir. EXFOR’dan elde edilen 13,64-14,82 MeV aralığındaki deneysel tesir kesit değerleri 0,05 mb ile 0,18 mb aralığında değişmektedir (Filatenkov 2016) [40]. Deneysel tesir kesit değerlerinin hata değerleri de göz önüne alındığında hem modellerden hesaplanan TALYS-1.95 [28], ALICE-ASH değerlerine hem de ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 kütüphane değerlerine benzer olduğu görülmektedir. Tablo 1’de verildiği gibi 14,5 MeV’de, EMPIRE-3.2, TALYS-1.95 ve ALICE-ASH model kodlarından hesaplanan tesir kesitleri sırasıyla 0,43 mb, 0,29 mb ve 0,27 mb olarak hesaplanırken, ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017’ye ait değerlendirilmiş kütüphane verileri ise sırasıyla 0,23 mb, 0,22 mb, ve 0,29 mb olarak verilmiştir. EXFOR’dan elde edilen deneysel tesir kesit değeri ise 14,7 MeV’de $0,09 \pm 0,03$ mb (Filatenkov 2016) [40] olarak verilmiştir.



Şekil 6. $^{193}\text{Ir}(n,\alpha)^{190}\text{Re}$ reaksiyonunun tesisir kesitleri

4. Sonuç ve Yorum

Bu çalışmada, iridyum izotoplarının ($^{191,193}\text{Ir}$) ($n,2n$), (n,p) ve (n,α) reaksiyon tesisir kesitleri 20,0 MeV'e kadar teorik olarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar, ALICE-GDH'de [5] Fermi gaz modeli (FGM), EMPIRE-3.2'de (Herman ve ark., 2013) Genelleştirilmiş Süper Akışkan Modeli (GSFM) ve TALYS-1.95 'de Sabit Sıcaklık Fermi Gaz Modeli (CTFGM) gibi yoğunluk modelleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Modellerden hesaplanan reaksiyon tesisir kesit sonuçları EXFOR'dan alınan deneysel verilerle, ENDF nükleer veri kütüphanesinden alınan ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 değerlendirilmiş veri sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Ayrıca, 14,5 MeV civarındaki ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 değerleri hem deneysel hem de değerlendirilmiş kütüphane verileriyle de karşılaştırılmıştır (Tablo 1).

ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 kullanılarak 20,0 MeV'e kadar elde edilen sonuçlar kısaca aşağıda özetlenmiştir.

- $^{191}\text{Ir}(n,2n)^{190}\text{Ir}$ ve $^{193}\text{Ir}(n,2n)^{192}\text{Ir}$ nükleer reaksiyonlarında; ALICE-ASH ile hesaplanan tesisir kesit değerlerinin 10,0-15,0 MeV aralığında diğer tüm tesisir kesit değerlerinden daha yüksek olduğu ve 15,0 MeV'den sonra azalarak EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 verilerine ve deneysel ve değerlendirilmiş verilere benzer değişim gösterdiği gözlenmiştir. TALYS-1.95 eğrisinin deneysel değerlere daha yakın değişim gösterdiği gözlenmiştir. EMPIRE-3.2 ile elde edilen tesisir kesit eğrilerinin 15,0 MeV'e kadar deneysel ve değerlendirilmiş verilerle uyumlu olduğu görülürken, 15 MeV'den sonra daha fazla artış gösterdiği görülmektedir.
- $^{191}\text{Ir}(n,p)^{191}\text{Os}$ ve $^{193}\text{Ir}(n,p)^{193}\text{Os}$ nükleer reaksiyonlarında; EMPIRE-3.2 ile hesaplanan tesisir kesit değerlerinin 10,0-15,0 MeV nötron gelme aralığında genel olarak diğerlerine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

- $^{191}\text{Ir}(n,p)^{191}\text{Os}$ reaksiyonunda, TALYS-1.95 verilerine göre ALICE-ASH ve EMPIRE-3.2 ile hesaplanan teorik verilerin deneysel ve kütüphane verilerinden genel olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. TALYS-1.95 değerlerinin deneysel değerlere daha yakın olduğu görülmektedir. ALICE-ASH değerlerinin EMPIRE-3.2'e göre daha düşük, TALYS-1.95'e göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Deneysel verilerin ENDFB-VIII.0, JEFF-3.3 ve JENDL-2017 kütüphane verilerine daha yakın olduğu görülmüştür.
- $^{193}\text{Ir}(n,p)^{193}\text{Os}$ reaksiyonunda, ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 modellerinden hesaplanan tesir kesit eğrilerinin deneysel ve değerlendirilmiş kütüphane verilerine göre daha yüksek değerlere sahip oldukları ve özellikle, EMPIRE-3.2 eğrisinin 14,0 MeV'den sonra daha da fazla artış gösterdiği görülmektedir. TALYS-1.95 ile hesaplanan tesir kesit değerlerinin ise deneysel ve değerlendirilmiş değerlere daha yakın olduğu görülmektedir.
- $^{191}\text{Ir}(n, \alpha)^{188}\text{Re}$ ve $^{193}\text{Ir}(n,\alpha)^{190}\text{Re}$ reaksiyonlarında, genel olarak 15,0 MeV'e kadar her üç modelden hesaplanan tesir kesit eğrileri deneysel ve kütüphane verilerine benzerlik gösterirken, 15,0 MeV'den sonra EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 eğrilerinin daha fazla arttığı görülmektedir. ALICE-ASH eğrilerinin hem deneysel hem de değerlendirilmiş kütüphane verileri ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, nükleer teknolojide farklı uygulamalar için 20,0 MeV'e kadar nötron gelme enerjili reaksiyon kesit verileri nükleer fizik, nükleer astrofizik, nükleer tıp gibi pek çok nükleer alanda gereklidir. Bu nedenle, 20,0 MeV'e kadar ALICE-ASH, EMPIRE-3.2 ve TALYS-1.95 bilgisayar kodları kullanılarak hesaplanan iridyum ($^{191,193}\text{Ir}$) izotoplarının (n,2n), (n,p) ve (n, α) reaksiyon tesir kesit sonuçlarının literatüre katkı sağlayacağına ve sonuçların gelecekte yapılacak olan tesir kesit araştırmalarının geliştirilmesine ve özellikle deneysel verilerin bulunmadığı durumlar için araştırmacılara önemli katkılar sağlayacağına inanılmaktadır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Halide ŞAHAN: Araştırma, Veri Temini, Veri Analizi, Orijinal Taslak Yazımı, İnceleme ve Düzenleme, Görselleştirme.

Eda ŞENYİĞİT: Araştırma, Veri Temini, Veri Analizi, Kaynak, Materyal, Analiz.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı ve Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] A. Gilbert and A. G. W. Cameron, "A composite nuclear level density formula with shell correction," *Can. J. of Phys.*, 43 (8),1446-1496, 1965.
- [2] V. Ignatyuk, G. N. Smirenkin, and A. S. Tishin, "Phenomenological description of energy dependence of the level density parameter," *Sov. J. Nucl. Phys. (Yad. Fiz., v.)*, 21 (3), 485-490, 1975.
- [3] A. V. Ignatyuk, K. K. Istekov, and G. N. Smirenkin, "The role of collective effects in the systematics of nuclear level densities," *Sov. J. Nucl. Phys.*, 29 (4), 450, 1979.
- [4] S. K. Kataria, V. S. Ramamurthy, and S. S. Kapoor, "Semiempirical nuclear level density formula with shell effects," *Phys. Rev. C*, 18, 549, 1978.
- [5] C. H. M. Broeders, A. Yu. Konobeyev, Yu. A. Korovin, V. P. Lunev, and M. Blann, "Report FZKA

- 7183,” <http://bibliothek.fzk.de/zb/berichte/FZKA7183.pdf>, 2006.
- [6] M. Şahan, E. Tel, A. Aydın, and İ. Yegingil, “Investigation of some stellar iron group fusion materials for (n, p) reactions,” *J. Fusion. Energ.*, 31, 52-64, 2012.
- [7] T. Wang, G. Kim, Y. D. Oh, M. H. Cho, and I. S. Ko, W. “Namkung, neutron total cross sections and resonance parameters of palladium,” *Nucl. Sci. Eng.*, 183, 286-297, 2016.
- [8] M. Yiğit and A. Kara, “Model-based predictions for nuclear excitation functions of neutron-induced reactions on 64,6668Zn targets,” *Nucl. Sci. Eng.*, 49, 996-1005, 2017.
- [9] M. Yiğit, “A review of (n,p) and (n,α) nuclear cross sections on palladium nuclei using different level density models and empirical formulas,” *Appl. Radiat. Isotopes*, 140: 355–362, 2018.
- [10] I. Pasha, B. Rudraswamy, S. V. Suryanarayana, H. Naik, S. P. Ram, L.S. Danu, T. Patel, S. Bishnoi, and M. P. Karantha, “Measurement of neutron induced reaction cross sections of palladium isotopes at the neutron energy of 14.54 +/- 0.24 MeV with covariance analysis,” *J. Radioanal. Nucl. Ch.*, 325(2): 175-182, 2020.
- [11] A. Kaplan, M. Şekerci, V. Çapalı, and H. Özdoğan, “Photon Induced Reaction Cross-Section Calculations of Several, Structural Fusion Materials,” *J. Fusion. Energ.*, 36, 213–217, 2017.
- [12] A. Kaplan, H. Özdoğan, A. Aydın, and E. Tel, “(γ,2n) Reaction Cross Section Calculations on Several Structural Fusion Materials,” *J. Fusion. Energ.*, 32, 431–436, 2013.
- [13] A. Kaplan, H. Özdoğan, A. Aydın, and E. Tel, “Deuteron-induced cross section calculations of some structural fusion materials,” *J. Fusion. Energ.*, 32, 97–102, 2013.
- [14] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, “Level density model effects on the production cross-section calculations of some medical isotopes via (α, xn) reactions where x = 1–3,” *Mod. Phys. Lett. A*, 35, 24, 2050202, 2020.
- [15] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, “An investigation of effects of level density models and gamma ray strength functions on cross-section calculations for the production of 90Y, 153Sm, 169Er, 177Lu and 186Re therapeutic radioisotopes via (n,γ) reactions,” *Radiochim. Acta*, 105, 1, 2019.
- [16] M. Şekerci, H. Özdoğan, and A. Kaplan, “Investigation on the different production routes of 67Ga radioisotope by using different level density models,” *Biophysics and Medical Physics*, 74, 277–281, 2019.
- [17] M. Yiğit, “Analysis of cross sections of (n,t) nuclear reaction using different empirical formulae and level density models,” *Appl. Radiat. Isotopes*, 139, September 2018, Pages 151-158
- [18] A. Kaplan, E. Tel, and A. Aydın, “The equilibrium and preequilibrium neutron-emission spectra of some structural fusion materials for (n, xn) reactions up to 16 MeV energy,” *Phys. Atom. Nucl+*, 72, 6, 903–910, 2009.
- [19] H. Özdoğan, M. Şekerci, İ. H. Sarpun, and A. Kaplan, “Investigation of level density parameter effects on (p,n) and (p,2n) reaction cross-sections for the fusion structural materials 48Ti, 63Cu and 90Zr,” *Appl. Radiat. Isotopes*, 140, 29-34, 2018.
- [20] H. Özdoğan, M. Şekerci, and A. Kaplan, “Investigation of gamma strength functions and level density models effects on photon induced reaction cross-section calculations for the fusion structural materials 46,50Ti, 51V, 58Ni and 63Cu,” *Appl. Radiat. Isotopes*, 143, 6-10, 2019.
- [21] M. Blann, “ALICE-91, Statistical model code system with fission competition”, *RSIC Code Package PSR-146, Lawrence Livermore National Laboratory, California, USA, 1991.*
- [22] R. Capote, V. Osorio, R. Lopez, E. Herrera, and M. R. Piris, “PCROSS program code” (Higher Institute of Nuclear Science and Technology, Cuba, 1991); Translated by the IAEA on the March 1991.
- [23] H. Sahan, M. Sahan, and E. Tel, “Cross-Section Calculation of (n, p) and (n, 2n) reactions for high temperature reactors construction materials tungsten and rhenium,” *Phys. Atom. Nucl+*, 84 (5), 724–738, 2021.
- [24] E. Tel, M. H. Bölükdemir, S. Okuducu, A. Aydın, and A. Kaplan, “Investigation of neutron skin effect, with density dependence by using a new calculation method for initial exciton numbers on pre-equilibrium reactions,” *Phys. Scripta*, 80, 065201, 2009.
- [25] A. J. Koning and J. P. Delaroche, “Local and global nucleon optical models from 1 keV to 200.0 MeV”, *Nuclear Physics A*, 713 (3-4), 231–310, 2003.
- [26] C. Kalbach, “Preequilibrium reactions with complex particle channels,” *Phys. Rev. C*, 71, 034606, 2005.
- [27] M. Sahan, E. Tel, H. Sahan, U. Gevher, and A. Kara, “Cross section calculations of (n,2n) and (n,p) nuclear reactions on germanium isotopes at 14–15 MeV,” *J. Fusion. Energ.*, 35:730–742, 2016.
- [28] A. Koning, S. Hilaire, and S. Goriely, “User Manuel TALYS-1.95, A nuclear reaction program,” new edition- 24 december 2019 ed. <http://www.talys.eu/download-talys/>, 2019.
- [29] J. Luo, F. Tuo, and X. Kong, “Activation cross sections and isomeric cross section ratios for 184Os(n,2n)183m.gOs, 190Os(n,p)190m.gRe and 86Sr(n,2n)85m.gSr reactions from 13.5 to 14.8 MeV,” *J. Radioanal. Nucl. Ch.*, 279 (2), 443–454, 2009.
- [30] C. K. Cline, “Extensions to the pre-equilibrium statistical model and a study of complex particle emission,” *Nucl. Phys. A*, 193, 417, 1972.

- [31] I. Ribansky, P. Oblozinsky, and E. Betak, "Pre-equilibrium decay and the exciton model," *Nucl. Phys. A*, 205, 545-560, 1973.
- [32] M. Herman, R. Capote, M. Sin, A. Trkov, B. Carlson, D. Brown, G. Nobre, P. Oblozinsky, C. Mattoon, H. Wienke, S. Hoblit, Y. S. Cho, V. Plujko, and V. Zerkin, "EMPIRE-3.2 Malta modular system for nuclear reaction calculations and nuclear data evaluation," *User's Manual*, 2013.
- [33] A. J. Koning and J. P. Delaroche, "Local and global nucleon optical models from 1 keV to 200.0 MeV," *Nucl. Phys. A*, 713 (3-4), 231-310, 2003.
- [34] V. F. Weisskopf and D. H. Ewing, "On the yield of nuclear reactions with heavy elements," *Phys. Rev.*, 57, 472, 1940.
- [35] M. Blann and H. K. Vonach, "Global test of modified precompound decay models," *Phys. Rev.*, 28 (4), 1475-1492, 1983.
- [36] W. Hauser and H. Feshbach, "Inelastic scattering of neutrons," *Phys. Rev. C*, 87, 366, 1952.
- [37] N. Patronis, C. T. Papadopoulos, S. Galanopoulos, M. Kokkoris, G. Perdikakis, R. Vlastou, A. Lagoyannis, and S. Harissopoulos, "Activation cross section and isomeric cross-section ratio for the (n,2n) reaction on 191-Ir," *Phys. Rev. C*, 75, 2007.
- [38] M. Herman, A. Marcinkowski, and K. Stankiewicz, "Statistical multi-step compound emission in (n,2n) reactions," *Nucl. Phys. A*, 430 (1), 19, 69-83, 1984.
- [39] B. P. Bayhurst, J. S. Gilmore, R. J. Prestwood, J. B. Wilhelmy, N. Jarmie, B. H. Erkkila, and R. A. Hardekopf, "Cross sections for (n,xn) reactions between 7.5 and 28 MeV," *Phys. Rev. C*, 12 (2), 451.
- [40] A. A. Filatenkov, Neutron activation cross sections measured at KRI in neutron energy region 13.4 - 14.9 MeV", *USSR report to the INDC*. No. 0460, Austria, 2016.
- [41] C. Konno, Y. Ikeda, K. Osihi, K. Kawede, H. Yamamoto, and H. Maekawa, "JAERI- Reports", No. 1329, *Japan Atomic Energy Research Institute*, Japan, 1993.
- [42] N. I. Molla and S. M. Qaim, "A systematic study of (n,p) reactions at 14.7 MeV," *Nucl. Phys. A*, 283 (2), 13 977 269-288, 1977.

Prematüre Retina Kan Damarlarının Tespitinde Farklı Görüntü İşleme Yöntemlerinin Performanslarının Karşılaştırılması

Evren Sezgin¹, Yiğit Ali Üncü², Ahmet Yardımcı^{*3}

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı, 07070, Antalya, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0003-1270-581X>

²Akdeniz Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi, 07070, Antalya, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0001-7398-9540>

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı, 07070, Antalya, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0001-7241-4913>

*yazışılan yazar: yardimci@akdeniz.edu.tr

(Alınış / Received: 17.12.2022, Kabul / Accepted: 03.03.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Prematüre retinopatisi (ROP) hastalığının teşhisinde, retinadaki kan damarlarının özellikleri oldukça önemlidir. Erken doğan bebeklerde retina kan damarları büyümesini tamamlayamaz. Doğum sonrası, bazı tetikleyici durumlar düzenli damarların oluşumunun durmasına ve anormal kan damarlarının anormal doku oluşturarak genişlemeye başlamasına neden olur. Bu durumunun derecesinin artması ile retina hasarları oluşabilir. Özellikle prematüre doğan bebeklerin, prematüre retinopatisi hastalığı kapsamında olduğu için, damar ağlarında gelişmeleri takip ederek hastalığın seyrini takip etmek önemlidir. Bu çalışmada amacımız, prematüre bebeklerin retina görüntüleri üzerine görüntü işleme yöntemleri uygulayarak ROP görüntülerindeki damar yollarının tespiti ve segmentasyonu için yöntemler geliştirmektir. Uygulanan bu yöntemler, ROP görüntülerine uygulanarak sonuçlar sayısal olarak karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, en uygun görüntü işleme yönteminin, Tepe sinyalinin gürültüye oranı (PSNR) değerlerine göre; eşikleme yönteminde OTSU, filtreleme algoritmasında ise Gaussian filtresinin olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Prematüre retinopatisi, Retina görüntüleri, Görüntü işleme.

Comparison of Performances of Different Image Processing Methods in Detection of Prematurity Retinal Blood Vessels

Abstract: The properties of the blood vessels in the retina are very important in the diagnosis of retinopathy of prematurity (ROP). In premature infants, the blood vessels of the retina cannot complete their development. Post-natal, certain triggering circumstances cause the creation of regular veins to cease and abnormal blood vessels begin to enlarge forming abnormal tissue. With the increase in the degree of this condition, retinal damage may occur. It is crucial to follow the progress of the disease by following the developments in the vascular networks, especially since babies born prematurely are at greater risk for ROP. The purpose of this study is to develop methods for the detection and segmentation of vascular pathways in ROP images by applying image processing methods to retinal images of preterm neonatal. These methods have been applied to ROP images and the results have been compared numerically. As a result, according to the Peak Signal to Noise Ratio (PSNR) values of the most appropriate image processing method; It has been determined that there is an OTSU filter as the thresholding method and a Gaussian filter as the filtering algorithm.

Key words: Retinopathy of prematurity, Retina images, Image processing.

1. Giriş

Retina bölgesi, görme olayını sağlayan sinir liflerini içeren gözdeki bir kısımdır. Retina ağ tabakası olarak göz küresinin arka duvarındadır. Retina bölgesinde milyonlarca görme hücresine sahiptir ve görme bilgisinin işlendiği yerdir. Retinayı oluşturan bu görme hücreleri optik sinir lifleriyle bilgileri görme sinirlerine ulaştırırlar. Görme sinirleri görüntü bilgisini beyne bir kanal vasıtasıyla iletirler. Retinadaki olası düzensizlikler ve/veya bozukluklarda, görüntünün bilgisi beyne hatalı bir şekilde iletilmesine bazen de hiç iletilmemesine neden olabilir [1]. Prematüre bebekler için retinadaki optik diskin yerinin belirlenmesi, büyüklüğü, hastalığın yerleşim durumu (zon) bölgelerdeki değişim damarların kalınlığı, uzunluğu ve sıklığı bilgileri çok önemlidir. Retina tabakasında değişimler prematüre bebeklerde çok hızlı gelişmektedir. Prematüre retinopatisi (ROP) hastalığının teşhisi düzenli kontrole bağlıdır. Son yıllarda prematüre bebek sayısının artması da doktorların iş yükünü arttırmaktadır. Ayrıca, hastalık çok hızlı geliştiğinden dolayı, teşhis ve tedavi arasında geçen süre çok önemlidir [1]. Zamanı hızlı kullanmak ve iş yükünü hafifletmek için otomatik tanımlama sistemlerinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Retinadaki kan damarlarının segmentasyonunda; damarların uzunluğu, kalınlığı, dallanma noktalarının ve açılarının tespit edilmesi önemlidir. Bu özellikler diyabet, hipertansiyon ve çeşitli göz hastalıklarının tespit edilmesi için kullanılmaktadır. Retina ile yapılan çalışmalar da genel olarak dört filtreleme yöntemi kullanılmaktadır [2]. Eşikleme temelli çalışmalar, Morfolojik Operatörlerin kullanıldığı çalışmalar, Makine öğrenmesi temelli çalışmalar ve Hibrit çalışmalar en çok kullanılan yöntemlerdir. Morfolojik görüntü işleme yöntemi, şekillerin biçimsel yapılarına bakarak nesnelere ayırt etmemize ve gruplayabilmemize olanak sağlar. Zana ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, matematiksel morfoloji yöntemleri kullanarak damar segmentasyonu ve mikro anevrizma tespiti yapmışlardır. Özel bölgelerin tespitinde oldukça hızlı sonuç veren ve görüntüyü absorbe eden bir yöntem olarak literatürde oldukça sık kullanılmaktadır [3].

Toptaş ve arkadaşları, eşikleme temelli morfolojik yöntem kullanarak DRIVE veritabanı üzerinde %95 oranında damarların doğruluk tespitini yapmışlardır. Eşikleme işlemi, gri ölçekli bir görüntünün yoğunluk seviyesine göre sınıflara ayrıldığı bir işlemdir [4]. Bu sınıflandırma işlemi için değişik yöntemler kullanılarak uygun bir eşik değeri seçmek gerekir. Bu çalışmada eşik değerinin belirlenmesi bulanık mantık çıkarımları ile yapılmıştır. Makine öğrenmesinin birçok yöntemi olmakla beraber Niemeijer ve arkadaşları, k-En Yakın Komşu sınıflandırıcısı kullanarak retina damarlarını sınıflandırma ile çalışmışlardır. Damarları arka görüntüden ayırmada en çok kullanılan yeşil kanal üzerinde yapılan çalışmada, komşu piksellerin özelliğinden yararlanılarak ortaya çıkan değerleri öznitelik olarak kullanmışlardır [5].

GeethaRamani ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada kan damarlarını segmente etmek için öncelikle görüntülere morfolojik işleme tabi tutmuşlar, temel bileşen analizi ile özniteliklerini çıkartıp, K-means algoritması ile pikselleri gruplandırıp damarları segmente etmişlerdir. Sonuç olarak %95,3 lük bir başarı oranı tespit etmişlerdir [6]. Foos 'un yapmış olduğu araştırmada; retinanın yapısal bozukluğu sonucunda prematüre bebeklerde körlükle sonuçlanabilen bu hastalığın görülme sıklığında özellikle son yıllarda artış olduğu tespit edilmektedir [7]. Hastalığa neden olan birçok nedeni tespit etmişler; fakat asıl nedenin hızlı bir şekilde ilerleyen bölgesel retina iskemisi ve bunun sonucu oluşan neovaskülarizasyon iken; kronik fazda ise membran oluşumu gerçekleşerek, retina dekolmanına sebep olur. Akut fazdaki hastalığın %90'ı ani ve beklenmedik bir şekilde gerileyerek fazla bir görme kaybına yol açmazken, %10 kadarı

ise ilerleyerek retina dekolmanı ve sonuçta körlüğe kadar gidebilecek kusurlara yol açabilir [7].

Kylstra ve arkadaşları, yaptıkları araştırmada, retina damarlarındaki eğrilik, damarların çapı ve değişen basınç arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bunun için 10 farklı lateks tüp kullanıp farklı basınç kuvvet ile içlerine su pompalamışlardır. Yapılan testlerde; basınç arttıkça belirli bir seviyeden sonra önce tüpleri genişlediğini, daha sonra da tüplerde kıvrımların oluştuğunu tespit etmişlerdir. Tüpün başlangıç ve bitiş noktası arasına bir çizgi çekerek oluşan kıvrımların tepe noktalarının yüksekliğini ölçerek basıncı tahmin etmeye çalışmışlardır. Böylece basınç ve kan damarları arasındaki bağlantıyı bilimsel olarak açıklamışlardır [8].

ROP hastalığı 1984 yılında kabul edilen ve 1987 yılında geliştirilen ICROP (International Classification of Retinopathy of Prematurity) komisyonunun aldığı kararlara göre sınıflandırma yapılmaya başlanmıştır. Son olarak da 2005 yılı temmuz ayında uluslararası sınıflandırmanın düzeltilmiş hali yayınlanmıştır. Altı ülkeden 15 oftalmolog tarafından oluşturulan değişiklikler neticesinde ICROP sınıflandırması tekrar değişmiştir. Uluslararası sınıflandırma sistemi; göz çukuruca göre belirlenen zon bölgeleri, hastalığın vasküler proliferasyon derecesi, hastalığın gelişim olarak üç klinik özniteliği temel almaktadır. Ayrıca sınıflandırma sisteminde dilatasyonu ve çarpışıklıkartmış damarların varlığı veya yokluğu da dikkate alınmış ve bu durum plus hastalığı adıyla belirtilmiştir [9].

Sayısal görüntülerde; gürültüleri yok etme, görüntünün netleştirilmesi sağlama, görüntüyü bölümlere ayırma ve istenilen bölgelerdeki ayrıntıları ortaya çıkarma işlemlerine görüntü işleme yöntemleri denilmektedir [10-11]. Bu çalışma kapsamında, ROP görüntülerine farklı görüntü işleme yöntemleri uygulayarak, hangi yöntemin retina damar yapılarını daha iyi ortaya çıkardığı tespit edilmiştir. Ayrıca görüntü işleme yöntemlerini sayısal olarak değerlendirmek için Tepe sinyalinin gürültüye oranı (Peak Signal-to-noise ratio, PSNR), Ortalama hata karesi (Mean square error, MSE) ve Yapısal benzerlik oranı (Structural similarity index, SSIM) yöntemleri kullanılmıştır.

2. Materyal ve Metot

Akdeniz Üniversitesi Göz Anabilim Dalında tedavi gören prematüre bebeklerin retina görüntüleri Retcam 3 cihazı ile alınmıştır. Görüntüler MATLAB 2021b programı kullanılarak analiz edilmiş ve istatistiksel değerlerin sonuçları çıkarılmıştır.

2.1. Filtreleme algoritmaları

Filtreler genelde matrislerden oluşan yapılardır. Filtreleme işlemi ise kısaca bu matrislerin (3 x 3, 9 x 9 vb.) görüntü üzerinde taraması yapılarak, üst üste gelen değerlerin çarpımlarının sonuçlarının toplanması ve sonucun filtre elemanlarının toplamına bölünmesi ile gerçekleştirilmiş olur. Gri tonlamalı bir görüntünün yoğunluk bilgisi oldukça önemlidir. Belirli bir piksel ne kadar parlak ise yoğunluk değeri de o kadar yüksektir. Gri tonlamalı bir görüntü de her piksel 1 byte yer kapladığı için işlem yapmak daha hızlı ve kolay bir şekilde gerçekleşir. Ayrıca gri görüntülerin renk verilerini kaybetmemesinden dolayı, görüntü işleme aşamasında uygulanan filtrelerde doğru sonuçlar elde edilebilmektedir.

2.1.1. Laplace filtre

Girdi görüntüsü bir dizi ayrık piksel olarak temsil edildiğinden, Laplacian tanımındaki ikinci türevlere yaklaşabilen ayrık bir evrişim filtresi bulunur. Yaygın olarak kullanılan iki filtre aşağıda gösterilmiştir [12].

$$\frac{\sigma^2 f}{\sigma x^2} = f(x+1)f(x-1) - 2f(x) \rightarrow [1 \quad -2 \quad 1] \quad (1)$$

$$\frac{\sigma^2 f}{y} = f(y+1)f(y-1) - 2f(y) \rightarrow \begin{bmatrix} 1 \\ -2 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (2)$$

2.1.2. Median filtre

Medyan filtresi, ortalama(mean) filtresi gibi bir görüntüdeki gürültüyü azaltmak için kullanılır. Ortalama filtresinden en büyük farkı, işlem yaparken detayları daha çok korur. Medyan filtresi de diğer filtreler gibi her pikselin değerini belirlemek için etrafındaki komşu piksellere bakar. Medyan filtresinde piksel değeri, komşu pikselleri sıralayıp sıranın ortasındaki değeri alır [13].

$$I'(u, v) \leftarrow \text{median}\{I(u+i, v+j) | (i, j) \in R\} \quad (3)$$

2.1.3. CLAHE filtre

Kontrast sınırlı uyarlamalı histogram eşitleme (Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization - CLAHE) yöntemi görüntülerdeki parlaklık değerlerini eşitleyerek, görüntülerin aydınlatma koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösteren kontrast düzeylerini düzeltir. Bu yöntemde her görüntü ayrı ayrı parçalara ayrılır. Ayrılan parçaların her birinin histogramı bulunur. Histogram, kırpma eşiği kullanılarak kırpılır, kırılan bölüm eşit olarak histograma dağıtılır. Bu şekilde her bir parçanın kontrastı geliştirilir. Bu durum için histogram eşitleme yöntemi kullanılır. Sonra bu parçalar birleştirilerek kontrastı iyileştirilmiş görüntüler elde edilmektedir. Komşu parçalar arasında oluşabilecek yapay sınırların yok edilmesi için çift doğrusal ara değerlendirme yöntemi kullanılmaktadır. Görüntüdeki homojen alanlarda kontrast, görüntüde mevcut olabilecek gürültünün etkisinin azaltmak için sınırlandırılabilir. Bu yöntem ile görüntülerdeki gürültünün etkisini bastırarak görüntüyü daha net ve anlaşılır hale getirir[14].

2.1.4. Gaussian filtre

Gaussian filtreleme yöntemi; görüntü düzgünleştirme etkisi, görüntülerdeki gürültü ve diğer kirlilikleri azaltmak için kullanılır. Bu yöntemde, görüntünün merkez piksel değerine doğru yaklaştıkça ağırlıklandırma artar. Böylece daha ince bir düzeltme sağlanarak görüntü kenarlarını benzer büyüklükteki bir ortalama filtreden daha iyi korumaktadır. Gaussian yumuşatma filtresinin kullanmanın gerekçelerinden biri de, görüntü üzerindeki frekans bileşenlerinin korunmasıdır. Böylece çok sık aralıkla görüntü üzerindeki değişimleri koruyarak alçak geçiren filtre özelliği gösterir. Her iki filtrede yüksek frekansları zayıflatarak, yumuşatır. Gauss filtresi frekans tepkimesi salınım göstermezken, ortalama filtresi olarak salınım gösterir [15].

$$g(x, y) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-(x^2+y^2)/2\sigma^2} \quad (4)$$

2.2. Eşikleme Algoritmaları

2.2.1. OTSU eşikleme

OTSU algoritma, kümeleme tabanlı eşikleme yöntemlerinden en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntem kullanılırken görüntünün histogramı üzerinde optimum eşik değerini tespit ederek görüntüyü ön plan ve arka plan olmak üzere iki sınıfa ayırır. Optimum eşik değerini (T) tespit etmek için sınıf içi varyans değeri minimum olacak şekilde hesaplanır. Burada p_f ve p_b , T eşik değeri ile ayrılan iki sınıfın kütle olasılıklarını temsil etmektedir. $\sigma_w^2(T)$ ise bu iki sınıfın varyansıdır. OTSU algoritma, sınıflar arası varyansı maksimuma çıkarmakla, sınıf içi varyansı en aza indirmenin aynı olduğunu göstermektedir [16].

$$\sigma_w^2(T) = p_f(T)\sigma_f^2(T) + p_b(T)\sigma_b^2(T) \quad (5)$$

$$\sigma_B^2(T) = \sigma^2 - \sigma_w^2(T) \quad (6)$$

2.2.2. Niblack eşikleme

Arka planın tek tip olmadığı görüntüler için yararlı olan yerel eşikleme tekniğidir [17]. Tüm görüntü için tek bir global eşik hesaplamak yerine, yerel komşuluğun ortalamasını ve standart sapmasını (piksel etrafında ortalanmış bir pencere ile tanımlayarak) hesaba katar. Her pikseldeki eşik değeri, pikseli çevreleyen komşuluğun ortalama ve standart sapmasının toplamı olarak hesaplanır. $n \times n$ Yerel bir eşik elde etmek için pikseli çevreleyen bir komşulukta ortalanmış her piksele aşağıdaki formülün uygulanmasına dayanır Aşağıdaki denklemde, mN komşu piksellerin ortalaması $stdN$, komşu piksellerin standart sapması, k (varsayılan = -0.2) ise sabit değerdir [18].

$$t = mN + (k \times stdN) \quad (7)$$

2.2.3. Kittler eşikleme

Nesne ve arka plan görüntünün Gaussian dağılımı yapıldığı varsayılarak hesaplama yapılır. Nesnelerin farklı olduğu varsayımından hareketle, arka plan ile nesnelere arasındaki değişiminin minimum olduğu değer T eşik değeri olarak kabul edilir [19].

$$T_{opt} = \arg_T \min [P(T) \log \sigma_0(T) + (1 - P(T)) \log \sigma_1(T) - P(T) \log P(T) - (1 - P(T)) \log (1 - P(T))] \quad (8)$$

2.2.4. Kapur eşikleme

Kapur tekniğinde, ön plan ve arka plan iki farklı bilgi kaynağı olarak sınıflandırılıp, her bir sınıfa ait bölgesel entropilerin toplamını en yüksek yapan değer, t eşik olarak atanmaktadır.

$$H_0 = - \sum_{i=0}^{t-1} \frac{p_i}{w_0} \ln \frac{p_i}{w_0}, \quad w_0 = \sum_{i=0}^{t-1} p_i \quad (9)$$

$$H_1 = - \sum_{i=1}^{L-1} \frac{p_i}{w_1} \ln \frac{p_i}{w_1}, \quad w_1 = \sum_{i=t}^{t-1} p_i \quad (10)$$

$$p_i = \frac{n_i}{M \times N} \quad (11)$$

Burada n_i , i . seviyedeki piksel sayısını ve $M \times N$ ise görüntüyü oluşturan toplam piksel sayısını göstermektedir. p_i ise herhangi bir pikselin i . seviyede bulunma olasılığıdır. L ise gri seviyede maksimum değer olan 255 i göstermektedir [20].

2.2.5. Bulanık tabanlı eşikleme

Bulanık entropi-tabanlı (fuzzy entropy based) eşikleme, görüntülerin histogram bilgilerini kullanarak, pikselleri bir bulanık küme üzerinde inceler ve bu değerlerin bulanık küme fonksiyonlarını çıkartır. Bu fonksiyon sonucu oluşan değerlerdeki mesafeyi ölçüp bir bulanıklık dizisi oluşturulur. Görüntü $m_f(I)$ dizisi olarak temsil edilmektedir. ve burada $0 \leq m_f(I) \leq 1$ olarak, ön plana ait olan bulanık ölçüyü temsil eder. Her pikselin üyelik değerini hesaplamak için aşağıdaki formül kullanılır. Görüntünün her bir pikseli için bulanık üyelik değeri göz önüne alındığında, entropi fonksiyonuyla görüntünün tamamı için bir bulanıklık dizisi elde edilebilir. Sınıfları birbirinden ayıracak optimal eşik belirlenmesi, üyelik fonksiyonları açısından tanımlanan bulanıklık dizisinin minimize edilmesi ile hesaplanır [21].

$$u_{i,j} = \frac{1}{\sum_{k=1}^c \left[\frac{\|x_i - c_j\|}{\|x_i - c_k\|} \right]^{\frac{2}{m-1}}} \quad (12)$$

Bu modelde, $u_{i,j}$ parametresi üyelik fonksiyonunu, x_i parametresi hesaplanan piksel değerini, c_j ve c_k parametreleri grup merkezini temsil etmektedir. m parametresi 1'den fazla gerçek değeri göstermektedir.

2.2.6. Çapraz entropi tabanlı eşikleme

Bu yöntem, görüntüdeki piksellerin değerleri hakkında daha fazla bilgiye sahip olunmadığı durumlarda kullanılabilir. Olasılık dağılımı (L) genişletildiğinde, entropiyi sınırlandırmak için yukarıdaki formül uygulanabilmektedir. Genellikle doğru olasılık dağılımı L bilinmemektedir. Ancak, $H(L)$ üst sınırı L 'ye bir yaklaşım olarak bir M modeli kullanılarak elde edilebilmektedir.

$$H(L) = \lim_{m \rightarrow \infty} - \frac{1}{m} \sum (p(x_1, x_2, \dots, x_m) \log p(x_1, x_2, \dots, x_m)) \quad (13)$$

Burada, doğru model $p(x_1, x_2, x_3, \dots, x_m)$ ve olasılıklar $p_m(x_1, x_2, x_3, \dots, x_m)$ modeli tarafından hesaplanmaktadır. Bu teori $H(L, M)$ çapraz entropisi olarak adlandırılmaktadır ve $H(L)$ entropisine eşit veya daha büyüktür [22].

$$H(L) = - \sum (p_M(x_1, x_2, \dots, x_m) \log p_M(x_1, x_2, \dots, x_m)) \quad (14)$$

2.2.7. Triangle eşikleme

Görüntü histogramı üzerinde geometrik şekil benzerliği, eğrilerin sağa ya da sola eğim analizi, üst noktaları, kanalların alt noktaları vb. biçimde şekil özelliklerine göre eşik değeri seçilir [23]. Bu yöntemde, görüntü histogramında minimum tepe değeri ve maksimum tepe değeri tespit edilir. Bu tepe değerlerine karşılık gelen en düşük ve en yüksek gri seviye değerleri belirlenir. Elde edilen gri değerlerin histogramının iki modlu bir dağılımı olduğunu varsayarak, iki yerel maksimumu lokalize etmeye çalışılır. Optimum eşik, histogramdaki en geniş açıklığı sağlayan değerdir. Yerel maksimum bulunduğu anda, optimum eşik değeri olarak belirlenir [24].

2.3. Performans Kriterleri

Retina kan damarlarının segmentasyonu, yapıldıktan sonra kullanılan görüntü işleme yöntemleri görsel olarak değerlendirilebilir. Ancak görsel karşılaştırmalar subjektif olduğu için kişiye göre değişim gösterebilmektedir. Objektif değerlendirme durumunda çeşitli matematiksel modellere dayanan görüntü ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en sık kullanılanları; MSE, PSNR, SSIM'dir. MSE, gerçek görüntü ile filtrelenen görüntünün arasında tüm piksel değerlerinin farklarının karelerinin toplamının ortalamasını hesaplar [25]. MSE, görüntünün işlendikten sonra kaybolan kalitesini ölçmek için kullanılır. PSNR, bir sinyalin maksimum gücü ile sinyalin gürültüsünün gücü arasındaki orandır. Her görüntü elemanı (piksel), bir görüntü sıkıştırıldığında ve daha sonra sıkıştırılmamışken değişebilen bir renk değerine sahiptir. Sinyaller geniş bir dinamik aralığa sahip olabilir, bu yüzden PSNR genellikle logaritmik bir ölçek olan desibel cinsinden ifade edilir.

$$MSE = \frac{1}{MN} \sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} \|g(x, y) - h(x, y)\|^2 \quad (15)$$

$$PSNR = 20 \log_{10} \left(\frac{Max_f}{\sqrt{MSE}} \right) \quad (16)$$

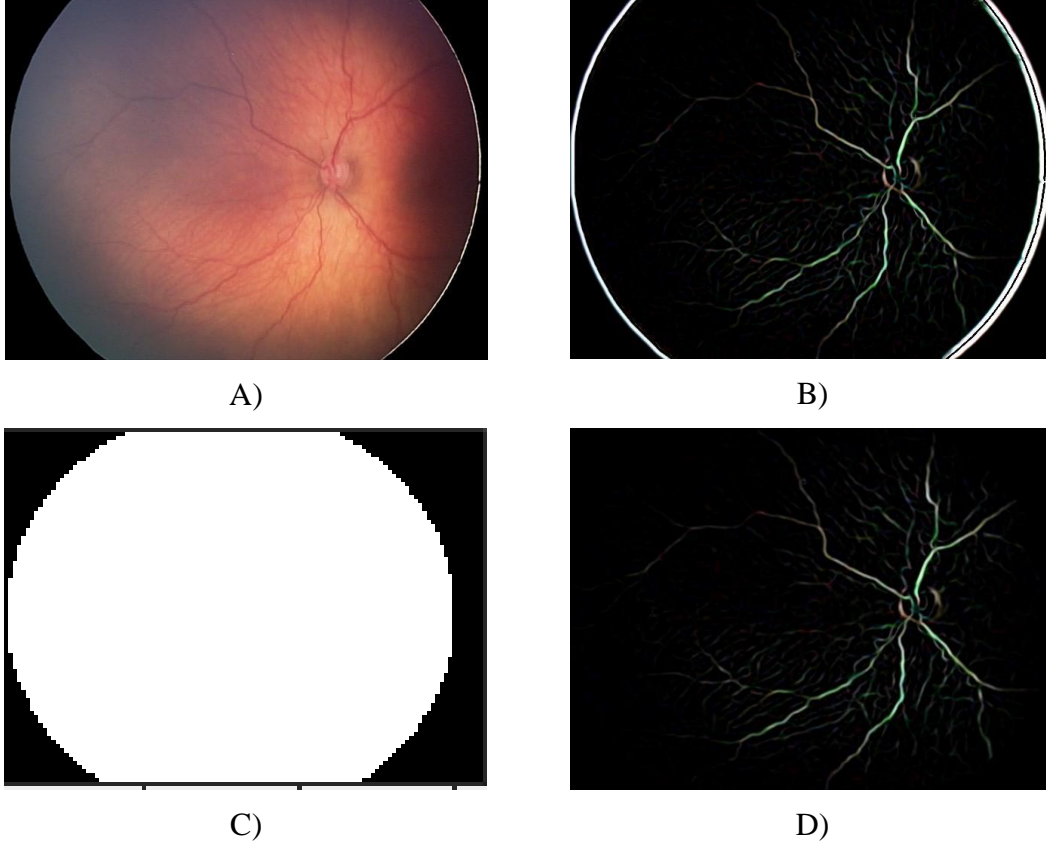
SSIM, görüntü bozulmasını yapısal bilgide algılanan değişiklik olarak ele alırken aynı zamanda hem parlaklık maskeleme hem de kontrast maskeleme terimleri dahil olmak üzere önemli algısal olguları birleştiren algı tabanlı bir modeldir

$$SSIM(g, r) = \frac{(2\mu_g\mu_r + c_x)(2\sigma_{gr} + c_y)}{(\mu_g^2 + \mu_r^2 + c_x)(\sigma_g^2 + \sigma_r^2 + c_y)} \quad (17)$$

μ_g ve μ_r görüntülerin ortalama değerleri, σ_g^2 ve σ_r^2 görüntülerin varyansları, σ_{gr} görüntüler arasındaki kovaryansı hesaplar. c_x , c_y ise paydaların 0'a yaklaştıkça ise formülün hatalı çıkmaması için kullanılan sabitlerdir. Bu denklemdeki, $c_x=(k_xL)^2$, $c_y=(k_yL)^2$ ifade edilirken, L değeri ise görüntüdeki piksellerin alacağı en fazla alacağı değeri belirtir. k_x ve k_y sabitleri sırasıyla değerler (0.01,0.03) alırlar [26].

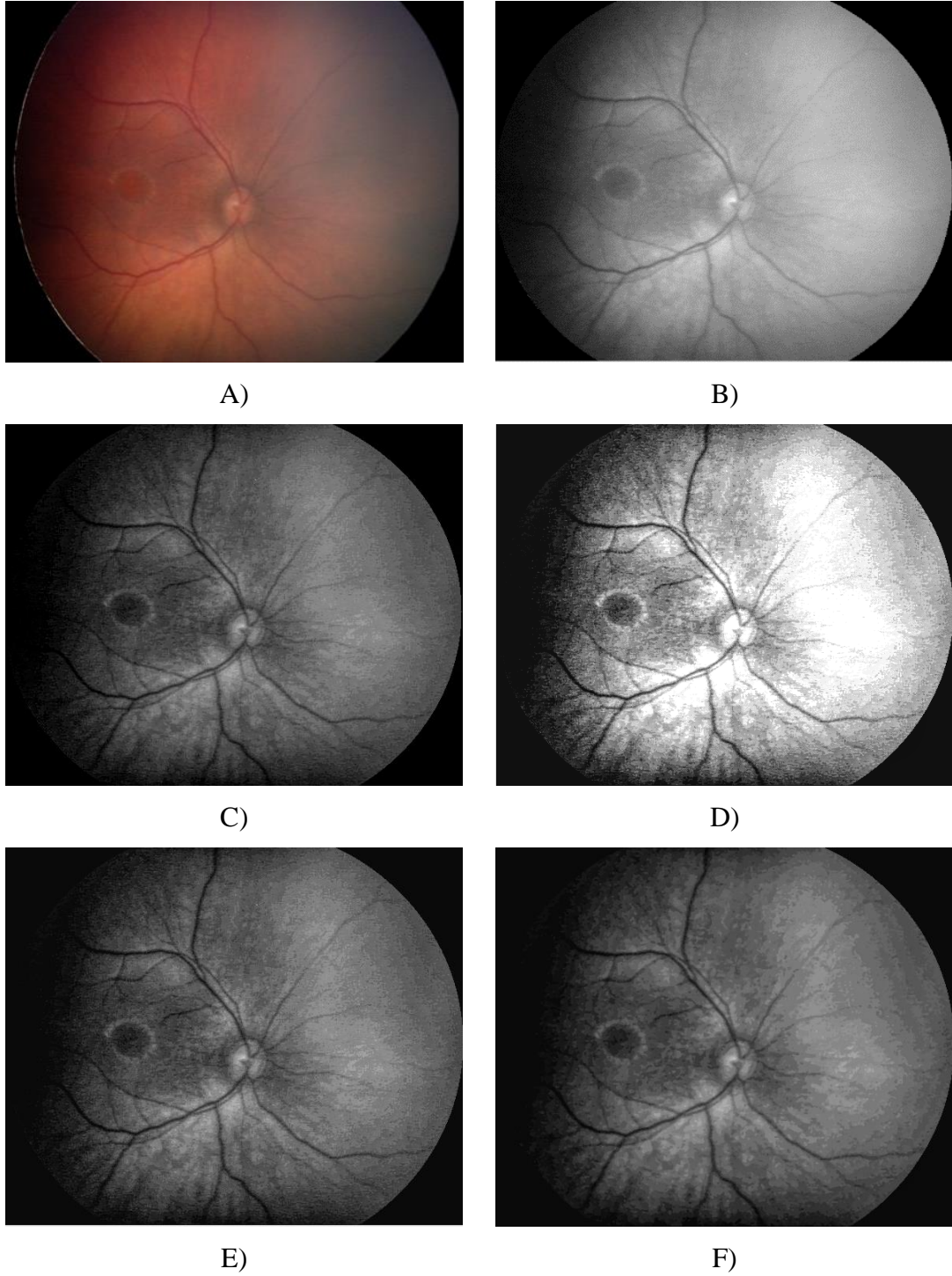
3. Bulgular

Retinadaki kan damarlarının tespiti, retina görüntülerinin gri seviyeye çevrilmesiyle başlar. Gri seviyede, retina görüntülerin kan damarlarını arka plandan ayırt edebilmek için görüntüye bazı adımlar uygulanmalıdır. İlk adım olarak, Akdeniz Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan alınan ROP görüntüsünün kenarlarını ayırtırmak için bir maskeleme yapılmıştır. Şekil 1'de örnek maskeleme aşamaları gösterilmiştir.



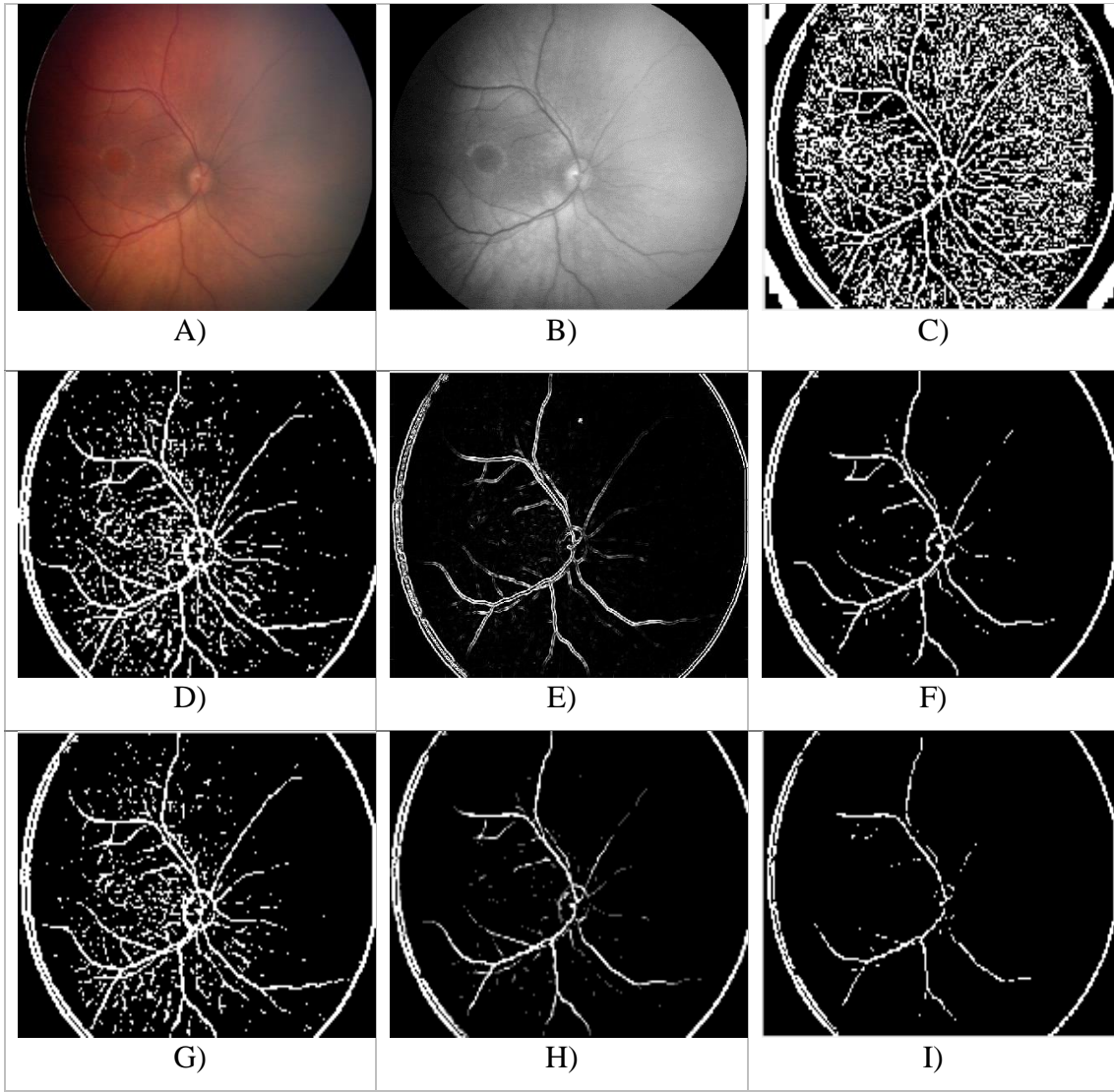
Şekil 1. Görüntülerinin maskeleme aşamaları A) Orijinal görüntü, B) Siyah-Beyaz görüntü, C) Kullanılan Maske, D) Maske kullanımı sonucu elde edilen görüntü

ROP görüntüsüne farklı filtreleme algoritmaları uygulandığında oluşan yeni görüntüler Şekil 2'de gösterilmiştir. Şekil 2'de retinanın orijinal görüntüsü, gri tona çevrilmiş görüntüsü ve Laplace, Gaussian, CLAHE, Median filtreleri uygulandığında oluşan görüntüler gösterilmiştir.



Şekil 2. ROP görüntüsüne farklı filtreleme yapıldıktan sonraki görüntüleri A) Orijinal Görüntü, B) Gri tonlamalı görüntü, C) Laplace filtre, D) Gaussian filtre, E) CLAHE filtre, F) Median filtre

ROP görüntüsüne farklı eşikleme yöntemleri uygulandıktan görüntüleri gösterimi Şekil 3'te gösterilmiştir. Bu görüntüler; orijinal görüntü, gri tonlamalı görüntü, Niblack, Kittler, Bulanık çıkarım tabanlı, Kapur, Triangle, Çapraz entropi tabanlı, OTSU eşikleme sonucu oluşan retina görüntüleridir.



Şekil 3. ROP görüntüsünde farklı eşikleme yöntemleri sonrası oluşan görüntü örnekleri. A) Orijinal görüntü, B) Gri tonlamalı görüntü, C) Niblack eşikleme, D) Kittler eşikleme, E) Bulanık çıkarım tabanlı eşikleme, F) Kapur eşikleme, G) Triangle eşikleme, H) Çapraz entropi tabanlı eşikleme, I) OTSU eşikleme

Çalışma kapsamında retina görüntüleri eşikleme ve filtreleme yöntemleri uygulandıktan sonra görüntü işleme yöntemlerinin performans kriterleri hesaplanmıştır. PSNR, MSE ve SSIM sonuçları sayısal olarak karşılaştırılarak Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışma kapsamında kullanılan tüm yöntemlerin sayısal karşılaştırılması

EŞİKLEME YÖNTEMİ	FİLTRELEME YÖNTEMİ	PSNR	MSE	SSIM
OTSU	Laplace	21.2545	0.0075	0.3895
	CLAHE	21.6047	0.0069	0.4762
	Gaussian	23.2699	0.0047	0.3923
	Median	21.2584	0.0075	0.3798
NiBlack	Laplace	5.4025	0.2882	0.1547

	CLAHE	5.3879	0.2892	0.0990
	Gaussian	8.0272	0.1575	0.1799
	Median	5.6172	0.2743	0.1690
	Laplace	10.6400	0.0863	0.3306
Kittler	CLAHE	10.5963	0.0872	0.2545
	Gaussian	14.3288	0.0369	0.4259
	Median	11.0933	0.0777	0.3459
	Laplace	17.6288	0.0173	0.3892
Kapur	CLAHE	17.6595	0.0171	0.4634
	Gaussian	21.0955	0.0078	0.4098
	Median	17.7978	0.0166	0.3859
	Laplace	12.0226	0.0628	0.3580
Triangle	CLAHE	11.9812	0.0634	0.3236
	Gaussian	15.8193	0.4384	0.0262
	Median	12.4269	0.0572	0.3624
	Laplace	21.0236	0.0079	0.4300
Çapraz Entropi	CLAHE	16.6761	0.0215	0.4534
	Gaussian	22.7010	0.0054	0.4305
	Median	21.1946	0.0076	0.4191
	Laplace	14.0310	0.0395	0.3133
Bulanık Çıkarım	CLAHE	14.2041	0.0380	0.3881
	Gaussian	18.9467	0.0127	0.3465
	Median	14.2417	0.0377	0.3137

4. Sonuç ve Yorum

PSNR, görüntüye hiçbir işlem yapmadan ve görüntü filtrelemeleri yapıldıktan sonra iki farklı görüntünün benzerlik kalitesini hesaplar. Bu işlem sonucunda, PSNR tek bir değer üretir. Bu değer yüksek olması kalitenin de yüksek olduğu anlamına gelir. İki görüntü arasındaki PSNR değerini hesaplamak için öncelikle MSE değeri hesaplanmalıdır. MSE veya PSNR gibi teknikler, diğer tekniklere göre mutlak hataları tahmin etmesinden dolayı çok kullanılırlar [18]. Görüntülerdeki yapısal bilgi, piksellerin özellikle uzamsal olarak yakın olduklarında güçlü karşılıklı bağımlılıklara sahip olduğu fikridir. Bu bağımlılıklar, görsel sahnedeki nesnelerin yapısı hakkında önemli bilgiler taşır. Parlaklık maskeleye, görüntü bozulmalarının parlak bölgelerde daha az görünür olma eğiliminde olduğu bir olgudur. Kontrast maskeleye ise görüntüde önemli aktivite veya doku bulunan yerlerde bozulmaların daha az görünür hale geldiği bir olgudur [27]. SSIM değerleri ise, -1 ile 1 arasında değerler almaktadır. Örnek verilecek olursa, iki görüntü arasında benzerlik oranının yüksek olması sonucun 1 değerine yaklaştığını ifade eder. İki görüntü

aynı ise SSIM değeri 1 değerini alır. SSIM değeri 1' e ne kadar yakın ise görüntü kalitesinin o kadar iyi olduğu anlamına gelmektedir [26].

ROP görüntülerine uygulanan görüntü işleme yöntemlerinin sonuçlarını sayısal olarak değerlendirmesinde ilk olarak PSNR değeri kullanılmıştır. PSNR değerlerine göre en iyi yöntemin Eşikleme yönteminde OTSU, filtreleme algoritmasında ise Gaussian yönteminin (PSNR = 23.2699) olduğu görülmektedir. Daha sonra uygulanan Çapraz Entropi yöntemi ve Gaussian yöntemlerinin ise (PSNR = 22.7010) en iyi sonucu verdiği sonucu ortaya çıkmıştır. Arka planın tek tip olması nedeniyle de Niblack eşikleme yöntemi ve Clahe filtresi (PSNR = 5.3879) en kötü sonucu vermiştir. Sayısal değerlendirmede ikinci olarak MSE değerlerini incelediğimiz de en küçük hatanın (MSE = 0.0047) ile yine OTSU ve Gaussian filtrelerinden geçirilen yöntem sonucu ortaya çıktığı gözlemlenmektedir. Görüntüde bulunması gereken damarları bulmada en yüksek hata payının Niblack algoritmasındaki hata payları olduğu görülmektedir. İki yöntemde de aynı algoritmaların başarılı çıkması göz retinası ile ilgili yapılan araştırmalarda bu yöntemlerin daha sık kullanılma nedenini göstermektedir. Son olarakta SSIM değerleri hesaplanmıştır. SSIM değerlerinden en yüksek değeri ise (SSIM = 0.4762) OTSU eşikleme yöntemi ile kullanılan CLAHE fitresinin yer aldığı gözlemlenmektedir (Tablo 1).

Li ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada eşik belirleme ile yaptıkları çalışmada, OTSU yönteminin diğer yöntemlere göre yanlış negatif ve yanlış pozitif oranlarında düşük değerler saptamışlardır. Ancak bu yöntemin nesne ve arka plan sınıflarının ayrılmasında, varyans tutarsızlığını ihmal ettiği için farklı yöntemler geliştirilebileceğini ifade etmişlerdir [28]. Jeong ve arkadaşlarının Meme kanser hücrelerini tespitinde ön işleme de eşik belirlemek için yapmış oldukları çalışmada OTSU Algoritmanın %74 doğruluk oranı ile Kapur, Pun ve yinelemeli eşik belirleme yöntemlerine göre çok daha iyi sonuç verdiğini saptamışlardır [29].

Anita ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, renkli görüntülerde optimum segmentasyonu belirlemek için, Balina optimizasyon algoritmasını (Whale Optimization Algorithm) kullanmışlardır. OTSU ve Kapur 'un eşikleme yöntemlerini ise algoritmayı maksimize edilebilecek bir uygunluk fonksiyonu olarak hesaplamışlardır. Deney sonucunda 5 eşik düzeyine sahip 30 bağımsız örnek için uygunluk fonksiyon sonuçlarının OTSU eşikleme de daha iyi sonuçlar verdiği sonucuna varmışlardır. Ayrıca iki eşikleme yöntemi arasında Wilcoxon yöntemi ile anlamlı bir fark olduğunu, OTSU'nun ortalama PSNR değerlerinin, Kapur'un ortalama PSNR değerlerinden istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar verdiğini saptamışlardır [30].

Nimbarte ve arkadaşı renkli görüntülerde en iyi bölütleme yönteminin tespiti için Just Noticeable Difference birleştirme özelliğini kullanmıştır. Çalışmada, bölgeler arası minimum değişiklik miktarının hesaplanması için Minimum Sınıf Varyans Eşiği ile OTSU Yöntemini karşılaştırmışlardır. İnsanın görsel algılamasında, OTSU yöntemin daha fazla bölge oluşturması nedeniyle Minimum Sınıf Varyansından daha fazla bilgi verdiğini sonucuna ulaşmışlardır [31].

Bu çalışmada ROP görüntüleri ve genel olarak retina görüntülerinde damar yapının çıkarılması çalışmaların yapılabilmesi için yeni filtreleme yöntemleri ile ilgili araştırmalar yapılmalıdır. Özellikle görüntü işlenecek görüntünün kalitesinin belirli bir düzeyin üzerinde olması, (netliğin artırılması, ışık yoğunluğunun eşit olması, piksel sayısının artması vb.) görüntü işleme sonuçlarının daha iyi elde edilmesini sağlayacaktır. ROP görüntülerinde damarların ortaya çıkarılması hastalığın teşhisinde ve derecelendirilmesinde oldukça önemlidir. Gelecekte ROP görüntülerinden veri tabanı oluşturularak, uzman desteği ile hastalığın teşhisi için derin öğrenme algoritmaları çalışmaları yapılması düşünülmektedir. Görüntü işleme yöntemleri ile belirlenen damar

çapı, damar kalınlığı, eğrilik dereceleri ve retina dekolman bölgeleri tespit edilip hastalık teşhisinde uzmanlara yardımcı sistemler geliştirilebilir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Evren Sezgin: Araştırma, Metodoloji, Yazılım, Kaynak/Materyal/Malzeme Temini.

Yiğit Ali Üncü: Yazılım, Metodoloji, Veri İyileştirme.

Ahmet Yardımcı: Kavramsallaştırma, Proje Yönetimi.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu makale Evren Sezgin' in doktora tez çalışmaları sürecinde hazırlanmıştır. Akdeniz Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, Doç. Dr. Ahmet Burak Bilgin'e prematüre retina görüntüleri teminindeki desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] E. Koç, A. Baş, Ş. Özdek ve F. Ovalı. (2021) Türkiye Prematüre Retinopatisi Rehberi 2021 [Online]. Available: <https://www.todnet.org/tod-rehber/rop-tedavi-rehberi-2021.pdf>
- [2] J. J. Kanski, *Clinical Ophthalmology: A Systemic Approach*, 6th ed. London, UK: Elsevier Health Sciences, 2007, pp. 952-955.
- [3] F. Zana and J. C. Klein, "Segmentation of vessel-like patterns using mathematical morphology and curvature evaluation," *IEEE Trans. Image Process*, 10 (7), 1010-1019, 2001.
- [4] B. Toptaş ve D. Hanbay, "Retina kan damarlarını çıkarmak için eşikleme temelli morfolojik bir yöntem," *NÖHÜ Müh. Bilim. Derg.*, 11 (1), 010-016, 2022.
- [5] M. Niemeijer, J. Staal, B. Van Ginneken, M. Loog and M. D. Abramoff, "Comparative study of retinal vessel segmentation methods on a new publicly available database," *In Medical imaging 2004: image processing SPIE*, 5370, 648-656, 2004.
- [6] R. GeethaRamani, L. Balasubramanian, "Retinal blood vessel segmentation employing image processing and data mining techniques for computerized retinal image analysis," *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, 36 (1), 102-118, 2016.
- [7] R. Y. Foos, "Chronic retinopathy of prematurity," *Ophthalmology*, 92 (4), 563-74, 1985.
- [8] J. A. Kylstra and T. Wierzbicki, M. L. Wolbarsht, "The relationship between retinal vessel tortuosity, diameter, and transmural pressure," *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 224, 477-480, 1986.
- [9] International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. "The International Classification of Retinopathy of Prematurity revisited," *Arch. Ophthalmol.*, 123 (7), 991-999, 2005.
- [10] X. H. Zhang, R. L. Ning and D. Yang, "Cone beam breast CT noise reduction using 3D adaptive Gaussian filtering," *J. X-Ray Sci. Technol.*, 17 (4), 319-333, 2009.
- [11] R. Roy, M. Pal and T. Gulati, "Zooming digital images using interpolation techniques," *Int. J. Innov. Technol. Manag.*, 2 (4), 34-45, 2013.
- [12] A. K. Singh, P. Kang. (2022, Nov 27). Log Transformation. [Online] Available: <https://theailearner.com/2019/05/25/laplacian-of-gaussian-log/>
- [13] G. T. Reid, "Automatic fringe pattern analysis: A review," *Opt Lasers Eng*, 7 (1), 37-68, 1986.
- [14] R. Ritika and S. Kaur, "Contrast enhancement techniques for images—a visual analysis," *Int. J. Comput. App.*, 64 (17), 20-25 2013.
- [15] C. R. Dyer, *Multiscale Image Understanding*. New York: Academic Press, 1987, pp. 171-213.
- [16] N. Otsu, "A threshold selection method from gray-level histograms," *in IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9 (1), 62-66, 1979.
- [17] M. Sezgin, "İmge eşikleme yöntemlerinin başarımlarını değerlendirme ve tahribatsız muayenede kullanımı," Doktora Tezi, Uçak Mühendisliği, İTÜ, İstanbul, Türkiye, 2002.
- [18] W. Niblack, *An introduction to digital image processing*. Englewood Cliffs:Prentice hall. 1986, pp. 115-116.
- [19] J. Kittler and J. Illingworth, "Minimum error thresholding," *Pattern Recognit*, 19 (1), 41-47, 1986.
- [20] J.N. Kapur, P.K. Sahoo, and A. K. C. Wong, "A new method for gray-level picture thresholding using the entropy of the histogram," *Comput. Gr. Image Process*, 29 (3), 273-285, 1985.

- [21] P. Nikhil, R. Pal and K. P. Sankar, "Entropic thresholding," *IEEE Trans. Signal Process*, 16 (2), 97-108, 1989.
- [22] C. H. Li and C. K. Lee, "Minimum cross entropy thresholding," *Pattern Recognit*, 26 (4), 617-625, 1993.
- [23] A. Elen, "Görüntü ikileştirme için global eşikleme yöntemleri üzerine bir inceleme," *Mühendislik Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi*, 2, 38-49, 2020.
- [24] G. W. Zack, W. E., Rogers and S. A. Latt, "Automatic measurement of sister chromatid exchange frequency," *J. Histochem. Cytochem*, 25(7), 741-53, 1977.
- [25] Y. Üncü, S. Gençay ve M. Canpolat, "Difüz optik tomografi sisteminde görüntü işleme uygulamalarının test edilmesi," *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 16(1), 1-16, 2021.
- [26] Z. Wang, A. C. Bovik, H. R. Şeyh and E. P. Simoncelli, "Image quality assessment: from error visibility to structural similarity," *IEEE T Image Process*, 13 (4), 600-612, 2004.
- [27] Y. Gao, A. Rehman and Z. Wang. "CW-SSIM based image classification," *In IEEE International Conference on Image Processing ICIP*, Brussels, Belgium, 2011, pp. 1249-1252.
- [28] Z. Li, C. Liu, G. Liu, Y. Cheng, X. Yang and C. Zhao, "A novel statistical image thresholding method", *AEU - International Journal of Electronics and Communications*, 64 (12), 1137-1147, 2010.
- [29] H. Jeong, T. Kim, H. Hwang, H. Choi, H. Park and H. K. Choi, "Comparison of thresholding methods for breast tumor cell segmentation," *Proceedings of 7th International Workshop on Enterprise networking and Computing in Healthcare Industry*, 2005, pp. 392-395.
- [30] J. Anitha, S. I. A. Pandian and S. A. Agnes, "An efficient multilevel color image thresholding based on modified whale optimization algorithm," *Expert Systems with Applications*, 178, 115003, 2021.
- [31] N. M. Nimbarte and M. M. Mushrif, "Multi-level thresholding algorithm for color image segmentation," *2010 Second International Conference on Computer Engineering and Applications*, Bali, Indonesia, 2010, pp. 231-233.

The effect of Na Atom on TlInSe₂ and TlInTe₂ Compounds

İsmail Yücel*¹

¹Independent Scholar, 32100, Isparta, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0002-8660-3931>

* *corresponding author*: ismaillyucel@gmail.com

(Alınış / Received: 21.11.2022, Kabul / Accepted: 03.03.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Abstract: Thermoelectric materials have widely used applications in technological areas such as electronic devices and data storage. TlInSe₂ and TlInTe₂ compounds are among these thermoelectric materials. In this study, while the structural, electronic, and optical properties of TlInSe₂, TlInTe₂, Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂ and Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂ compounds have been examined with the WIEN2k program based on DFT, their thermoelectric properties have been calculated with another program BoltzTrap. The electronic calculations show that, all compounds exhibit indirect band gap properties. In addition, the band gap energy of Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂ is shifted in the electromagnetic spectrum. The optical properties are found to change depending on the direction for all compounds. Finally, the thermoelectric parameters have been calculated depending on temperature. It is thought that especially the results for Na-doped compounds will be a leading reference for experimental studies.

Key words: WIEN2k, Electronic, Thermoelectric, Optic

Na Atomunun TlInSe₂ ve TlInTe₂ Bileşikleri Üzerindeki Etkisi

Öz: Termoelektrik malzemeler, elektronik cihazlar ve veri depolama gibi teknolojik alanlarda yaygın olarak kullanılan uygulamalara sahiptir. TlInSe₂ ve TlInTe₂ bileşikleri bu termoelektrik malzemeler arasında yerini almaktadır. Bu çalışmada TlInSe₂, TlInTe₂, Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂ ve Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂ bileşiklerinin yapısal, elektronik ve optik özellikleri DFT tabanlı WIEN2k programı ile incelenirken, başka bir program olan BoltzTrap ile termoelektrik özellikleri hesaplanmıştır. Band yapısı hesabından tüm bileşiklerin dolaylı bant aralığı özellikleri gösterdiği bulunmuştur. Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂ bileşiğinin bant aralığı enerjisinin elektromanyetik spektrumda yer değiştirdiği tespit edilmiştir. Optik özelliklerin tüm bileşikler için yöne bağlı olarak değiştiği bulunmuştur. Son olarak sıcaklığa bağlı olarak termoelektrik parametreler hesaplanmıştır. Özellikle Na katkılı bileşikler için elde edilen sonuçların deneysel çalışmalar için öncü bir referans olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: WIEN2k, Elektronik, Termoelektrik, Optik

1. Introduction

Increasing global energy demand day by day, it is desired to convert wasted thermal energy into useful electrical power. One of the important factors in obtaining efficient thermoelectric materials (TE materials) is low thermal conductivity [1, 2]. Materials with low thermoelectric properties have widely used applications in technological areas such as electronic devices and data storage [3, 4]. In this study, TlInSe₂ and TlInTe₂ compounds have been investigated in terms of electronic, optic, and thermoelectric properties. Ding et al. emphasized that TlInTe₂ compound could be one of the promising materials with thermoelectric efficiency [5]. Moreover, TlInSe₂ compound is a widely studied compound due to its superior thermoelectric properties [6]. Isik and Gasanly have

reported that, there is a decrease in the band gap as a result of the increase in Tl content in the $Tl^{1+}(Tl_xIn_{1-x})^{3+}Se_2$ compound [7]. XRD investigations of the $TlInSe_2$ compound studied under high pressure by Jabarov et al. have reported the stability of the tetragonal phase structure over the entire pressure range examined [8]. When the literature is examined, it has seen that these compounds are widely studied, and they are materials worth examining in terms of their thermoelectric properties. Besides, it is thought that they can help the emergence of new materials by doping or defects. In line with this information, $TlInSe_2$, $TlInTe_2$, $Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe_2$ and $Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe_2$ compounds have been investigated as theoretically in this manuscript.

2. Material and Method

The first principle investigation have been conducted by using WIEN2k code [9–11] which is based on density functional theory (DFT) [12]. Perdew-Burke-Enzerhof (PBE) generalized gradient approximation (GGA) is used as the electronic exchange-correlation potential [13]. In addition, TB-mBJ method has been carried to improve band structure and density of state calculations [14, 15]. $R_{MT} * K_{MAX}$ parameter is set to 7. Another parameter is adjusted as 12. The cut-off energy is set to -6.0 Ry. The definition of cut-off energy is energy for separating core from valence state. The 1000k point have been used for calculations. Finally, BoltzTrap code has been used to determine the thermoelectric properties.

3. Results

3.1. Structural properties

The $TlInSe_2$ and $TlInTe_2$ compounds space group are $I4mcm$ and their crystal structure is tetragonal [16]. In addition, the Bravais lattice of both compounds is the body centered tetragonal (BCT). The formation of the doped crystal structures has been provided that one Tl atoms at (0.5, 0.5, 0.25) point has been removed from the crystal structure and doped with the Na atom instead of. It is known that the ion charges of Tl, In, Se and Te are (+1), (+3), (-2) and (-2), respectively. Because of this $TlInSe_2$ and $TlInTe_2$ compounds have a zero charge. The Na atom has an ionic charge of (+1), just like the Tl atom. In this way, the replacement of the Tl atom by the Na atom does not disturb the total charge balance of compounds whose charges become zero, just like in undoped compounds. The crystal structure of $TlInSe_2$, $TlInTe_2$, $Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe_2$ and $Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe_2$ have been presented in Fig. 1.

The structural properties of undoped compounds at the ground state energy have been calculated and compared data with the literature [16]. In addition, structural parameters at the ground state energy are calculated using the Murnaghan equation of state (EOS) which are defined as the following equations [17];

$$P = \frac{3B(1-x)}{x^2} \exp\left[\left(\frac{3}{2}B' - 1\right)(1-x)\right] \quad (1)$$

$$P = \frac{B}{B'} \left[\left(\frac{V_0}{V}\right)^{B'} - 1\right] \quad (2)$$

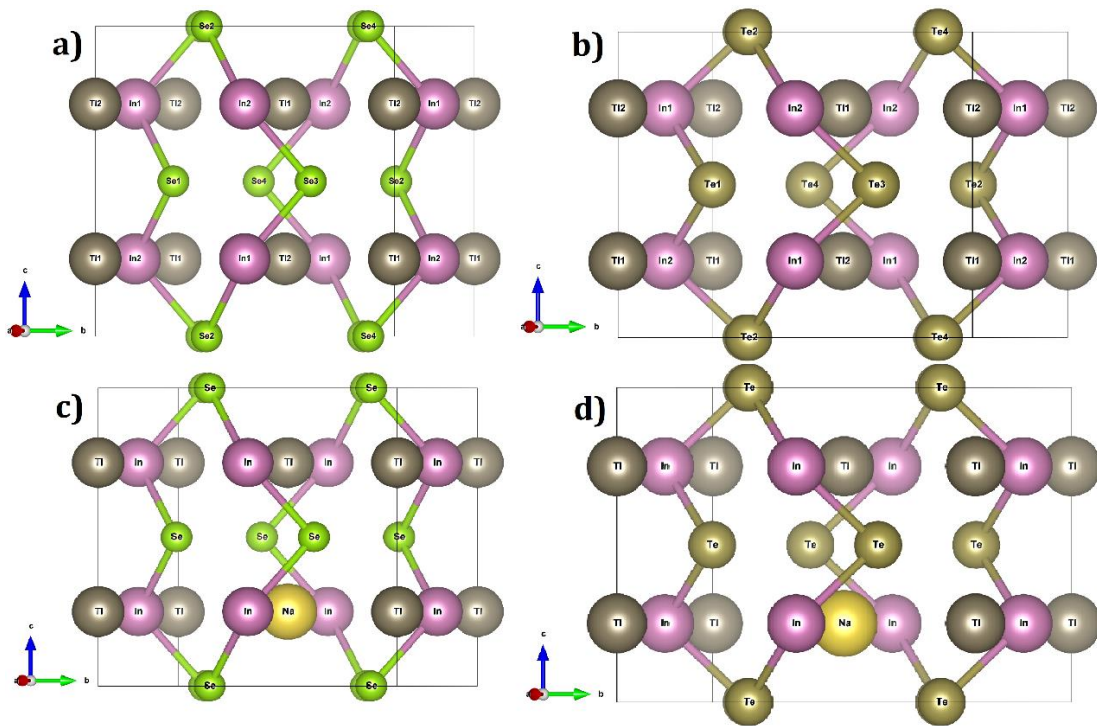


Figure 1. The crystal structure of a) TlInSe_2 , b) $\text{TlInTe}_2 \text{Tl}_{0.75}$, c) $\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$ and d) $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$

The optimization graph of all compounds is presented in Fig. 2. The results of the GGA methods are compared with the literature, given in Table 1. The GGA method is in good compromise with other studies for TlInSe_2 and TlInTe_2 . Obtained lattice parameters compatible with the experimental data are important to obtain accurate results in electronic, optical, and thermoelectric calculations. Na doping to TlInSe_2 and TlInTe_2 compound caused minor changes in lattice parameters. It is observed that these small changes in lattice parameters do not cause any change in the c/a ratio.

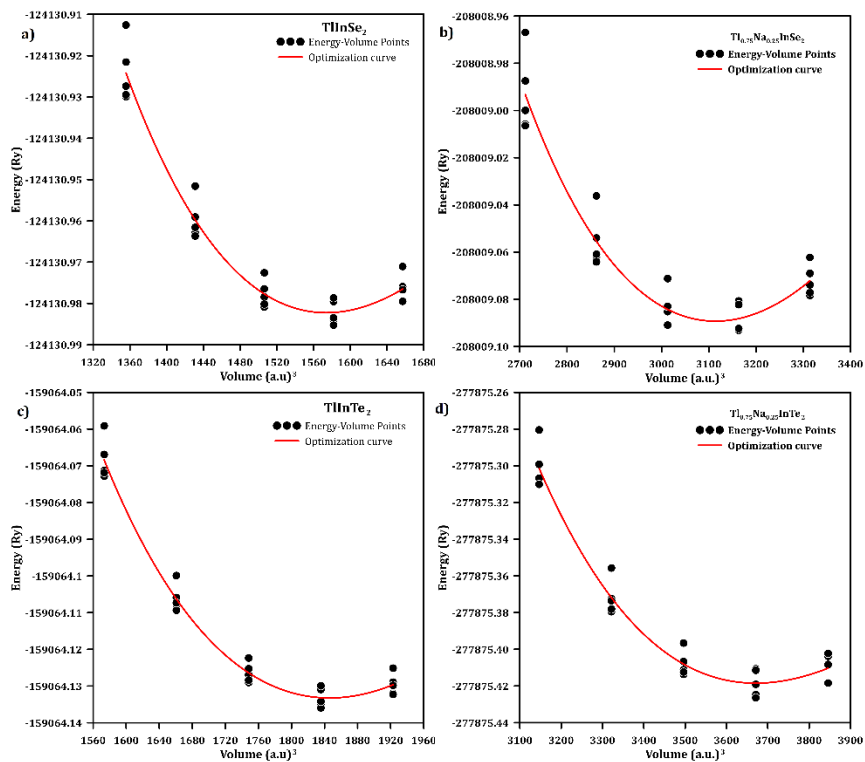


Figure 2. The optimization graph of a) TlInSe_2 , b) $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$, c) TlInTe_2 and d) $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$

Table 1. The obtained lattice parameters, c/a ratio, bulk modulus (*B*), pressure derivatives of bulk modulus (*dB/dP*)

Compound	a (Å)	c (Å)	c/a	B (GPa)	dB/dP	References
TlInSe ₂	8.1993	6.9403	0.84	42.5845	4.4561	This work
	8.0750 ^a	6.8470 ^a	0.84 ^a	-	-	^a [16]
TlInTe ₂	8.6651	7.2875	0.84	35.14	4.45	This work
	8.4940 ^b	7.1810 ^b	0.85 ^b	-	-	^b [18]
	8.4940 ^a	7.1810 ^a	0.85 ^a	-	-	^a [16]
Tl _{0.75} Na _{0.25} InSe ₂	8.1348	6.9545	0.85	42.7873	4.2268	This study
Tl _{0.75} Na _{0.25} InTe ₂	8.6815	7.2544	0.84	33.0782	4.9708	This study

3.2. Electronic properties

The band structure and density of states calculations have been made to reveal electronic properties of TlInSe₂ and TlInTe₂. The band structure of TlInSe₂, TlInTe₂, Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂ and Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂ have been shown in Fig. 3, respectively. The maximum of valence band is at H symmetry point and minimum of conduction band is between Γ and P symmetry points. It means that, the TlInSe₂ has an indirect band gap energy whose energy is 1.08 eV. On the other hand, the TlInTe₂ has two minimum points on conduction band and one of them corresponds to H symmetry points and the other is between Γ and P symmetry points, is presented in Fig. 3(b). In addition, the maximum of valence band is at H symmetry point. It is indicated that TlInTe₂ has a direct and indirect band gap energy whose energy are 1.02 eV and 1.03 eV respectively. Moreover, the reported band gap values of TlInSe₂ are 1.02 eV [19], 1.10 eV [20], 1.35 eV and 1.07 eV [21]. The reported band gap values for TlInTe₂ are 1.03 eV and 0.99 eV [21], 1.13 eV and 0.97 eV [22]. The obtained results are compared with the literature; it is possible to say that the results of the theoretical study are acceptable. In addition, the mBJ method has given compatible values with the experimental results. The calculated band gap energies have shown that, these compounds are very close to the narrow band gap energy limit. Because of these, semiconductor materials with a small band gap are used as infrared detectors or thermoelectric materials. The band structure of Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂ and Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂ have been shown in Fig. 3(c) and Fig. 3(d), respectively. As can be clearly seen from figure 3. that, Na doping to TlInSe₂ and TlInTe₂ compound has caused an increment in band gap energies. Also, shifts are observed at high symmetry points for minimum of conduction band and maximum of valence band. Moreover, the band gap energy of Na doped TlInSe₂ is shifted from infrared region to visible region on the electromagnetic spectrum. The calculated band gap energy of Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂ and Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂ are 2.19 eV and 1.65 eV, respectively.

The total density of states (TDOS) and partial density of states (PDOS) calculations have been made to explain the valence and conduction band formations. The density of states versus energy graphs have been presented for TlInSe₂ and Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂ in Fig. 4. TDOS calculations have shown that these materials are semiconductors, like band structure calculations. The valence band have occurred between -5.74 eV and Fermi Level for TlInSe₂. The density of states has approached almost zero at about the -3.17eV level, it has divided the valence band almost in two. The weak effect of Tl and In atoms has prevented this splitting into two. Moreover, the s-states of Tl atoms are dominant between -5.74 eV and -3.17 eV. The d-states of Tl atoms and p-states of Se atoms have a weak effect on their formation. After 3.17 eV, the s-states of Se atoms are more effective in the formation of the valence band between -3.17 eV and the Fermi Level. The s-, p-, and d-states of other atoms are seen in this energy range, but they are rather weak. In addition,

the s-states of In and the p-states of Se atoms are effectively dominant in the formation of the conduction band between 1.07 eV and 2.08 eV. After this energy value, all other states are seen in the formation of the conduction band in dominant and weak ratios. Although the Na contribution does not cause a great change in the valence band, it causes an increase in the band gap energy by shifting the conduction band. With this increase, the band gap energy is transferred from the infrared region to the visible region.

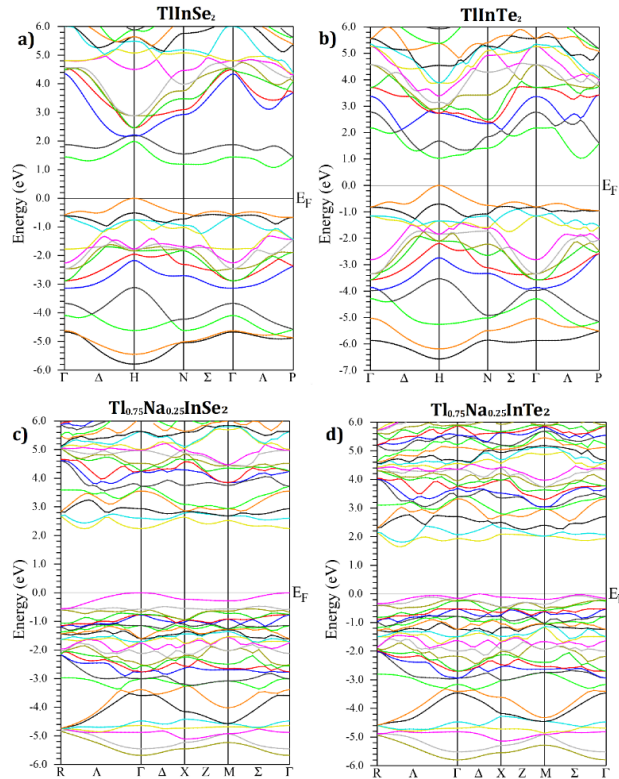


Figure 3. The calculated band structure graph of all compounds

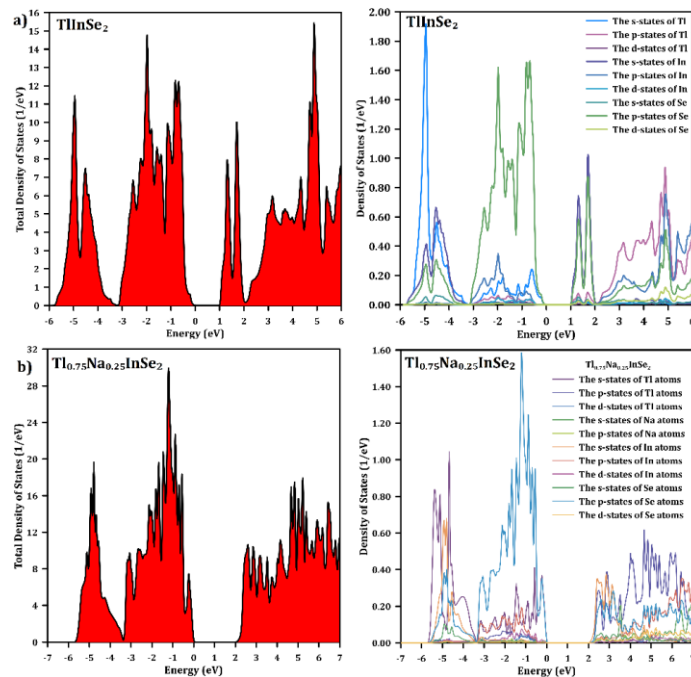


Figure 4. The TDOS and PDOS graphs of a) TlInSe₂ and b) Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂

The density of states versus energy graphs have been presented for TlInTe₂ and Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂ in Fig. 5. The valence band of TlInTe₂ is formed between -6.92 eV and Fermi Level. It has almost divided the valence band into two, around -3.93 eV. However,

the weak effects of the p- and d-states of In atoms have prevented the division of the valence band. The p-states of Te atoms are dominant in the valence band between -3.93 eV and Fermi level. The p-states of Tl, the s- and p-states of In and p-states of Te atoms are dominant in the conduction band. The states of other atoms are seen in this conduction band, but they are rather weak. Na doping has caused a narrowing in the valence band energy range on the TlInTe₂ compound but also has caused an increment in the band gap energy. However, the band gap energy corresponds to the infrared region, like the band gap energy of an undoped TlInTe₂ compound.

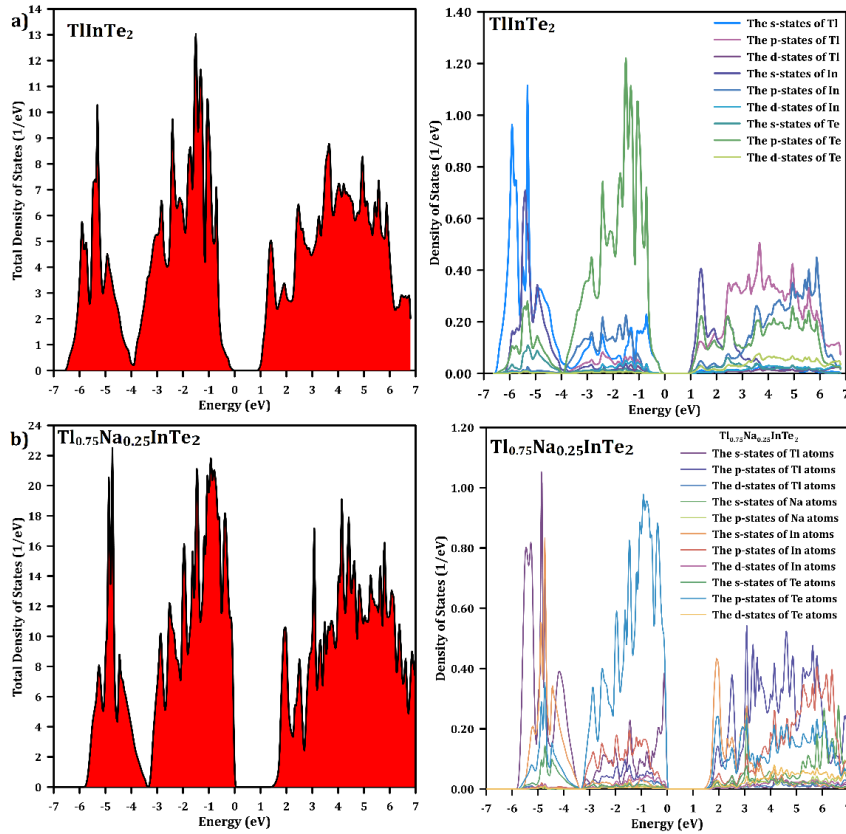


Figure 5. The calculated TDOS and PDOS a) TlInTe₂ and b) Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂

3.3. Optic properties

The optical properties of a material are explained by its dielectric function. The dielectric function consists of two parts which are real $\epsilon_1(\omega)$ and imaginary $\epsilon_2(\omega)$ parts. The general expression of the dielectric function is as follows $\epsilon(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i\epsilon_2(\omega)$. $\epsilon_1(\omega)$ and $\epsilon_2(\omega)$ can be obtained from the following equation [23, 24];

$$\epsilon_1(\omega) = 1 + \frac{2}{\pi} \mathbf{P} \int_0^{\infty} \frac{\omega' \epsilon_2(\omega') d\omega'}{\omega'^2 - \omega^2} \quad (3)$$

$$\epsilon_2(\omega) = \frac{V^2 e^2}{2\pi m^2 \omega^2} \times \int d^3k \sum_{nn'} |kn|p|kn'|^2 f(kn) [1 - f(kn')] \delta(E_{kn} - E_{kn'} - \omega) \quad (4)$$

The behavior of the material in the electromagnetic field is due to two types of electron transition. The first is the intra-band transitions that occur in each individual band that crosses the Fermi Level. Such a transition is more likely at low energy. The other type of transition is the transition between bands that occurs from one band to another. When the energy required to excite an electron is sufficient, the electron can jump to the other band,

and the transition between bands occurs when the electron jumps to the upper band. Optical properties like the absorption coefficient $\alpha(\omega)$, the refraction index, $n(\omega)$, reflectivity, $R(\omega)$, and optical conductivity have differed in such band transitions which are calculated using the dielectric function [25].

$$n(\omega) = 2^{-1/2} (\sqrt{\varepsilon_1^2(\omega) + \varepsilon_2^2(\omega) + \varepsilon_1^2(\omega)})^{1/2} \quad (5)$$

$$\alpha(\omega) = \frac{2^{1/2} \omega}{c} (\sqrt{\varepsilon_1^2(\omega) + \varepsilon_2^2(\omega) - \varepsilon_1^2(\omega)})^{1/2} \quad (6)$$

$$R(\omega) = \left| \frac{\sqrt{\varepsilon(\omega)} - 1}{\sqrt{\varepsilon(\omega)} + 1} \right|^2 \quad (7)$$

Fig. 6 (a) shows plots of the real parts of the dielectric function as a function of photon energy. The dielectric constant at zero energy have differed according to the direction. Because of this, these materials could be candidates for nonlinear optical applications. The static dielectric constants $\varepsilon_{xx}(0)$ and $\varepsilon_{zz}(0)$ are equal to 7.55 and 9.13 for the TlInSe₂, respectively. Similarly, the static dielectric constants $\varepsilon_{xx}(0)$ and $\varepsilon_{zz}(0)$ are calculated 10.12 and 11.16 for TlInTe₂, respectively. The calculated $\varepsilon_{xx}(\omega)$, $\varepsilon_{zz}(\omega)$ for Na-doped TlInSe₂ and TlInTe₂ are 6.89, 7.63 and 9.48, 10.59, respectively. In addition, the $\varepsilon_{xx}(\omega)$ and $\varepsilon_{zz}(\omega)$ values have negative values in some energy ranges. It means that this compound has metallic characteristic in this range. $\varepsilon_{xx}(\omega)$ and $\varepsilon_{zz}(\omega)$ have reached its maximum values at 11.89 and 19.99 for TlInSe₂, respectively. The energies corresponding to these values are 1.70 eV and 2.84 eV, respectively. While $\varepsilon_{xx}(\omega)$ reaches a maximum at the infrared visible region boundary, $\varepsilon_{zz}(\omega)$ reaches a maximum within the visible region for TlInSe₂. On the other hand, for TlInTe₂, the maximum values are 16.22 and 21.21 for $\varepsilon_{xx}(\omega)$ and $\varepsilon_{zz}(\omega)$, respectively. Their corresponding energy values are 2.44 eV and 2.54 eV, respectively, it reaches its maximum in the visible region in both directions. The plots of the imaginary parts of the dielectric function as a function of photon energy is presented in Fig. 6 (b). The imaginary part of dielectric function $\varepsilon_{xx}(\omega)$ for TlInSe₂ have four peak whose values are 6.19, 5.60, 7.68 and 8.10, respectively. Their corresponding energy values are 1.86 eV, 2.35 eV, 3.66 eV and 5.56 eV, respectively. In line with this information, we can say that, the first two peaks have occurred in the visible region, whereas the other two peaks are formed ultraviolet region. When we look for the TlInSe₂ in the $\varepsilon_{zz}(\omega)$ direction, two peaks are seen whose values are 20.80 and 13.45, respectively. These peaks are formed 3.36 eV and 4.26 eV, respectively. It means that they have reached to maximum in ultraviolet region. When it has been examined for the other compound, TlInTe₂, it has been calculated those three peaks occurred in the $\varepsilon_{xx}(\omega)$ direction, while it has been found that there is only one peak in the $\varepsilon_{zz}(\omega)$ direction. Moreover, all peaks have been formed in the ultraviolet region. In addition, these peaks have explained which energies the intraband transitions will consist of. Although the doping of the Na atom on TlInSe₂ and TlInTe₂ has caused small energy changes at the maximum peaks, the corresponding region in the electromagnetic spectrum has remained constant.

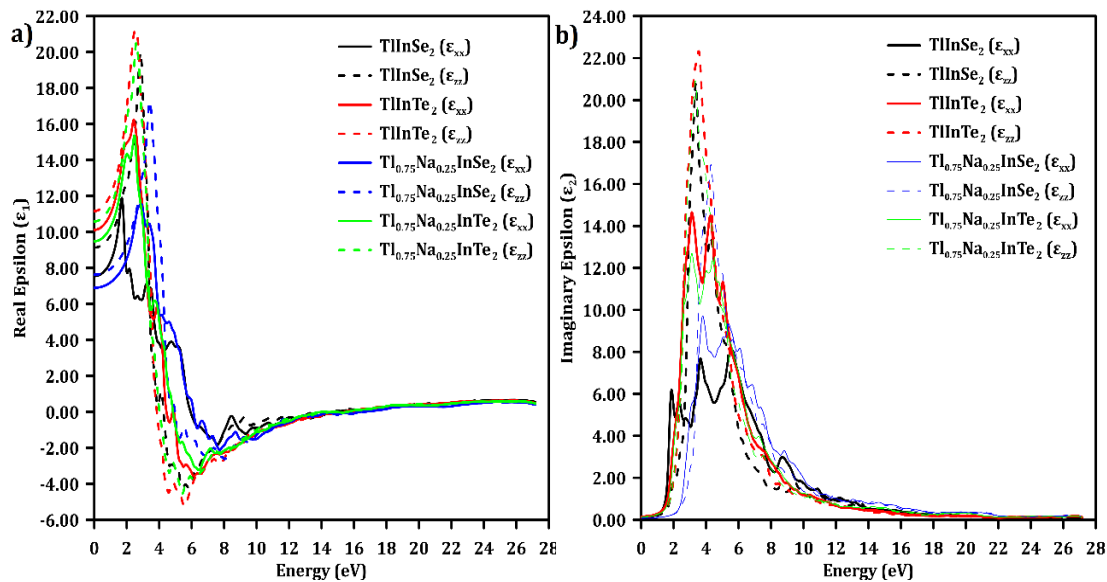


Figure 6. The calculated dielectric function for all compounds a) Real epsilon and b) Imaginary epsilon

Refraction index and reflectivity can be calculated by the real part of the dielectric function. The refraction index graph depending on energy has presented in Fig 7. (a). The refraction index values for TlInSe₂ at zero energy are 2.75 and 3.02 for $\epsilon_{xx}(\omega)$ and $\epsilon_{zz}(\omega)$, respectively. These values are 2.63 and 2.76 for Tl_{0.75}Na_{0.25}InSe₂, respectively. The calculated refraction index values for $\epsilon_{xx}(\omega)$ and $\epsilon_{zz}(\omega)$ at zero energy are 3.18 and 3.34 for TlInTe₂, respectively. These values are 3.08 and 3.25 for Tl_{0.75}Na_{0.25}InTe₂, respectively. The refraction index for TlInSe₂ depending on $\epsilon_{xx}(\omega)$ has reached maximum in infrared region about 1.72 eV. On the other hand, the maximum value of refraction index for TlInSe₂ depending on $\epsilon_{zz}(\omega)$ have occurred in the visible region about 2.88 eV. For the TlInTe₂, the refraction index has reached maximum in visible region about 2.49 eV and 2.67 eV for $\epsilon_{xx}(\omega)$ and $\epsilon_{zz}(\omega)$, respectively. The energy-dependent percentage reflectivity graphs have been shown in Fig. 7(b). The reflectivity calculations are one of the important parameters that give information about the transmittance of the material. For this reason, reflectivity is inversely proportional to transmission. The percentage reflectivity for TlInSe₂ at zero energy are 22% and 25% for $\epsilon_{xx}(\omega)$ and $\epsilon_{zz}(\omega)$, respectively. These values are 27% and 29% for TlInTe₂, respectively. In addition, the percentage reflectivity is maximum in the ultraviolet region for both compound and directions. According to these results, we can say that, depending on the direction, the refraction indices and percentage reflectivity have differed depending on direction. According to these results, all compounds can be used for non-linear optic applications.

The absorption coefficient and optical conductivity are directly related to the imaginary part of the dielectric function. In particular, the absorption coefficient is one of the parameters that determine whether a material can be used as a solar cell. The absorption coefficient and optical conductivity versus energy graph is presented in Fig. 8. As can be clearly from figure that, there is an absorption limit for both compounds and direction. In addition, their maximum values have corresponded to ultraviolet region. The region where absorption and optical conductivity begin corresponds to the infrared region, which agrees with the band gap energy calculations.

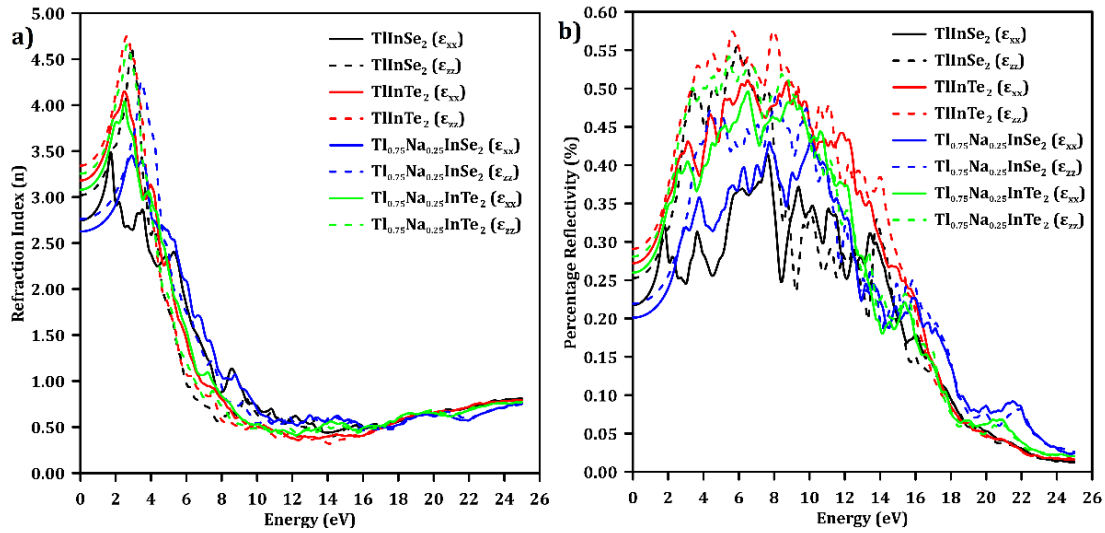


Figure 7. The calculated (a) refraction index and (b) percentage reflectivity for all compounds

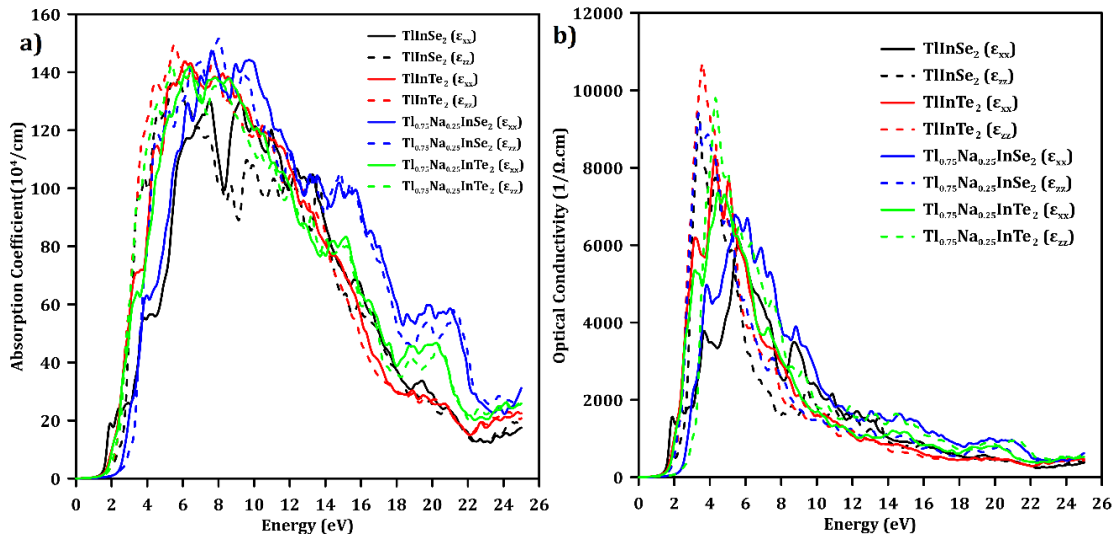


Figure 8. The calculated (a) absorption coefficient and (b) optical conductivity for all compounds

3.4. Thermoelectric properties

Boltztrap code is one of the program used to analyze thermoelectric properties like electrical conductivity and the Seebeck coefficient [26]. Their formula is given following. The equations are dependent on chemical potential (μ) and temperature (K).

$$\sigma_{\alpha\beta}(T, \mu) = \frac{1}{\Omega} \int \sigma_{\alpha\beta} \left[-\frac{\partial f_0(T, \varepsilon, \mu)}{\partial \varepsilon} \right] d\varepsilon \quad (6)$$

$$S_{\alpha\beta}(T, \mu) = \frac{1}{eT\Omega\sigma_{\alpha\beta}(T, \mu)} \int \sigma_{\alpha\beta}(\varepsilon) (\varepsilon - \mu) \left[-\frac{\partial f_0(T, \varepsilon, \mu)}{\partial \varepsilon} \right] d\varepsilon \quad (7)$$

$$\sigma_{\alpha\beta}(\varepsilon) = \frac{1}{N} \sum_{i,k} \sigma_{\alpha\beta}(i, k) \frac{\delta(\varepsilon - \varepsilon_{i,k})}{\delta(\varepsilon)} \quad (8)$$

$$\sigma_{\alpha\beta}(i, \vec{k}) = e^2 \tau_{i,k} v_{\alpha}(i, \vec{k}) v_{\beta}(i, \vec{k}) \quad (9)$$

The electrical conductivity curves depending on temperature is presented in Fig 9. (a). It is seen that the electrical conductivity has linearly increased with increasing temperature

owing to the transition of excited electrons from valence band to conduction band. At room temperature (300K) value of electrical conductivity is $0.41 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$, $0.37 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$, $0.94 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$ and $5.02 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$ for TlInSe_2 , TlInTe_2 , $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$ and $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$ respectively. At 800 K, these values are $1.70 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$, $1.59 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$, $4.01 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$ and $9.69 \times 10^{18} (\Omega \cdot \text{m} \cdot \text{s})^{-1}$ respectively. The second thermoelectric parameter examined in this study is thermal conductivity. The capacity of a material to conduct heat is called thermal conductivity. It is directly related to lattice vibrations and electron mobility. Therefore, it should be optimized and minimized in order to be used in thermoelectric device. In this study, the thermal conductivity is plotted against the temperature, is presented in Fig. 9. (b), indicates that, it is not high in the low temperature region for both compounds. On the other hand, the thermal conductivity rapidly increases in the high temperature region, whose values at 800K are $1.28 \times 10^{14} (\text{W}/\text{m} \cdot \text{K} \cdot \text{s})$, $1.17 \times 10^{14} (\text{W}/\text{m} \cdot \text{K} \cdot \text{s})$, $1.79 \times 10^{14} (\text{W}/\text{m} \cdot \text{K} \cdot \text{s})$ and $3.76 \times 10^{14} (\text{W}/\text{m} \cdot \text{K} \cdot \text{s})$ for TlInSe_2 , TlInTe_2 , $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$ and $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$, respectively. In addition, the temperature region 300K- 800K, this increment occurs linearly. Another thermoelectric parameter is Seebeck coefficient. The Seebeck coefficient versus temperature graph for TlInSe_2 and TlInTe_2 is presented in Fig. 9 (c) which shows that, it is decreased from 50 K to 150 K, whereas it changes nonlinearly between 150 K and 800 K. The maximum value of the Seebeck coefficient is $4.11 \times 10^{-4} (\text{V}/\text{K})$ and $6.15 \times 10^{-4} (\text{V}/\text{K})$ for TlInSe_2 and TlInTe_2 , respectively. In addition, it is almost equal to each other at 300 K whose values are $2.3215 \times 10^{-4} (\text{V}/\text{K})$ and $2.3115 \times 10^{-4} (\text{V}/\text{K})$, respectively. On the other hand, Na-doped compounds have differed. While the Seebeck coefficient of Na doped $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$ has shown a rapid decrease between 50K and 200K, the decrease has occurred very slowly between 200K and 800K. In the $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$ compound, on the other hand, the Seebeck coefficient has shown a linear increase from 50 K to 150 K, while after this point it has shown a nearly constant state. Between 500K and 800K, the Seebeck coefficient is calculated to vary between $1.80 \times 10^{-4} (\text{V}/\text{K})$ and $1.85 \times 10^{-4} (\text{V}/\text{K})$. The final thermoelectric parameter calculated in this study is power factor which parameter used to indicate the efficiency of the material. The power factor increases linearly with the increasing temperature, is presented in Fig. 9 (d). The room temperature values of TlInSe_2 , TlInTe_2 , $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$ and $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$, respectively are 0.22×10^{11} , 0.19×10^{11} , 0.83×10^{11} and 1.17×10^{11} respectively. At 800 K, the power factor reaches maximum and the power factor values corresponding to 800 K are 1.04×10^{11} , 0.74×10^{11} , 1.83×10^{11} and 3.33×10^{11} for TlInSe_2 , TlInTe_2 , $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$ and $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$, respectively.

4. Conclusion and Comment

This theoretical study on Na doped TlInSe_2 and TlInTe_2 compounds is done with the WIEN2k program. It has been determined that the GGA method used lattice parameter calculations is compatible with the experimental results for TlInSe_2 and TlInTe_2 compounds. In addition, the lattice parameter “a” has decreased while lattice parameter “c” has increased for $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InSe}_2$. On the other hand, lattice parameters “a and c” have increased together for $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$ compound. Despite this change in lattice parameters, there is almost no change in the c/a ratio. As a result of this, Na adding to the compounds does not change the tetragonality. The mBJ method have been used for electronic and optic properties. The calculations for TlInSe_2 and TlInTe_2 have been shown that, it is suitable thanks to giving data consistent with experimental results. Na doping to TlInSe_2 and TlInTe_2 compounds has caused an increment in band gap energies. Moreover, the band gap energy of Na-doped TlInSe_2 is shifted from the infrared region to the visible region. One of the relevant features of optical materials is non-linear optical applications. It has been determined that the optical parameters of the pure doped materials change depending on the direction. These materials can be used for non-linear optic applications.

Especially, $\text{Tl}_{0.75}\text{Na}_{0.25}\text{InTe}_2$ compound can be one of the compounds that can be used in infrared technology. In addition, this compound has a high electrical conductivity, thermal conductivity, and power factor compared to other compounds.

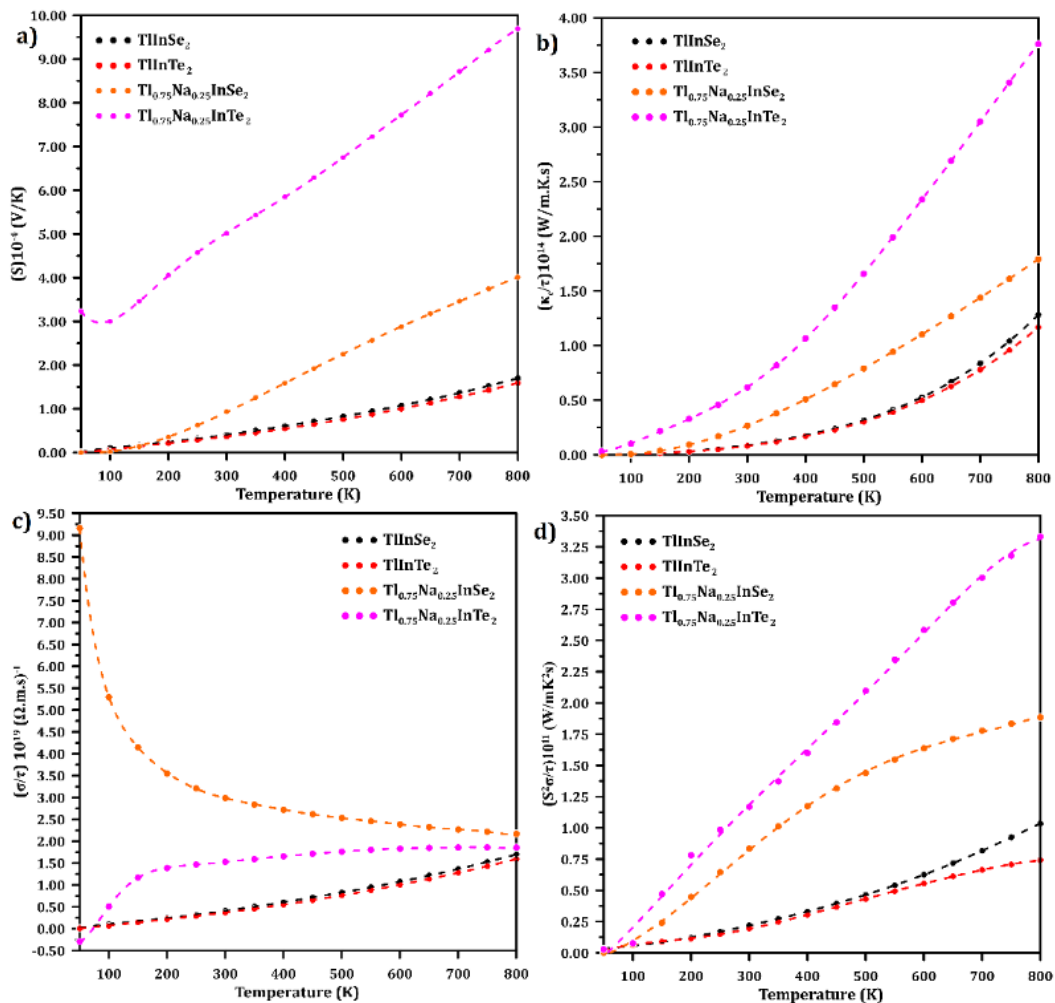


Figure 9. The obtained thermoelectric parameters for TlInSe_2 and TlInTe_2 (a) Electrical conductivity, (b) Thermal conductivity (c) Seebeck coefficient and (d) Power factor

Acknowledgment

The numerical calculations reported in this paper were fully performed in Physics Department at Suleyman Demirel University. Thanks to Prof. Dr. Seyfettin Çakmak, faculty member of the Physics department at Suleyman Demirel University.

Author Statement

İsmail Yücel: Theoretical Calculations, Original Draft Writing, Visualization.

Conflict of Interest

As the authors of this study, we declare that we do not have any conflict-of-interest statement.

Ethics Committee Approval and Informed Consent

As the authors of this study, we declare that we do not have any ethics committee approval and/or informed consent statement.

References

- [1] F. J. Disalvo, "Thermoelectric cooling and power generation," *Science*, 285 (5428), 703–706, 1999.
- [2] L. E. Bell, "Cooling, heating, generating power, and recovering waste heat with thermoelectric systems," *Science*, 321 (5895), 1457–1461, 2008.
- [3] S. Raoux, W. Welnic, and D. Lelmini, "Phase change materials and their application to nonvolatile memories," *Chem. Rev.*, 110 (1), 240–267, 2010.

- [4] N. P. Padture, M. Gell, and E. H. Jordan, "Thermal barrier coatings for gas-turbine engine applications," *Science*, 296 (5566), 280–284, 2002.
- [5] G. Ding, J. He, Z. Cheng, X. Wang, and S. Li, "Low lattice thermal conductivity and promising thermoelectric figure of merit of Zintl type TlInTe₂," *J. Mater. Chem. C*, 6 (48), 13269–13274, 2018.
- [6] N. Mamedov, K. Wakita, A. Ashida, T. Matsui, and K. Morii, "Super thermoelectric power of one-dimensional TlInSe₂," *Thin Solid Films*, 499 (1–2), 275–278, 2006.
- [7] M. Isik and N. M. Gasanly, "Effect of thallium (Tl) substitution for indium (In) on ellipsometric characteristics of TlInSe₂ single crystals," *Mater. Sci. Semicond. Process.*, 134 (June), 106005, 2021.
- [8] S. H. Jabarov *et al.*, "Structural and elastic properties of TlInSe₂ at high pressure," *Solid State Sci.*, 111 (June), 106343, 2021.
- [9] K. Schwarz, P. Blaha, and S. B. Trickey, "Electronic structure of solids with WIEN2k," *Mol. Phys.*, 108 (21–23), 3147–3166, 2010.
- [10] K. Schwarz and P. Blaha, "Solid state calculations using WIEN2k," *Comput. Mater. Sci.*, 28 (2), 259–273, 2003.
- [11] K. Schwarz, P. Blaha, and G. K. H. Madsen, "Electronic structure calculations of solids using the WIEN2k package for material sciences," *Comput. Phys. Commun.*, 147 (1–2), 71–76, 2002.
- [12] K. Schwarz, "DFT calculations of solids with LAPW and WIEN2k," *J. Solid State Chem.*, 176 (2), 319–328, 2003.
- [13] J. P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof, "Generalized gradient approximation made simple," *Phys. Rev. Lett.*, 77 (18), 3865–3868, 1996.
- [14] F. Tran and P. Blaha, "Accurate band gaps of semiconductors and insulators with a semilocal exchange-correlation potential," *Phys. Rev. Lett.*, 102 (22), 5–8, 2009.
- [15] D. Koller, F. Tran, and P. Blaha, "Improving the modified Becke-Johnson exchange potential," *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, 85 (15), 1–8, 2012.
- [16] J. Banys, F. R. Wondre, and G. Guseinov, "Powder diffraction study of TlGaTe₂, TlInTe₂ and TlInSe₂," *Mater. Lett.*, 9 (7–8), 269–274, 1990.
- [17] F. D. Murnaghan, "The compressibility of media under extreme pressures," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 30 (9), pp. 244–247, 1944.
- [18] A. M. Panich, "Electronic properties and phase transitions in low-dimensional semiconductors," *J. Phys. Condens. Matter*, 20 (29), 293202, 2008.
- [19] G. S. Orudzhev, N. A. Ismayilova, and V. N. Jafarova, "Electronic structure and effective masses of TlInSe₂ under pressure," *Mater. Sci. Pol.*, 35 (4), 857–860, 2017.
- [20] G. D. Guseinov, A. M. Ramazanzade, E. M. Kerimova, and M. Z. Ismailov, "About a group of three-component compounds being analogous to binary semiconductors of the AIII BVI type," *Phys. Status Solidi*, 22 (2), K117–K122, 1967.
- [21] M. Haniyas, A. Anagnostopoulos, K. Kambas, and J. Spyridelis, "On the non-linear properties of TlInX₂ (X = S, Se, Te) ternary compounds," *Phys. B Condens. Matter*, 160 (2), 154–160, 1989.
- [22] K. R. Allakhverdiev, T. G. Niamedov, V. E. Shteinsreiber, and I. K. Efendieva, "Fundamental Absorption Edge of TlSe and TlInTe₂ Crystals," 127 (1), K55-K60, 1985.
- [23] M. A. Khan, A. Kashyap, A. K. Solanki, T. Nautiyal, and S. Auluck, "Interband optical properties of Ni₃Al," *Phys. Rev. B*, 48 (23), 16974–16978, 1993.
- [24] F. Wooten, *Optical Properties of Solids*, Academic Press, 1972, pp. 1-260.
- [25] C. Ambrosch-Draxl and J. O. Sofo, "Linear optical properties of solids within the full-potential linearized augmented planewave method," *Comput. Phys. Commun.*, 175 (1), 1–14, 2006.
- [26] G. K. H. Madsen and D. J. Singh, "BoltzTraP. A code for calculating band-structure dependent quantities," *Comput. Phys. Commun.*, 175 (1), 67–71, 2006.

Nöroblastoma Hücre Hattında Uzun Süreli Darbeli Elektromanyetik Alan Maruziyetinin Apoptoz Üzerine Etkileri

Çiğdem Gökçek Saraç^{1*}, Ebru Çetin², Serdar Karakurt³

¹Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, Mühendislik Fakültesi, Akdeniz Üniversitesi, 07070, Antalya, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0002-3538-6551>

*yazışılan yazar: gokcekcigdem@gmail.com

²Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, Mühendislik Fakültesi, Akdeniz Üniversitesi, 07070, Antalya, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0001-8675-5479>

³Biyokimya Anabilim Dalı, Fen Fakültesi, Selçuk Üniversitesi, 42250, Konya, TÜRKİYE

<https://orcid.org/0000-0002-4449-6103>

(Alınış / Received: 29.12.2022, Kabul / Accepted: 08.03.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Darbeli Elektromanyetik Alan (PEMF) düşük frekanslı elektromanyetik alan olup son yıllarda klinik araştırmalarda tedavi amaçlı uygulanmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Farklı frekans, yoğunluk, dalga boyu ve sürelerde kemoterapötik ilaçlarla birlikte uygulanan PEMF maruziyetinin beyin kanseri hücreleri dahil çeşitli kanser hücrelerinde apoptoz üzerine etkilerini değerlendiren çalışmalardan farklı olarak çalışmada sabit frekans ve yoğunlukta (50 Hz, 1 mT) uzun süre (48 saat) PEMF maruziyetinin SK-N-SH insan nöroblastoma hücresinde apoptoz mekanizmasına olası etkileri farklı tekniklerle araştırılmıştır. Hücreler kontrol grubu, PEMF maruziyetinin olmadığı SK-N-SH hücre grubu, ve PEMF'ye 48 saat maruz bırakılan SK-N-SH hücre grubu olmak üzere üçe ayrılmıştır. Hücre canlılığı, apoptoz tayini, kaspaz-8 mRNA düzeyi ve kaspaz-8 protein ekspresyonu sırasıyla alamar mavisi, akış sitometri, qRT-PCR ve Western-Blot teknikleriyle belirlenmiştir. Uzun süreli PEMF maruziyetinin insan nöroblastoma hücresinde hücre canlılığını belirgin şekilde azaltıp hücreleri daha fazla erken apoptoza uğratarak hücreleri apoptoza sürüklediği ve bu mekanizmanın kaspaz-8 mRNA düzeyinde ve protein ekspresyon seviyesinde artışla ilişkili olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Darbeli elektromanyetik alan, Nöroblastoma, Kaspaz-8

Effects of Long-Term Pulsed Electromagnetic Field Exposure on Apoptosis in Neuroblastoma Cell Line

Abstract: Pulsed Electromagnetic Field (PEMF) is a low-frequency electromagnetic field that has gained popularity in clinical research in recent years for its potential therapeutic benefits. Unlike studies evaluating the effects of PEMF exposure combined with chemotherapeutic drugs at different frequencies, intensities, wavelengths and durations on apoptosis in various cancer cells, including brain cancer cells, in the study, the possible effects of long-term (48 hours) PEMF exposure at constant frequency and intensity (50 Hz, 1 mT) on the apoptosis mechanism in human neuroblastoma cells have been investigated by different techniques. Cells group is divided into three experimental groups as control, SK-N-SH cell group without PEMF exposure, and SK-N-SH cell group exposed to PEMF for 48 hours. Alamar blue, flow cytometry, qRT-PCR and Western-Blotting techniques were utilized to measure cell viability, apoptosis, mRNA level and protein expression of the caspase-8. It has been shown that long-term PEMF exposure significantly reduces cell viability in human neuroblastoma cells,

inducing the cells to a significant amount of early apoptosis, and this mechanism may be explained by the increased mRNA and protein expression level of the caspase-8.

Key words: Pulsed electromagnetic field, Neuroblastoma, Caspase-8

1. Giriş

Elektromanyetik alanlar (EMA), mıknatısların ve elektrik akımların birleşimi sonucunda oluşan manyetik alanlardır [1]. Dünyanın yapısından kaynaklı oluşan statik manyetik alanın dışında insan yapımı EMA'lar bulunmaktadır [1]. Yapay yollarla elde edilen elektromanyetik alanlar, sahip oldukları frekansa göre düşük frekanslı elektromanyetik alanlar (ELF-EMA<300 Hz), ara frekanslı elektromanyetik alanlar (300 Hz-10 MHz) ve radyo frekansından (10 MHz-300 GHz) oluşmaktadır [1]. *In vitro* çalışmalar ELF-EMA'nın nöron benzeri hücrelerde gen ifadesinin düzenlenmesinde, nörit büyümesinde, apoptozun inhibisyonunda, nöronal farklılaşmada rolü olduğunu göstermiştir [2]. Düşük frekanslı EMA uygulamalarının içinde en dikkat çekenini belirli dalga formuna ve genliğe sahip olan "Darbeli Elektromanyetik Alan (Pulsed Electromagnetic Field) (PEMF)"dir [3]. PEMF'ler darbeleri sinyallerle üretilir, manyetik alan tepe değeri miliTesla(mT) ve dU/değişim oranı (dt) hızlıdır (milisaniye) [4]. PEMF maruziyetinin nörodejeneratif hastalıkların [5], ödemin [6], migrenin [7], ameliyat sonrası ağrının [8], yumuşak doku hasarının [9], yaranın tedavisinde [10], oksidatif stresin sitotoksik etkilerini azaltmada [11], ve oksidan-antioksidan mekanizmasının dengesinde rolü olduğu [12,13] çeşitli çalışmalarca gösterilmiş ve klinikte potansiyel bir tedavi yöntemi olarak kullanılması hız kazanmıştır.

Apoptoz, proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki denge ile düzenlenen, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan programlanmış hücre ölümüdür [14]. Apoptoz, hücre içinden (mitokondriyal yolak) ve hücre dışından (hücre yüzeyindeki ölüm reseptörleri) olmak üzere iki ayrı mekanizma ile indüklenebilir [15]. Mitokondriyal yolda (intrinsik yolak), hücrenin ölümüne ya da yaşamına karar verecek olan en önemli faktör sitokrom-c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınmasını başlatan apoptozis uyarıcı proapoptotik (bax, bcl-xs, bad, bim, bid), ve sitokrom-c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınmasını baskılayan apoptozis baskılayıcı antiapoptotik (bcl-2, bcl-xl, mcl-1) üyeleri bulunan Bcl-2 ailesinin üyeleridir [16]. Apoptozun mitokondriyal yolağında sitokrom c'nin salınması önemli bir basamak olup Apaf-1'e bağlanarak prokaspaz-9'un aktivasyonuna, aktifleşen kaspaz-9'da apoptotik yoldaki bir seri kaspaz aktivasyonunun (kaspaz-3, -7 gibi) başlamasına yol açar [17]. Hücre dışından apoptoz yolağı (ekstremsel yolak) ise, bir ligandın bir ölüm reseptörüne bağlanması yoluyla aktive edilir ve bu da adaptör proteinlerinin yardımıyla kaspaz-8'in dimerizasyonuna ve aktivasyonuna yol açar. Aktif kaspaz-8 ya direk olarak prokaspaz-3, -6, -7'yi aktive ederek apoptozu başlatır ya da bcl-2 ailesinin üyesi olan Bid'i kesip aktifleştirerek apoptozun mitokondriyal yolağının aktifleşmesine neden olur [16].

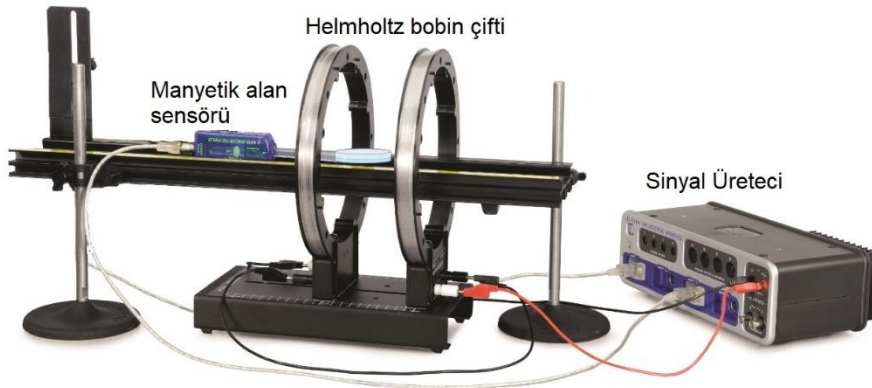
Beyin kanseri hücreleri üzerinde farklı deneysel yaklaşımlarla yapılan *in vitro* çalışmalar, farklı frekans ve farklı dalga boyuna sahip ELF-EMA'nın kemoterapötik ilaçlarla birlikte farklı zaman aralıklarıyla uygulanmasının apoptozu indüklediğini ve apoptozla ilgili proteinlerde değişikliğe neden olduğunu göstermiştir [18, 19]. Ancak, çocukluk çağının erken döneminde görülen sempatik sinir sistemi kaynaklı kötü huylu beyin tümörü olan insan nöroblastoma hücre hattı üzerinde, belirli bir frekansa ve dalga boyuna sahip PEMF'nin direkt olarak uzun süreli maruziyetinin apoptozla ve apoptozun ekstremsel yolağında önemli rol oynayan kaspaz-8'in ekspresyonu üzerinde değişiklikleri araştıran çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu nedenle çalışmanın amacı, insan nöroblastoma hücre hattında (SK-N-SH) 50 Hz frekans, 1.0 mT yoğunluğundaki PEMF'ye uzun süre (48 saat) maruziyetin hücre canlılığına, apoptozu indükleyip indüklemeye ve apoptoz

mekanizmasında rol alan kilit moleküllerden kaspaz-8'in mRNA düzeyine ve protein ekspresyonuna etkisini farklı moleküler tekniklerle incelemektir.

2. Materyal ve Metot

2.1. PEMF maruziyeti

PEMF devre seti (Pasco; UI-5000) ve Pasco 850 Capstone Yazılımı (UI-5400) EDUTEK firmasından (Ankara, Türkiye) satın alınmıştır. PEMF devresi, 500 sarımlı Helmholtz bobin çiftinden oluşmaktadır. Bobinler homojen manyetik alan oluşturmak için birbirlerine paralel olarak konumlandırılmıştır. Seri bağlanan bobin çifti 50 Hz frekans, 1 mT manyetik alan, 1.3 ms darbe (pulse) süresi ve kare dalga formu oluşturması için uygun bir sinyalle beslenmiştir. Hücre kültürü plakaları her bobin çiftinden 5 cm uzağa yerleştirilmiştir. Devrenin yazılım programı (Pasco 850 Capstone) ile bağlantısı bilgisayar ortamında yapılmıştır. Hücre kültürüne uygulanacak manyetik alan darbeleri manyetik olarak ayarlanmış ve bobinde elektrik akım değişimi miliamper (mA) cinsinden hesaplanmıştır. Elektrik gerilimi standart bir bobin probu ile ölçülmüştür. Manyetik alanın mekansal homojenitesi hem siliko hem de hücre inkübatörü içinde Hall Effect gausmetre ile ölçülmüştür. Bu yapılandırmada, 1 mT maksimum manyetik akım yoğunluğuna ve 50 Hz frekansa sahip PEMF hücrelere dik doğrultudadır. Hücrelerin PEMF maruziyeti öncesi deney şartlarının muhtemel düşük frekanslı alanlarından etkilenmemeleri için deneylerin yürütüleceği laboratuvar ortamında çok düşük frekanslı (ELF) elektrik ve manyetik alan seviyeleri ölçülmüştür. Buna ilaveten PEMF maruziyetinden kaynaklı olası termal etkinin engellenebilmesi amacıyla ortam sıcaklığı 37°C'ye ayarlanarak sürekli kontrol edilmiş ve sıcaklık artışı tespit edilmemiştir. PEMF devre düzeneği bobin çiftinin ortasına konumlandırılmış hücre plakası ile birlikte Şimşek ve ark. [11] çalışmasından revize edilerek Şekil 1'de temsili olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. PEMF düzeneğinin temsili gösterimi

2.2. Hücre kültürü çalışmaları

2.2.1. Hücre grupları

Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu-ATCC, (Missouri, ABD)'den insan nöroblastoma hücre hattı, SK-N-SH, satın alınarak %10 fetal sıgır serumu, %1 penisilin-streptomisin,

ve %1 L-Glutamin içeren Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM, Biological Industries, Cromwell, ABD) ortamında 37°C'de, %5 CO₂ içeren %95 nem ortamlı steril inkübatörde (BINDER, Camarillo, ABD) inkübe edilmiştir. Hücreler üç gruba ayrılmıştır: Grup I: Kontrol grubu-Sağlıklı hücre hattı (HEK293t); Grup II: PEMF maruziyetinin olmadığı SK-N-SH nöroblastoma hücre hattı; Grup III: 48 saat boyunca PEMF'ye (50 Hz, 1 mT) maruz bırakılan SK-N-SH nöroblastoma hücre hattı.

2.2.2. Hücre canlılığının tespiti

Tüm gruplardaki hücreler 1:1 oranında seyreltilmiş %0.04 Tripan Mavisıyla (Sigma-Aldrich, Missouri, ABD) boyanarak Bio-Rad TC20 otomatik hücre sayım cihazı (Bio-Rad, Kaliforniya, ABD) ile sayılmış ve üçlü tekrar şeklinde 96 kuyucuklu plakalara (1x10⁴/kuyucuk) ekilmiştir. 570 nm ve 610 nm dalga boylarında spektrofotometrede (Multiskan Go; Thermo Scientific Co., Waltham, MA, ABD) hücre canlılığı ve sitotoksosite Alamar Mavisı reaktifi (Invitrogen, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanılarak ölçülmüş ve sonuçlar hücre canlılığının yüzdesi (%) olarak gösterilmiştir.

2.2.3. Akış sitometri ile apoptoz tayini

PEMF maruziyetinin nöroblastoma hücre hattında apoptotik etkilerini değerlendirmek için, hücreler 3x10⁵ hücre/kuyucuk şeklinde 6-kuyucuklu plakalara ekilmiş, hücre canlılığını %50 oranında inhibe eden PEMF maruziyetine eşit sürede Darbeli Elektromanyetik Alan uygulanmış ve akabinde 24 saat boyunca 37°C, %5 CO₂ koşullarında inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben hücreler 5 dakika boyunca 15000 x g' de santrifüj edilmiştir. Pelete 100 µL (1X) bağlanma tamponu eklenip Anneksin V Apoptoz Tespit Kiti içeriğinde yer alan Anneksin V-APC ve 7-AAD ile boyanmıştır. Hücrelerin erken/geç apoptoz ve nekroz oranları NovoCyte Akış Sitometri Sistemi (Acea, Kuzey Amerika) ile ölçülmüştür.

2.2.4. Kaspaz-8 mRNA seviyesinin tespiti

Hücre gruplarının total RNA izolasyonları TRIZOL reaktifi kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen RNA (1 ng), cDNA sentezi için kullanılmıştır. Revers transkripsiyon reaksiyonu, iScript cDNA sentez kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan cDNA'lar kullanılarak gerçekleştirilen Kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) çalışmalarında iTaq Universal SYBR Green PCR Kit kullanılmıştır. qRT-PCR çalışmalarında kaspaz-8 spesifik ileri ve geri primerler NCBI Primer Blast yazılımı ile dizayn edilmiş olup ileri primer 3'-AGAAGAGGGTCATCCTGGGAGA-5' ve geri primeri 3'-TCAGGACTTCCTCAAGGCTGC-5' olarak belirlenmiştir. Elde edilen değerler GAPDH kullanılarak normalize edilmiş olup kaspaz-8 mRNA seviyesi 2^{-ΔΔCt} formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

2.2.5. Kaspaz-8 protein ekspresyon düzeyinin tespiti

Protein izolasyonu yapılan hücre süspansiyonlarındaki protein miktarı BSA standardı kullanılarak BCA yöntemine göre belirlenmiştir. PEMF maruziyetinin apoptoz yolağında rol alan Kaspaz-8 proteinin ekspresyonu üzerindeki etkileri Western Blot tekniğiyle araştırılmıştır. Biorad elektroforez sistemi kullanılarak SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE) yöntemi ile proteinler ayrıştırılmıştır. Elektroforezi takiben jel sandviçten çıkarılan jeller transfer tamponunda (25 mM Tris, 192 mM glisin ve %20 metanol) 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Transfer sandviçin hazırlanmasından sonra sistem güç kaynağına bağlanarak voltaj, maksimum akım limiti ayarlanmış ve 90 dk süreyle proteinler elektroforetik olarak transfer edilmiştir. Proteinlerin tespiti aşamasında

membran 10 dakika süreyle TBST solüsyonu (Tris Buffered Saline + Tween 20: 20 mM Tris-HCL, pH 7.4, 0.5 M NaCl ve %0,05 Tween 20) ile yıkanmıştır. Daha sonra membran bloke çözeltisi (TBST içinde yağsız %5'lik süt tozu) ile 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bağlanmamış fazla bloke çözeltisi uzaklaştırılarak membran 2 saat primer antikor ile daha sonra da 1 saat ikincil antikor ile inkübe edilmiştir. Bağlanmamış antikorların uzaklaştırılması için aralarda 5'er dakika 3'er tekrar olmak üzere TBST ile inkübe edilmiştir. Primer antikor bağlanan proteinlerin tespiti, membran üzerindeki protein-primer antikor kompleksinin alkalın fosfataz (ALP) bağlı ikincil antikor ve ALP tespit kiti ile inkübe edilmesine dayanmaktadır. Protein ekspresyon seviyelerini normalize etmek β -aktin internal standard kontrol olarak kullanılmıştır. Image J programı ile protein bantlarının densitometrik analizi gerçekleştirilmiştir.

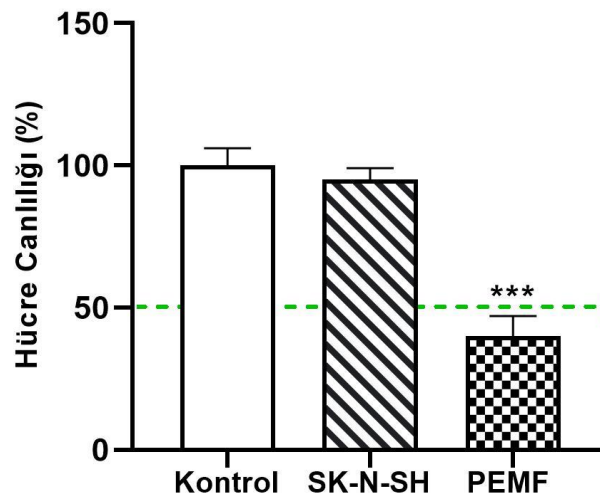
2.3. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz SPSS v.23 (Chicago, IL) istatistik paket programı ile Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test kullanılarak değerlendirilmiş ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Sonuçlar en az üç bağımsız deneyi temsil etmektedir. * $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. Bulgular

3.1. PEMF maruziyetinin hücre canlılığına etkisi

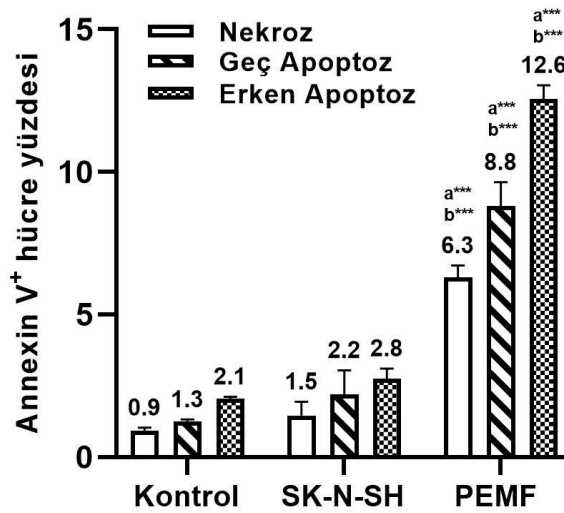
PEMF maruziyetinin hücre gruplarının hücre canlılığı üzerine etkisini inceleyebilmek için Grup I'in hücre canlılığı %100 kabul edilerek Grup II ve Grup III hücrelerinin %50'sini öldüren konsantrasyon (IC_{50}) değeri belirlenmiştir (Şekil 2). Elde edilen sonuçlara göre 48 saat PEMF'ye (50 Hz, 1.0 mT) maruz bırakılan SK-N-SH nöroblastoma hücre hattında (Grup III) hücre canlılığı PEMF maruziyetinin olmadığı SK-N-SH nöroblastoma hücre hattı grubuna göre (Grup II) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p \leq 0.001$) (Şekil 2). Sonuçlar PEMF maruziyetinin SK-N-SH insan nöroblastoma hücre hattında hücre canlılığını azaltıcı olası etkisinin olabileceğini göstermektedir.



Şekil 2. Hücre gruplarında hücre canlılığı yüzdeleri

3.2. PEMF maruziyetinin apoptoza etkisi

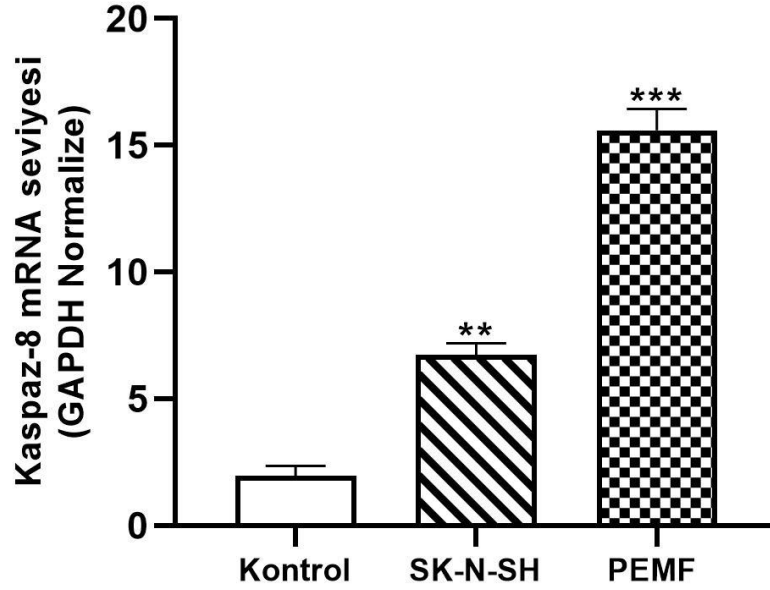
PEMF maruziyetinin nöroblastoma hücre hattında apoptotik etkileri akış sitometrisi ile incelenmiştir. Kontrol grubu olan HEK293t hücre hattının %2.1 erken apoptoz, %1.3 geç apoptoz ve %0.9 nekroza uğradığı belirlenmiştir. PEMF maruziyetinin olmadığı SK-N-SH nöroblastoma hücre hattının ise %2.8 erken apoptoz, %2.2 geç apoptoz ve %1.5 nekroza uğradığı bulunmuştur. 48 saat 50 Hz frekasında 1.0 mT yoğunluğunda PEMF'ye maruz bırakılan SK-N-SH nöroblastoma hücre hattının ise %12.6 erken apoptoz, %8.8 geç apoptoz ve %6.3 nekroza uğradığı tespit edilmiştir. Sonuçlar 48 saat PEMF (50 Hz, 1.0 mT) maruziyetinin SK-N-SH nöroblastoma hücre hattını HEK293t kontrol hücresine göre 6-kat, PEMF maruziyeti olmayan SK-N-SH hücresine göre 4.5 kat daha fazla erken apoptoza uğratarak hücreleri apoptoza sürüklediğini göstermiştir (Şekil 3). Ayrıca, PEMF maruziyetinin erken/geç apoptotik ve nekrotik etkisi HEK293t kontrol hücresine ve PEMF maruziyeti olmayan SK-N-SH hücresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir (***) $p < 0.001$).



Şekil 3. PEMF maruziyetinin erken/geç apoptotik ve nekrotik etkisi. Veriler ortalama \pm SD olacak şekilde gösterilmiş, Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirilmiş, çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test kullanılmıştır. “a” kontrol grubuna göre (***) $p < 0.001$), “b” ise SK-N-SH grubuna göre (***) $p < 0.001$) istatistiksel farkı işaret etmektedir.

3.3. PEMF maruziyetinin kaspaz-8 mRNA seviyesine etkisi

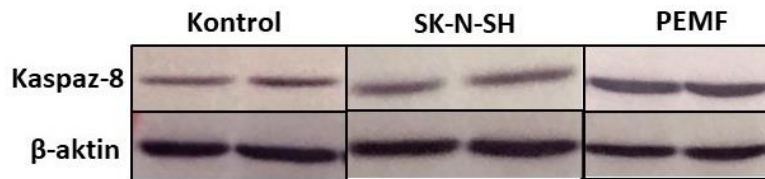
Hücre gruplarındaki kaspaz-8'in mRNA seviyesi qRT-PCR tekniği ile belirlenmiştir. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test ile analiz edilmiştir. 48 saat PEMF'ye (50 Hz, 1.0 mT) maruz kalan SK-N-SH hücre hattında (Grup III) kaspaz-8 mRNA seviyesi kontrol grubuna (Grup I) ve PEMF maruziyetinin olmadığı SK-N-SH nöroblastoma hücre hattı grubuna (Grup II) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p \leq 0.001$, sırasıyla) (Şekil 4). Ayrıca, kaspaz-8 mRNA seviyesi SK-N-SH nöroblastoma hücre hattında HEK293t sağlıklı kontrol hücreye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p \leq 0.01$) (Şekil 4). Apoptozun kilit moleküllerinden başlatıcı kaspaz olarak bilinen kaspaz-8 mRNA seviyesinin SK-N-SH hücre hattında kontrole kıyasla daha fazla olması apoptozun bu hücre hattında uyarıldığını, SK-N-SH hücre hattında uzun süreli PEMF maruziyetinin ise kaspaz-8 gen ekspresyonunda daha fazla artışa neden olarak apoptozun ektrensek mekanizmasında olası etkisinin olabileceğini göstermiştir.



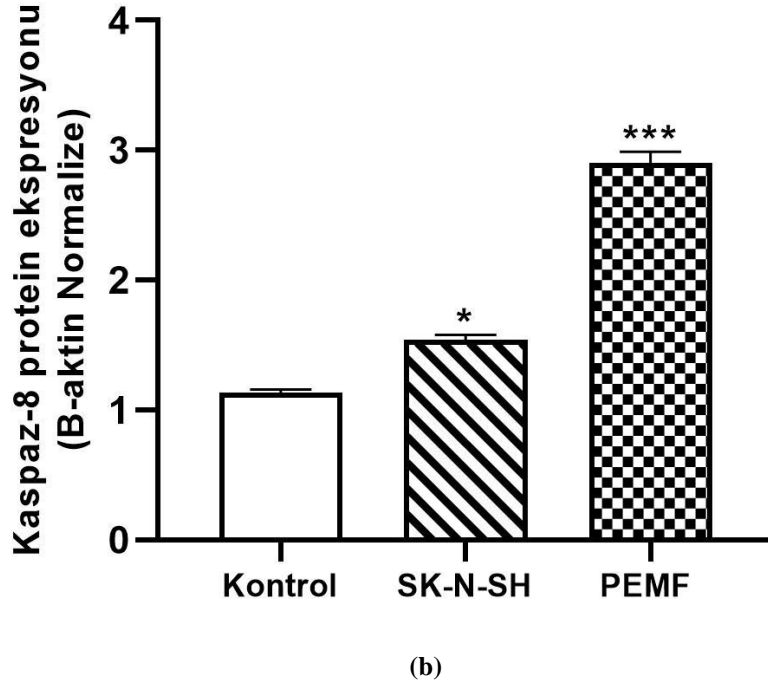
Şekil 4. Hücre gruplarında kaspaz-8 mRNA seviyesinin GAPDH'e orantısız relatif değerlerinin karşılaştırılması. Veriler ortalama \pm SD olacak şekilde gösterilmiş, Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirilmiş, çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test kullanılmıştır. ** $p \leq 0.01$, *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

3.4. PEMF maruziyetinin kaspaz-8 protein ekspresyonuna etkisi

Hücre gruplarındaki kaspaz-8'in protein ekspresyonu Western-Blot tekniği ile belirlenmiş, elde edilen veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test ile analiz edilmiştir. 48 saat PEMF'ye (50 Hz, 1.0 mT) maruz kalan SK-N-SH hücre hattında (Grup III) kaspaz-8 proteininin ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna (Grup I) ve PEMF maruziyetinin olmadığı SK-N-SH nöroblastoma hücre hattı grubuna (Grup II) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek ($p \leq 0.001$, sırasıyla) olduğu bulunmuştur (Şekil 5). Ayrıca, kaspaz-8 proteininin ekspresyon seviyesi SK-N-SH nöroblastoma hücre hattında HEK293t sağlıklı kontrol hücreye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ($p \leq 0.05$) (Şekil 5). Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde, SK-N-SH nöroblastoma hücre hattında başlatıcı kaspaz olarak bilinen kaspaz-8 mRNA seviyesindeki artışa benzer şekilde protein seviyesinde ki artış bu hücre hattında apoptozun indüklendiğini ve hücre hattının uzun süreli PEMF maruziyetine bırakılmasının yine kaspaz-8 mRNA seviyesindeki artışa benzer şekilde protein seviyesinde daha fazla artışa neden olarak apoptozun ektrensek mekanizmasında olası etkisinin olabileceğini göstermiştir.



(a)



Şekil 5. (a) Hücre gruplarında kaspaz-8 proteini için elde edilen immünoreaktif protein bantlarının internal standard protein olan β -aktin ile birlikte gösterimi, **(b)** Kaspaz-8 proteini ekspresyon düzeylerinin β -aktine orantısal relatif değerlerinin (ortalama \pm SD) hücre gruplarında karşılaştırmalı olarak gösterimi. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One- Way ANOVA) ile değerlendirilmiş, çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test kullanılmıştır. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

4. Sonuç ve Yorum

Literatürde, 100 Hz, 100 G ve 50 Hz, 70 G gibi farklı frekans ve dalga boyunda düşük frekanslı elektromanyetik alanların (ELF-EMA) U-87, T98G, U-138 glioblastoma hücre hatlarına kemoterapötik ilaçlarla birlikte farklı sürelerde uygulanmasının hücre canlılığını değiştirdiği, kanserli hücre proliferasyonunu engellereyerek apoptozu indüklediği raporlanmıştır [18,19]. Ayrıca, statik manyetik alanların (SMF), farklı frekanstaki radyo frekansların (900 MHz, 2.1 GHz RF) farklı sürelerde (gün, saat) maruziyetinin kanser hücrelerinde (meme kanseri, kemik kanseri, cilt kanseri, beyin kanseri hücreleri gibi) apoptoz üzerine etkilerinin farklı yöntemlerle (akış sitometrisi, immünohistokimya, DNA fragmentasyonu) araştırıldığı *in vitro* çalışmalar da mevcuttur [20,21,22,23]. Ancak pulse-darbeleri şeklinde yayılan düşük frekanslı elektromanyetik alanların apoptoz üzerine etkilerinin direkt olarak değerlendirildiği çalışmalar kısıtlıdır. Özellikle, belirli bir frekans ve dalga boyunda PEMF'ye belirli sürede maruziyetin kötü huylu çocukluk dönemi beyin tümörü olan nöroblastoma üzerinde apoptoz etkilerinin incelendiği çalışmalar yok denecek kadar azdır. Çalışmamızda, insan nöroblastoma hücre hattı 48 saat boyunca 50 Hz frekans, ve 1.0 mT yoğunluğunda PEMF'ye maruz bırakılarak maruziyetin hücre canlılığına, apoptozun indüklenip indüklenmediğine ve apoptozun ektrensek yolağında kilit rol oynayan kaspaz-8'in gen ve protein ekspresyonuna etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar, PEMF gibi darbeleri şeklinde yayılan düşük frekanslı elektromanyetik alanlara uzun süreli maruziyetin hücreleri kesikli ve periyodik olarak uyararak nöroblastoma hücre proliferasyonunu azalttığını ve apoptozu indüklediğini göstermiştir. PEMF maruziyetinin apoptotik etkisi ile hücre çoğalmasının uyumlu olduğu bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları, kanser tedavisinde kullanılan ilaçlarla birlikte farklı frekans (1Hz, 50 Hz, 100 Hz, 125 Hz, 200 Hz, 275 Hz) ve dalga boyuna (10 G, 50 G, 70 G, 100 G, 1000 G) sahip düşük frekanslı elektromanyetik alanların (ELF-EMA), statik manyetik alanların (SMF), farklı frekanstaki radyo frekansların (900 MHz, 2.1 GHz RF), farklı frekans (1Hz,

50 Hz, 100 Hz) ve dalga boyunda (50 G, 70 G, 100 G, 100 G) PEMF'nin, farklı sürelerde (gün, saat) maruziyetinin kanser hücrelerinde (meme kanseri, kemik kanseri, cilt kanseri, beyin kanseri hücreleri gibi) hücre proliferasyonunu azalttığını, apoptozu indüklediğini gösteren *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur [18,19,20,21,22,23,24,25]. Kaspaz-8 apoptozun ekstrensek yolağında önemli rol oynayan ve kanserin oluşumu, gelişimi ve tedavisi ile ilişkili olan önemli bir kaspazdır [26,27,28,29]. Kaspaz-8'in aktifleşmesi, kaspaz kaskadını aktifleştirerek apoptozu başlatır ve proenzim halindeki efektör kaspazların (kaspaz-3,6,7) aktifleşmesine ve hücrenin ölüme doğru gitmesine ya da apoptozun intrinsek yolağa ilerlemesine neden olacak bir seri kaskadın tetiklenmesine yol açar [26,27,28,29]. Tüm bu bilgiler ışığında, PEMF'ye uzun süre maruz kaldıktan sonra insan nöroblastoma hücre hattında kaspaz-8 mRNA seviyesinin ve protein ekspresyon düzeyinin daha fazla artması gözlemlenen bu etki için olası bir yol önermekte ve PEMF maruziyetinin apoptozun ekstrensek yolağında olası etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Nöroblastoma hücresi dahil beyin kanseri hücrelerinde PEMF ile apoptoz arasındaki ilişki ve bu etkinin altında yatan apoptotik mekanizmaların aydınlatılması apoptotik yolda yer alan çok sayıda molekülün inceleneceği daha ileri çalışmaları gerektirmektedir. Çalışmamız kolay uygulanabilir, non-invazif, güvenli bir teknik olan PEMF maruziyetinin farklı frekans, yoğunluk, doz, genlik, ve farklı maruziyet süreleri gibi değişik parametrelerle direkt veya kematerapötik ilaçlarla birlikte sadece beyin kanseri hücreleri değil farklı kanser hücreleri (meme kanseri, kemik kanseri, cilt kanseri gibi) ve farklı dokularda apoptotik süreçlere etkilerinin inceleneceği çok çeşitli klinik uygulamaların ve alternatif tedavi yöntemlerinin önünü açmaktadır. Çalışmanın sonuçlarının PEMF maruziyeti ile aktive edilen çeşitli biyolojik ve fizyolojik süreçlere odaklanan ileriki çalışmalara ışık tutacağına inanıyoruz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Ç. G. Saraç: Kavramsallaştırma, Araştırma, Kaynak/Materyal/Malzeme Temini, Metodoloji, Denetim/Gözlem/Tavsiye, İnceleme ve Düzenleme, Veri Analizi, Doğrulama, Biçimsel Analiz, Orjinal Taslak Yazımı, Proje Yönetimi; **E. Çetin:** Araştırma, Metodoloji; **S. Karakurt:** Metodoloji, Denetim/Gözlem/Tavsiye, İnceleme ve Düzenleme.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Numarası: FYL-2022-5915). PEMF devre kurulumunda desteklerinden dolayı Prof. Dr. Şükrü Özen'e ve hücre canlılığının tespiti aşamasında yardımlarından dolayı Doktora öğrencisi İrem Durmuş'a teşekkür ederiz.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] H. Wang and X. Zhang, "Magnetic fields and reactive oxygen species," *Int. J. Mol. Sci.*, 18(10), 2175-2017. doi: 10.3390/ijms18102175.
- [2] T. Oda and T. Koike, "Magnetic field exposure saves rat cerebellar granule neurons from apoptosis *in vitro*," *Neurosci. Lett.*, 365(2), 83-86, 2004. doi: 10.1016/j.neulet.2004.04.068.
- [3] A. Krath, T. Klüter, M. Stukenberg, P. Zielhardt, H. Gollwitzer, N. Harrasser, J. Hausdorf, M. Ringeisen, and L. Gerdesmeyer, "Electromagnetic transduction therapy in non-specific low back pain:

- A prospective randomised controlled trial,” *J. Orthop.*, 14(3), 410-415, 2017. doi: 10.1016/j.jor.2017.06.016.
- [4] M. Vadalà, A. Vallelunga, L. Palmieri, B. Palmieri, J. C. Morales-Medina, and T. Iannitti, “Mechanisms and therapeutic applications of electromagnetic therapy in Parkinson's disease,” *Behav. Brain Funct.*, 11, 26, 2015. doi: 10.1186/s12993-015-0070-z.
- [5] E. Capelli, F. Torrisi, L. Venturini, M. Granato, L. Fassina, G. F. D. Lupo, and G. Ricevuti, “Low-frequency pulsed electromagnetic field is able to modulate miRNAs in an experimental cell model of Alzheimer's disease,” *Journal of Healthcare Engineering*, (5-6), 1-10, 2017.
- [6] M. Markov, “XXIst century magnetotherapy,” *Electromagn. Biol. Med.*, 34(3), 190-196, 2015.
- [7] M. O. Mattsson, and M. Simkó, “Emerging medical applications based on non-ionizing electromagnetic fields from 0 Hz to 10 THz,” *Medical Devices: Evidence and Research*, 12, 347-368, 2019.
- [8] S. Gessi, S. Merighi, S. Bencivenni, E. Battistello, F. Vincenzi, S. Setti, M. Cadossi, P. A. Borea, R. Cadossi, and K. Varani, “Pulsed electromagnetic field and relief of hypoxia-induced neuronal cell death: The signaling pathway,” *J. Cell Physiol.*, 234, 15089-15097, 2019.
- [9] C. Daish, R. Blanchard, K. Fox, P. Pivonka, and E. Pirogova, “The application of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) for bone fracture repair: past and perspective findings,” *Annals of Biomedical Engineering*, 46(4), 525-542, 2018.
- [10] B. Strauch, C. Herman, R. Dabb, L. J. Ignarro, and A. A. Pilla, “Evidence-based use of pulsed electromagnetic field therapy in clinical plastic surgery,” *Surgery Journal*, 29(2), 135-143, 2009.
- [11] T. Şimşek, S. Karakurt, and Ç. Gökçek Saraç, “Yüksek doz hidrojen peroksit ile muamele edilen insan nöroblastoma hücre hattında darbeli elektromanyetik alan maruziyetinin glutatyon miktarına etkisi,” *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 17(1), 146-154, 2022. doi: 10.29233/sdufeffd.1029835.
- [12] F. Vincenzi, A. Ravani, S. Pasquini, M. Merighi, S. Gessi, S. Setti, R. Cadossi, P. A. Borea, and K. Varani, “Pulsed electromagnetic field exposure reduces hypoxia and inflammation damage in neuron-like and microglial cells,” *Journal Cellular Physiology*, 232, 1200-1208, 2017.
- [13] S. Falone, N. Marchesi, C. Osera, L. Fassina, S. Comincini, M. Amadio, and A. Pascale, “Pulsed electromagnetic field (PEMF) prevents pro-oxidant effects of H₂O₂ in SK-N-BE (2) human neuroblastoma cells,” *International Journal of Radiation Biology*, 92(5), 281-286, 2016.
- [14] S. Goldar, M. S. Khaniani, S. M. Derakhshan, and B. Baradaran, “Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment,” *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 16(6), 2129-2144, 2015. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.6.2129.
- [15] G. Atagün, Z. Eren, and İ. Gürkanlı, “Apoptoziste mitokondrinin rolü,” *Türk Blimisel Derlemeler Dergisi*, 4(2), 49-53, 2011.
- [16] G. Pistritto, D. Trisciuglio, C. Ceci, A. Garufi, and G. D'Orazi, “Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies,” *Aging (Albany NY)*, 8(4), 603-619, 2016. doi: 10.18632/aging.100934.
- [17] A. W. Roberts, J. F. Seymour, J. R. Brown, W. G. Wierda, T. J. Kipps, S. L. Khaw, D. A. Carney, S. Z. He, D. C. S. Huang, H. Xiong, Y. Cui, T. A. Busman, E. M. McKeegan, A. P. Krivoshik, S. H. Enschede, and R. Humerickhouse, “Substantial susceptibility of chronic lymphocytic leukemia to BCL2 inhibition: results of a phase I study of navitoclax in patients with relapsed or refractory disease,” *Journal of Clinical Oncology*, 30(5), 488-496, 2011. doi: 10.1200/JCO.2011.34.7898.2011.
- [18] Z. Akbarnejad, H. Eskandary, L. Dini, C. Vergallo, S. N. Nematollahi-Mahani, A. Farsinejad, M. F. S. Abadi, and M. Ahmadi, “Cytotoxicity of temozolomide on human glioblastoma cells is enhanced by the concomitant exposure to an extremely low-frequency electromagnetic field (100Hz, 100G),” *Biomed. Pharmacother.*, 92, 254-264, 2017. doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.050.
- [19] M. Amiri, M. Basiri, H. Eskandary, Z. Akbarnejad, M. Esmaeeli, Y. M. Ardakani, and M. Ahmadi-Zeidabadi, “Cytotoxicity of carboplatin on human glioblastoma cells is reduced by the concomitant exposure to an extremely low-frequency electromagnetic field (50 Hz, 70 G),” *Electromagnetic Biology and Medicine*, 37(3), 138-145, 2018. doi: 10.1080/15368378.2018.1477052.
- [20] T. Mercantepe, L. Tümkaya, M. F. Gökçe, Z. S. Topal, and E. Esmer, “900 MHz elektromanyetik alanın serebellum üzerine etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi,” *Med. Bull. Sisli Etfal Hosp.*, 52(2), 129-134, 2018.
- [21] M. Z. Tuysuz, H. Kayhan, A. S. Yar-Saglam, E. U. Bagriacik, M. Yagci, and A. G. Canseven, “Cep telefonu maruziyetinden kaynaklanan radyofrekans elektromanyetik alanın apoptoz üzerine etkisi,” *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 16(1), 123-129, 2019.
- [22] M. Barati, H. Fahimi, L. Farahmand, and A. Madjid-Ansari, “1Hz 100mT electromagnetic field induces apoptosis in breast cancer cells through up-regulation of P38 and P21,” *Multidisciplinary Cancer Investigation*, 4(1), 23-29, 2020. doi: 10.30699/acadpub.mci.4.1.23.
- [23] A. Xu, Q. Wang, and T. Lin, “Low-frequency magnetic fields (LF-MFs) inhibit proliferation by triggering apoptosis and altering cell cycle distribution in breast cancer cells,” *Int. J. Mol. Sci.*, 21(8), 2952, 2020. doi: 10.3390/ijms21082952.

- [24] J. Kaszuba-Zwoinska, K. Wojcik, M. Bereta, A. Ziomber, P. Pierzchalski, E. Rokita, J. Marcinkiewicz, W. Zaraska, and P. Thor, "Pulsating electromagnetic field stimulation prevents cell death of puromycin treated U937 cell line," *Journal of Physiology and Pharmacology*, 61(2), 201-205, 2010.
- [25] F. Pasi, L. Fassina, M.E. Mognaschi, G. Lupo, F. Corbella, R. Nano, and E. Capelli, "Pulsed electromagnetic field with temozolomide can elicit an epigenetic pro-apoptotic effect on glioblastoma T98G cells," *Anti Cancer Research*, 36, 5821-5826, 2016. doi:10.21873/anticancerres.11166.
- [26] M. Jiang, L. Qi, L. Lisha, Y. Wu, D. Song, and Y. Yanjing, "Caspase-8: A key protein of cross-talk signal way in "PANoptosis" in cancer," *Int. J. Cancer*, 149, 1408-1420, 2021.
- [27] M. Fritsch, S.D. Günther, R. Schwarzer, M.C. Albert, F. Schorn, J.P. Werthenbach, L.M. Schiffmann, N. Stair, H. Stocks, J.M. Seeger, M. Lamkanfi, M. Krönke, M. Pasparakis, and H. Kashkar, "Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis," *Nature*, 575(7784), 683-687, 2019. doi: 10.1038/s41586-019-1770-6.
- [28] D.R. McIlwain, T. Berger, and T.W. Mak, "Caspase functions in cell death and disease," *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 7(4), a026716, 2015.
- A. Bildik and İ. Bayar, "Kanserde apoptotik yolların inhibisyonu," *Turkiye Klinikleri J Vet Sci.* 9(2):42-51, 2018. doi: 10.5336/vetsci.2018-62141.

Atakum İlçesinde İnsansız Hava Aracı ile Işık Kirliliği Ölçümleri ve Değerlendirilmesi

Özgür Türk^{*1}, Metin Yavuz²

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, 55200, Samsun, TÜRKİYE
<https://orcid.org/0000-0003-2958-9640>

*yazışılan yazar: ozgurturk@outlook.com

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, 55200, Samsun, TÜRKİYE
<https://orcid.org/0000-0002-1262-9135>

(Alınış / Received: 19.12.2022, Kabul / Accepted: 13.03.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Dünya insan nüfusunun artması ve buna bağlı olarak şehirleşme yoğunluğunun artmasıyla yerleşim yerleri hızlıca aydınlatılmakta, sonucunda da tüm Dünya’da geceleyin gök parlaklığı yani ışık kirliliği artmaktadır. Işık kirliliğinin hava kirliliği, insan sağlığı, ekolojik çevre, astronomi ve ekonomi konularında birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır. Bu kapsamda, geceleyin gök parlaklığı ölçümleri toplumsal farkındalık ve kaliteli aydınlatma politikaları bakımından gezegenimiz için oldukça önem taşımaktadır. Bu çalışmada, Samsun ilinin Atakum İlçesi’nde bulunan 81 km² alan içinde yer alan 55 farklı bölgenin yapay aydınlatmadan kaynaklanan ve uzaya giden yani aydınlatmada kullanılmayan ışık enerjisi miktarı ölçülmüştür. Ayrıca, çalışmada insansız hava aracına monte edilen Gök Parlaklığı Ölçer (SQM) cihazıyla yeryüzünden 50 m yükseklikten gök parlaklığı verileri toplanmıştır. Çalışmada alınan veriler ve coğrafi koordinatlar kullanılarak, haritalama yazılımı ile bölgenin tematik eş parlaklık haritası oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda atmosferden uzaya giden ve doğrudan aydınlatmada kullanılmayan 53,37 milyon lümen/yıl ışık akısı bulunmuştur. Bu enerji Atakum’da her ay ortalama 2094 ailenin elektrik ihtiyacına karşılık gelmektedir.

Anahtar kelimeler: Yapay aydınlatma, Işık kirliliği, Dış aydınlatma, İnsansız hava aracı, Gök parlaklığı haritası.

Light Pollution Measurements and Evaluation by Unmanned Aerial Vehicle (UAV) in Atakum

Abstract: With the increase in the world's human population and the corresponding increase in urbanization density, settlements were quickly illuminated. As a result, the night sky brightness, that is, light pollution, is increasing all over the world. Light pollution has many negative effects on air pollution, human health, ecological environment, astronomy, and economy. In this context, measurements of sky brightness at night are very important for our planet. In this study, the amount of light energy escaping into space due to artificial lighting at nighttime was measured from 55 regions covering an area of 81 km² in the Atakum district of Samsun. Previously, measurements of sky brightness were made near light sources from the earth. In this study, the Sky Quality Meter (SQM) device was mounted on the unmanned aerial vehicle (UAV) and used to measure the sky brightness at 50 m above the ground. By using the data measured by the SQM device and the geographical coordinates, a thematic iso-luminance map was created with the mapping software. With the obtained sky brightness values and surface area values, the total luminous flux emitted from the atmosphere to the space and cannot be used in lighting was found to be 53.37 million lumens. This energy corresponds to the electricity needs of 2094 families in Samsun every month.

Key words: Artificial lighting, Light pollution, Outdoor lighting, Unmanned aerial vehicle (UAV), Light pollution map.

1. Giriş

Günümüzde ışık kirliliği; hava kirliliği, su kirliliği, gürültü kirliliği gibi çevre kirlilikleri gibi her geçen gün artış gösteren önemli bir çevre sorunudur. Işık kirliliği [1]'e göre özellikle dış aydınlatma kaynaklarının yanlış yerde, yanlış yönde, yanlış miktarda ve yanlış zamanda kullanılmasıdır. Işık Kirliliği kavramı yaygın olarak kullanılmaktayken foton kirliliği, ışıklı kirlilik gibi kavramlar özünde geceleyin yapay aydınlatma ile oluşan gök parlaklığını temsil etmektedir. Bir ortamda aşırı aydınlatma verimsiz aydınlatmaya sebep olmaktadır [1]. Elektromanyetik spektrum göz önünde bulundurulduğunda ışık kirliliğine sebep olan elektromanyetik dalgalar 400 nm ile 700 nm görünür dalga boylarını kapsar. Birçok doğa ve çevre bilimci ile tıp araştırmacısı ışık kirliliğini son yıllarda en hızlı artan çevre kirliliklerinden olduğunu düşünmektedir. Işık kirliliği alanındaki bilimsel araştırmalar ışık kirliliğinin; canlılar, enerji, gökbilim, hava kirliliği, iklim değişimi gibi alanlarda kalıcı olumsuz etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır [2]. Dış aydınlatmanın yanlış kullanımı sadece enerji kaynaklarının boşa kullanılması değil aynı zamanda insan sağlığı ve diğer canlılara, çevremize ve güvenliğimize de olumsuz yönde etkileri vardır [3-6].

1.1. Işık kirliliğinin enerji boyutu

Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nin yüzde 99'u gibi büyük bir alanı ve gezegenimizin yüzde 80'i, ışık kirliliğinin olumsuz etkilerine maruz kalmaktadır [7]. Dünyadaki artan insan nüfusu ve buna bağlı olarak şehirleşme hızı ile dünyada daha çok enerjiye ihtiyaç olduğu açıktır. Aydınlatma için kullanılacak enerji ülkelerin enerji dağıtım ve enerji kullanımı politikalarını belirlemede önemli yere sahiptir. Işık kirliliğinin neden olduğu gök parlaklığı ölçümleri uzaydan ve yeryüzünden olmak üzere iki türlü yapılmaktadır.

Küresel olarak, 2022 yılında VIIRS (Visible Infrared Imaging Radiometer Suite) uydusundan alınan verilere göre uzaya giden ışığın en az 50 milyar dolarlık bir enerji maliyeti bulunmaktadır. Bu ışık miktarı küresel sera gazı emisyonlarının yüzde 1 kadar olduğu tahmin edilmektedir [8]. 1997 yılında Türkiye için uydu görüntüleri kullanılarak elde 120 MkWh olduğu ve bunun 2000 yılındaki değeri 6 milyon TL olarak hesaplanmıştır. Eskişehir'de yapılan bir çalışma ile 2018 yılı için yıllık ışık kirliliğinin maliyetinin tüm Türkiye'de yaklaşık olarak 300 milyon TL olarak hesaplanmıştır [9].

Ülkemizde yer yüzünden yapılan ilk gök parlaklığı ölçüm çalışması Eskişehir şehir merkezinde 2012 yılında gerçekleştirilmiştir. Eskişehir şehir merkezi için yanlış aydınlatmadan dolayı ışık kirliliğinin maliyeti yıllık 155.000 Euro olarak saptanmıştır [10]. Bursa'nın Nilüfer ilçesinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise 2017 yılı için ışık kirliliğinin maliyeti 1.74 milyon TL olarak hesaplanmıştır [11]. 2019'da Malatya şehir merkezi ve çevresinde yapılan bir çalışmada yıllık boşa harcanan enerji miktarı yıllık 3.6 milyon TL'dir [12].

Gök parlaklığı verilerinin insansız hava aracı ile otonom olarak erişilmesi zor olan yerlerde SQM cihazıyla verilerin hızlıca toplanması ilk kez Asley Fuller tarafından yapılmıştır [13].

LED ve LED'e bağlı teknolojilerin kullanıldığı aydınlatmalar son yıllarda düşük maliyetli olması açısından aydınlatmada kullanımı artmış ve yaygınlaşmıştır. Ancak, LED kullanım yöntemleri ülkemizde ve dünyada LED kullanımı kaynaklı ışık kirliliğini arttırmıştır. Bu durum hem çevreye zarar vermiş hem de ülke ekonomisini olumsuz etkilemiştir [9].

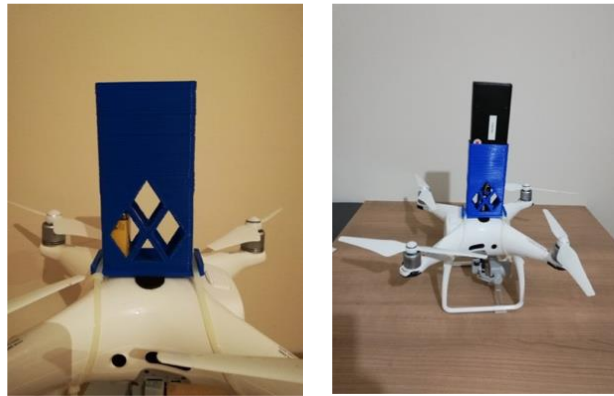
2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Bu çalışmada geceleyin dış aydınlatma kaynaklı oluşan gökyüzü parlaklığını ölçmek için SQM (Sky Quality Meter) cihazı ve verileri yerden belirli yükseklikten toplamak için insansız hava aracı (İHA) kullanılmıştır. SQM, açık alanların ışıklandırma seviyesini ölçmek için kullanılan bir cihazdır. SQM cihazı, bir fotoğraf makinesinin lensine benzer bir yapıya sahip ve aydınlatma seviyesini ölçmek için kullanılır. Ölçüm yapılacak yere cihaz tutularak, cihazın ekranındaki değerler okunur. Çalışmada sürecinde SQM cihazının gelişmiş modeli olan SQM-LU-DL kullanılmıştır. SQM cihazı görüş alanında olan ışık miktarını ölçmektedir. Gökyüzünde açı saniye kare başına düşen ışık şiddeti SQM cihazıyla ölçülmektedir. SQM cihazı mikrodenetleyici aracılığıyla sensöre düşen ışık enerjisini SQM cihazının metin çıktısına kadir/açısanıye² birimine çevirir. Kullanılan SQM cihazının fotoğrafı Şekil 1’de ve insansız hava aracına monte edilmiş hali Şekil 2’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan insansız hava aracı hem gök parlaklığı ölçerini (SQM) hem de gök parlaklığı ölçeri adaptörünü taşıyabilecek niteliktedir. Cihazı taşıyan adaptör ve SQM’nin toplam kütlesi 280 gram’dır. Çalışma alanı olarak Samsun’un Atakum ilçesi seçilmiştir. Toplanan veriler Mart 2019 ile Mayıs 2019 dönemini içermektedir. Veri toplanan her noktadan alınan veri setlerinin ortalaması alınmış, QCIS haritalama yazılımı ve enterpolasyon yöntemlerinden olan Krigging metoduyla çalışma yapılan alanın eş parlaklık haritası oluşturulmuştur.



Şekil 1. Örnek şekil gösterimi ve isimlendirmesi



Şekil 2. İHA ve adaptif SQM cihazı

2.2. Metot

Öncelikle gök parlaklığı verilerinin toplanacağı Samsun ili Atakum ilçesi harita üzerinde 1x1 km'lik gridlere ayrılmıştır. SQM-LU-DL cihazı ölçüm yapılması planlanan alandaki veri noktalarının GPS koordinatları harita üzerinde belirlenmiştir. Bu veri noktaları seçilirken nüfus yoğunluğu dikkate alınmış ve gök parlaklığı kaynaklarının yoğunluğuna göre yerleşim yerleri tercih edilmiştir. Gece yerleşim yerlerinde veri toplarken Grid merkezleri yoğun bina bölgesine denk gelmiş ise 200 m'lik bölge içinde park veya boş alanlar veri toplamak için tercih edilmiştir. İnsansız hava aracı ile her bir veri noktasından yerden 50 m yükseklikten 5 saniye aralık olacak şekilde 10 adet ölçüm verisi toplanmıştır. Her ölçüm noktasından toplanan verilerin ortalama gök parlaklık değerleri alınarak gök parlaklığı haritasına kaydedilmiştir. Ayrıca, veri noktasında yerden 50 m yükseklikten 4K çözünürlükte fotoğraflar alınmıştır. SQM cihazı topladığı ışık enerjisini kadir/açısıaniye² cinsinden ölçer ve cihaz bu değeri yeryüzünün normaliyle 20 derecelik koni içinde kalan alandan toplar. SQM cihazının topladığı veri değeri “m” ile gösterilir. “m” değeri kullanılarak Eş.1 ile kandela/ metre² (cd/m²) hesaplanabilir.

$$L = 10,8 \times 10^4 \times 10^{-0,4m} \quad (1)$$

Bu değerden yola çıkılarak ışık akısı Eş.2'deki aydınlanma denklemi ile hesaplanabilir.

Aydınlanma (ışık akısı) – lümen/metre² (lm/m²).

$$E = L \Omega = 10,8 \times 10^4 \times 10^{-0,4m} \times \iint \sin\theta \, d\theta d\varphi \quad (2)$$

Eş. 2, SQM cihazının görüş konisiyle gelen ışığın aydınlanma değerini içerir. Tüm uzayı gören açı değeri 4π steradyandır. Ancak ufuk çizgisinin üst bölgesi düşünüldüğünde uzayı gören açı değeri gökyüzü parlaklığının tüm açı ve yönlerde aynı olduğu durumda Eş. 4 ile yardımıyla 2π olarak bulunur.

$$\Omega = \iint \sin\theta d\theta d\varphi = \int_{\varphi_1}^{\varphi_2} \int_{\theta_1}^{\theta_2} \sin\theta d\theta d\varphi \quad (3)$$

$$\Omega = \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^{\pi} \sin\theta d\theta = 2\pi \quad (4)$$

Gök parlaklığı haritasındaki eş parlaklık eğrilerinden yola çıkılarak her bir gök parlaklığı değerine denk gelen alan değerleri bulunmuştur. Minimum toplam ışık akısını hesaplayabilmek için tüm açı ve yönlerde aynı gök parlaklığı durumu için Eş.2'de bulunan ışık akısı değerlerinin yüzey alanlarının Eş.5 ile hesaplanması gerekir. Eş.5'te A_i; i'ninci bölgenin yüzey alanı, E_{oi} ise Eş.2'de gösterildiği gibi i'inci alanın aydınlanması olarak tanımlanmıştır [9].

$$\Phi_{oi} = E_{oi} A_i \quad (5)$$

Gök parlaklığı haritasından alanları farklı n tane eş-parlaklık yüzeyi elde bulunmuştur.

$$\Phi_{\text{toplam,min}} = \Phi_0 = \sum_{i=0}^n E_{oi} A_i \quad (6)$$

Toplanan gök parlaklığı değerleriyle hesaplanan aydınlanma ve ölçüm yapılan yerlerin alanları ile yapılan konumlar için toplam ışık akısının en düşük lümen cinsinden değeri Eş.6 ile elde edilir.

SQM cihazı yerden uzaya giden ışık miktarı değil yeryüzündeki yapay aydınlatmaların atmosferin farklı katmanlarından yansıyan ve saçılan ışık miktarını ölçer. Daha önce yapılan çalışmalarda gök parlaklığı için atmosfer geçirgenliği yüzde 73 olduğuna göre uzaya giden ve atmosferden geri saçılan ışık kaybı, ölçülen değer 3.7 katıdır [9]. Zenit ile ufuk düzlemi arasındaki açı değişimi hesaba katılırsa bir bölgenin aydınlanmasını hesaplamak için Eş.2'deki katsayı ile çarpılmalıdır.

Bu “k” katsayısı açığa bağlı bir değer ve Eskişehir ilinde 2013 yılında [10] ve Bursa'nın Nilüfer belediyesinde 2018'de [11] yapılan gök parlaklığı ölçüm çalışmalarında 4 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada aynı “k” katsayısının bu değeri Eş.7 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$E = k E_0 \quad (7)$$

3. Bulgular

3.1. Kaybolan enerji

Bu çalışmada Atakum ilçesinde önceden belirlenen 55 farklı bölge için SQM cihazıyla gök parlaklığı verileri toplanmıştır. SQM cihazı topladığı ışık miktarının kadir/açısıaniye² vermektedir. 55 bölgeyi kapsayan çalışma alanındaki bölgelerden toplanan veriler Eş.1 ile hesaplanan toplam gök parlaklığı değeri 35.7318778 cd/m² bulunmuştur.

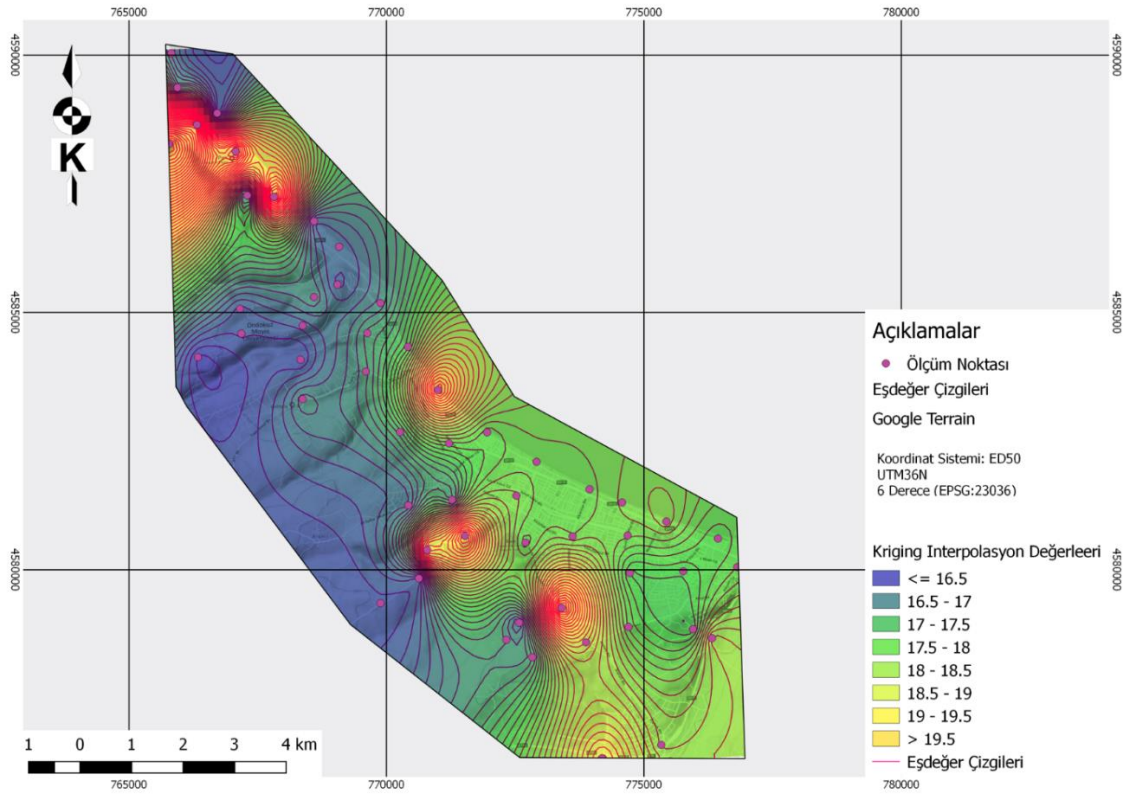
Ölçüm cihazının gökyüzünde tepe bölgesindeki 20 derecelik görüş açısı göz önüne alındığında Eş.4'te bulunan değer ile toplam aydınlanma değeri 224.5 lm/m²'dir. Çalışma alanının toplam ışık akısı ise Eş.6 ile 3538625 lm bulunur. Elde edilen değerler hesaplandığında Atakum ilçe sınırları içerisinde 81407793 m²'lik yer kaplayan 55 bölgeden toplanan 5142 adet gök parlaklığı verileri hesaplandığından uzaya giden ışık akısı 52.37 milyon lümen olarak bulunmuştur. Bulunan sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Atakum İlçesi Işık Gök Parlaklığı Verileri

	L (Cd/m ²)	Alan(m ²)	Cd	E (lümen/m ²)	Lümen	Açıya ve atmosfer geçirgenliğine bağlı (Lümen)
Toplam	35.73188	81407794	563189.7	224.5	3538626	52.37 Megalümen

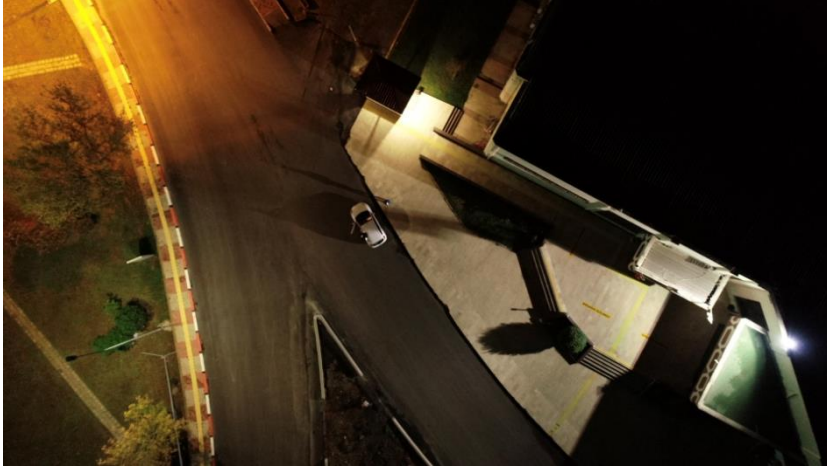
3.2. Gök parlaklığı haritası oluşturma

Tematik gök parlaklık haritası coğrafi bilgi sistemleri (CBS) kullanılarak oluşturulan haritalardır. Coğrafi Bilgi Sistemi (CBS) ile bir yerin fiziksel ve sosyal özelliklerinin bilgisayar ortamında saklandığı, işlendiği ve haritalar üzerinde görüntülediği sistemlerdir. Coğrafi Bilgi Sistemi yazılım ekosisteminde bulunan QGIS 2.8 ve Surfer-8 yazılımları ile Şekil 3'te görülen interpolasyon haritası oluşturulmuştur. Bu çalışmada toplanan 55 data seti (sayısal gök parlaklığı verileri), veri toplanan noktaların coğrafi enlem ve boylam koordinatları tabular format ile Surfer yazılımı içerisine aktarılmıştır. Ardından gök parlaklığı veri setleri ve ölçüm noktalarının koordinatları kullanılıp Krigging interpolasyon yöntemi ile tematik gök parlaklığı dağılım haritası oluşturulmuştur. Krigging interpolasyon yöntemiyle elde edilen grid haritası QGIS içerisinde açılarak, veri setinin tanımlandığı Band-1 üzerinde; düşük değerler (yüksek parlaklık) koyu tonlara ve yüksek değerler (düşük parlaklık) açık tonlar olacak şekilde renklendirilmiştir. Veri seti dağılımının net olarak görselleştirilmesi için 0,5 birim aralıklarla eş parlaklık eğrileri oluşturulmuştur.



Şekil 3. Atakum İlçesi Gök Parlaklığı Haritası

Çalışmada Şekil 4 ve 5'te gibi gök parlaklığı ölçüm noktalarının yerden 50 m yükseklikten yeryüzü fotoğrafları yüksek çözünürlükte çekilmiştir. Bu görseller tüm ölçümlerin ortalaması 18.88 kadir/açısanıye² alındığında çalışmanın genelini yansıtan görseller olarak değerlendirilebilir.



Şekil 4. Kongre Kültür Merkezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi (19,56 kadir/açı saniye²)

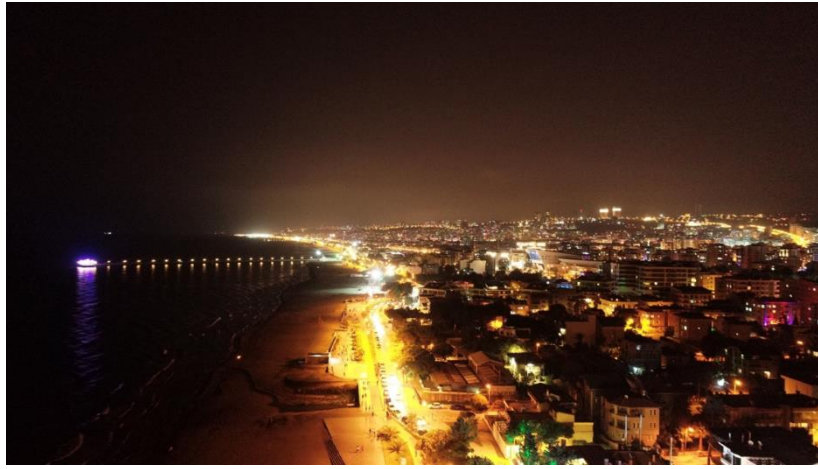


Şekil 5. Çobanlı İskelesi, Atakum (18,22 kadir/açı saniye²)

Atakum ilçesi gök parlaklığı haritası göz önünde alındığında Şekil 3'teki gibi 4 bölgede gök parlaklık değerlerinin yüksek olduğu gözükmemektedir. Haritadaki gök parlaklığı en büyük değer 14.5 kadir/açı saniye² ile Samsun-Sinop karayolu üzerinde bulunan ve haritada sol üst köşede bulunan bölgedir. Buradaki ölçüm noktasındaki değer tek lokal aydınlatmadan değil birçok aydınlatmanın katkısıyla ortaya çıkmıştır. Şekil 4'teki ölçüm noktasında yine çevresel aydınlatmalar gök parlaklığına neden olmuştur. Hem deniz kenarında hem de Samsun-Sinop karayolu yakınında bulunan bölge Şekil 5'te ise çok sayıda ticari işletmenin aydınlatması mevcuttur. Şekil 6'da ise bölgede bulunan yüksek katlı ve LED aydınlatmalarla sarmalanan binalar gök parlaklığına olumsuz yönde katkı sağlamaktadır.



Şekil 6. LED Aydınlatma ile Donatılmış Çok Katlı Binalar, Atakum (16,05 kadir/açısanıye²)



Şekil 7. Atakum Doğu Cephesi (Atakum)

Şekil 7’de ilçenin doğusunda bulunan Samsun ili şehir merkezinin gök parlaklığı gösterilmiştir. Şehir merkezindeki sokak lambaları, yol aydınlatmaları, bina aydınlatmaları, reklam tabelaları gibi aydınlatmalardan kaynaklanan gök parlaklığı fonu doğu ufkunda açıkça görülmektedir.

4. Sonuç ve Yorum

Son yıllarda dünya genelinde yanlış aydınlatmalardan kaynaklanan ışık kirliliği artmakta ve dünyanın karanlıkta olan bölgesinin yüzde 2’si aydınlatmıştır. Dünya’da LED aydınlatma teknolojilerinin yaygınlaşması yerelde kullanılan sokak aydınlatmaları, yol ve köprü aydınlatmaları, reklam tabelaları ve dış yapı aydınlatmalarının yanlış kullanımı sonucu ışık kirliliği belirgin şekilde artmaktadır. Bu çalışma Karadeniz bölgesinin en kalabalık kenti olan Samsun ilinin gelişmekte olan Atakum İlçesi’nde nüfusun yoğun olduğu bölge seçilerek yapılmıştır. Çalışma için seçilen 55 adet bölge toplamda 1000 m²’lik bir alanı kapsamaktadır. 55 bölgenin her birinin ortalarına yakın konumlardan döner kanatlı insansız hava aracı ile yeryüzünden 50 m yüksekten parlaklık verisi toplanmıştır. Toplanan gök parlaklığı verileri analiz edilerek ölçüm yapılan alanda yapay aydınlatmalardan kaynaklanan gök parlaklığı Şekil 3’te tematik eş parlaklık haritasıyla gösterilmiştir.

Atakum içerisinde nüfusun yoğun olduğu yerleşim yerlerinden seçilen 55 bölgeden toplanan verilerle 1kmx1km’lik grid alanların toplamı 81.4 km²’lik alanda toplam 52.37 milyon lümen ışık akısının uzaya saçıldığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada dış aydınlatmalar için kullanılan lambaların ortalama etkinlik değeri olarak 100 lm/W seçilmiş ve toplam kaybolan ışık akısı 52.37 Mlm ile bu değerin 523.7 kW güce karşılık gelmekte olduğu bulunmuştur. Dış aydınlatmaların gün içinde 12 saat aydınlatma yaptığı hesaba katıldığında kayıp miktarı 188.532 kWh olarak bulunmuştur. Bulunan bu değer için 2019 yılı Mayıs ayında birim fiyatı 0.79 TL/kWh olan elektrik tüketimi yıl boyunca; $(188.532 \text{ kWh/ay}) \times (12 \text{ ay/yıl}) \times (0.79 \text{ TL/kWh}) = 1.78$ milyon TL olarak bulunmuştur. Tüketimin bu boyutu bir ailenin bir aylık elektrik enerjisi tüketimi ortalama olarak 90 kWh alındığından her ay 2094 ailenin elektrik enerjisini karşılamaktadır.

Çoğu işyeri geceleyin vitrin ışıklarını, reklam tabelalarını gece boyunca açık bırakırlar. Bu durum sadece enerji kaynaklarını boşa harcamak değil aynı zamanda yapay gök parlaklığı ve doğrudan ışık kirliliğine neden olan bir durumdur.

Döner kanatlı İHA kullanarak bir bölgede gök parlaklığı çalışmaları için araştırmacılara öneriler:

- İki adet SQM ölçüm cihazıyla farklı yükseklik konumlarında gök parlaklığı ölçüm cihazı hem yukarıdan saçılan hem de aşağıdan gelen parlaklık değerleri ölçümü yapılabilir.
- Yerden aynı yükseklikte yerin normali ile farklı düşey açılarda yerin topografik etkileri kapsayacak ölçümler yapılabilir.
- Veri toplanması planlanan bölge için insansız hava aracı uçuş planını yaparken bölgenin iklim koşullarını göz önünde bulundurarak Sivil Havacılık Genel Müdürlüğünden talep edilecek uçuş izinlerinin çalışmadan önce yapılması gerekir.
- Gece boyunca olabildiğince kaliteli veri toplamak için insansız hava aracının dolu yedek bataryalarının bulundurulması gerekir.
- Tematik eş parlaklık haritası oluşturulması amaçlanan alanın çalışmaya başlamadan önce hangi enterpolasyon yöntemi kullanılacağı önceden belirlenmelidir.

Yanlış aydınlatma kaynaklı yapay gök parlaklığını azaltıcı veya azaltılmasına yönelik yasal süreçler uygulamaya konmalıdır. Kentlerin aydınlatılması konusunda mevzuatlar hazırlanırken Uluslararası Karanlık Gökyüzü Birliği (IDA), Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (CIE) gibi uluslararası kurumların görüşlerine başvurulabilir. Yine kentlerin aydınlatma planlaması yapılırken üniversitelerin ilgili bölümlerinden görüş alınabilir. Aydınlatma armatürlerinin enerji ve ışık verimliliği konusunda Elektrik-Elektronik Mühendisliklerine, estetik ve tasarım açısından Mimarlık bölümlerine, çevreye etkilerinin ve uyumu konusunda çevre mühendisliği gibi araştırma bölümlerine danışılabilir. İdeal olmayan ve çevre için uygun olmayan LED teknolojisine dayalı bina aydınlatmalarına, reklam tabelaları gibi ışık kaynaklarına uygun alternatifler geliştirilmelidir. Özellikle geceleyin mavi ışık kullanan aydınlatmaların canlı sağlığını olumsuz yönde etkilediği unutulmamalıdır.

Yerel yönetimler dış mekân aydınlatması konusunda Uluslararası Karanlık Gökyüzü Birliği tarafından önerilen aşağıdaki 5 ilkeyi yönetmelik ile hayata geçirmelidir.

- Tüm aydınlatmaların belirgin bir amacı olmalıdır.
- Aydınlatma sadece ihtiyaç duyulan yere ışıklandırılmalıdır.
- Aydınlatma ihtiyaçtan daha parlak olmamalıdır.
- Aydınlatma sadece fayda sağladığı sürece kullanılmalıdır.
- Olabildiğince sıcak renkli ışıklar kullanılmalıdır.

Işık kirliliğinin oluşturduğu olumsuz etkiler konusunda toplumda bilgi eksikliği ya da doğru bilinen yanlış kavramlar bulunmaktadır. Bu bilgilere ders kitaplarında ve ders müfredatlarında daha fazla yer tutmalıdır

Bireyler olarak;

- Doğru aydınlatma için mekâna ve mekânın kullanım amacına uygun bir ışıklandırma kullanınız.
- Kimseye faydası olmayan ışıkları söndürünüz.
- Hareket etkinliğine bağlı olarak hareket sensörü içeren aydınlatma sistemlerini kullanınız.
- Doğru aydınlatma için mekâna ve mekânın kullanım amacına uygun bir ışıklandırma kullanınız.
- Aşırı aydınlatmanın yerine yeterli aydınlatmayı kullanınız.
- İdeal ve kaliteli bir uyku süreci için karanlık bir ortamı tercih ediniz. Özellikle karanlık ortamda gece saat 02:00 ile 04:00 arasındaki uyku sırasında melatonin hormonunun en fazla salgılandığını belirlemektedirler. Geceleyin kesinlikle uyku odanızda ışık olmamalıdır.
- Özellikle gece mavi ışıktan uzak durunuz. Gerekirse mavi ışığı geçirmeyen gözlük kullanınız. Geceleyin odanızda sıcak sarı aydınlatma kullanınız. Televizyon, bilgisayar, tablet ve akıllı telefonların mavi ışıktan korumalı moda kullanınız.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Özgür Türk: Araştırma, Yazılım, Veri toplama, Doğrulama
Metin Yavuz: İnceleme, Denetim /Tavsiye, Düzenleme

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışma, PYO.FEN.1904.17.009 numaralı proje ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Ofisi tarafından desteklenmiştir. İnsansız hava aracıyla verilerin toplanması hususunda yapmış oldukları destekten dolayı Sivil Havacılık Genel Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz. Çalışma konusunun oluşmasında ve çalışma boyunca desteklerinden dolayı Doç. Dr. Bülent Aslan'a teşekkür ederiz. Verilerin haritaların görselleştirilmesi konusunda desteklerinden dolayı Aydemir Can Tekin ve Erol Gürcan'a teşekkür ederiz.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] Z. Aslan, "Işık Kirliliği", Işık Kirliliği ve Karanlık Gökyüzü Toplantısı, 2001.
- [2] R. Chepesiuk, "Missing the dark: health effects of light pollution," *National Institute of Environmental Health Sciences*, 22-27, 2009.
- [3] W. R. Briggs, "Plant photoreceptors: proteins that perceive information vital for plant development from the lighting in Ecological consequences of Artificial Night Lightning," *Ecological Consequences of Artificial Night Lighting*, 23-24, 2002.
- [4] M. Salmon, "Artificial night lighting and sea turtles," *Biologist*, 50 (4), 163-168, 2003.
- [5] C. Rich and T. Longcore, *Ecological Consequences of Artificial Night lighting*, Island Press, 2013.
- [6] J. Bennie, T. W. Davies, D. Cruse, R. Inger and K.J. Gaston, "Cascading effects of artificial light at night: resource-mediated control of herbivores in a grassland ecosystem," *Philos T. R. Soc. B*, 370 (1667), 20140131, 2015.

- [7] F. Falchi, P. Cinzano, D. Duriscoe, C. C. Kyba, C. D. Elvidge, K. Baugh, B. A. Portnov, N. A. Rybnikova and R. Furgoni, “The new world atlas of artificial night sky brightness,” *Science Advances*, 2 (6), e1600377, 2016.
- [8] R. Chepesiuk, “Missing the dark: health effects of light pollution,” *National Institute of Environmental Health Sciences*, 22-27, 2009.
- [9] B. Aslan, “*Işığın Kirliliği: Işık Kirliliği*”, Ankara: S.S. ADA Eğitim Kooperatifi, Ankara, 2018.
- [10] Z. Aslan, B. Aslan, M. Altan and S. Özdemir, “Sky brightness measurement & light pollution mapping case study: Eskişehir city center and surroundings,” *International Conference LPTMM – 2013, Light Pollution: Theory, Modelling, and Measurements*, Smolenice, Slovakia, 2013, pp. 9-18.
- [11] Z. Aslan, “Bursa İli Işık Kirliliği Araştırma Projesi”. T.C. Sağlık Kentler Birliği, Bursa Büyükşehir Belediyesi, Bursa Amatör Astronomi Kulübü, isikkirliligi.org, 2020. <https://www.skb.gov.tr/wp-content/uploads/2020/07/Bursa-BIKA-Raporu.pdf>.
- [12] A. Yılmaz and T. Özdemir, “Measurement and determination of light pollution: case study of Malatya city,” *Turkish Journal of Astronomy and Astrophysics*, 38–43, 2021.
- [13] Sciencedaily, URL: <https://www.sciencedaily.com/releases/2016/06/160627214634.htm> (Erişim Tarihi: 26.03.2019).

4-Metil Umbelliferon'un *Allium* Testi Kullanılarak; Fizyolojik, Sitogenetik, Biyokimyasal ve Anatmik Değerlendirilmesi

Dilek Çavuşoğlu*

¹Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Atabey Meslek Yüksekokulu, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, 32670, Isparta, TÜRKİYE
<https://orcid.org/0000-0002-7963-8204>

*yazışılan yazar: dilekcavusoglu@isparta.edu.tr

(Alınış / Received: 10.12.2022, Kabul / Accepted: 14.04.2023, Yayımlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Bu çalışmada, test materyali olarak *Allium cepa* L. kullanılarak çeşitli fizyolojik, sitogenetik, anatmik ve biyokimyasal parametreler üzerine dışsal 4-metil umbelliferonun (4-MU) doza bağlı etkileri araştırıldı. İncelenen fizyolojik parametreler: çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, kökçük sayısı ve taze ağırlık; sitogenetik parametreler: mikronükleus (MN) sıklığı, kromozom anormalliği (KA) ve mitotik indeks (Mİ); biyokimyasal parametreler: serbest prolin içeriği, malondialdehit (MDA) düzeyi, katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleridir. Soğan kök ucu hücrelerinde meydana gelen yapısal değişimler anatmik kesitler alınarak incelendi. Bu amaçlar için, soğanlar bir kontrol ve üç uygulama olmak üzere dört gruba ayrıldı. 7 gün süresince kontrol grubundaki soğanlar distile su ile muamele edilirken; uygulama gruplarındaki soğanlar 4-MU'nun 125 µM, 250 µM ve 500 µM dozları ile muamele edildi. 4-MU uygulaması kontrol grubuyla kıyaslandığında fizyolojik parametrelerde bir azalmaya neden oldu. Bu uygulama, KA ve MN sıklığında bir artış ile Mİ'de bir azalma meydana getirdi. Ayrıca, 4-MU muamelesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında KAT ve SOD aktiviteleri ile MDA ve serbest prolin içeriklerinde de doza bağlı olarak bir artışa neden oldu. Ayrıca, tüm 4-MU uygulamaları sonrasında, epidermis hücrelerinde MN oluşumu, epidermis ile korteks hücre deformasyonları, kortekste bazı kimyasal bileşiklerin birikmesi, belirgin olmayan iletim dokusu ve nekroz gibi kök anatmik değişimleri tespit edildi ve bu anatmik değişimlerin 500 µM 4-MU'da maksimum seviyelere ulaştığı bulundu. Sonuç olarak, 4-MU incelenen tüm parametreler üzerinde olumsuz bir etki gösterdi ve bu etkilerin izlenmesi için *Allium* test materyalinin yararlı bir biyoindikatör olabileceği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: *Allium cepa* L., Antioksidan enzimler, Çimlenme, Lipid peroksidasyonu, 4-metil umbelliferon, Sitogenetik

Using The *Allium* Test of 4-Methyl Umbelliferone: Physiological, Cytogenetic, Biochemical and Anatomical Evaluation

Abstract: In this study, the dose dependent effects of exogenous 4-methyl umbelliferone (4-MU) on various physiological, cytogenetic, anatomical and biochemical parameters using *Allium cepa* L. as test material were researched. The physiological parameters examined were germination percentage, root length, rootlet number and fresh weight; the cytogenetic parameters were micronucleus (MN) frequency, chromosome aberration (CA) and mitotic index (MI); the biochemical parameters were free proline content, malondialdehyde (MDA) level, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities. And the structural changes in root tip cells were investigated with anatomical sections. Structural changes in onion root tip cells were examined by taking anatomical sections. For these purposes, bulbs were divided into four groups as one control and three applications. The bulbs in the control group were treated with

distilled water; the bulbs in the application groups were treated with 125 µM, 250 µM and 500 µM doses of 4-MU for 7 days. 4-MU application caused a decrease in the physiological parameters compared to the control group. This treatment created an increase in the frequency of MN and CA, and a reduce in the MI. In addition, 4-MU application induced an increase as dose-dependent in CAT and SOD activities and MDA and free proline contents compared to the control group. Moreover, after all 4-MU application, anatomical changes such as MN formation in epidermis cells, epidermis and cortex cell deformations, accumulation of some chemical compounds in cortex, unclear transmission tissue and necrose were identified and these root anatomical changes were found to reach maximum levels at 500 µM 4-MU. As a result, 4-MU had a negative effect on all the investigated parameters and it was determined that the *Allium* test material could be a useful bioindicator for monitoring these effects.

Key words: *Allium cepa* L., Antioxidant enzymes, Germination, Lipid peroxidation, 4-methyl umbelliferone, Cytogenetic

1. Giriş

Fransızca bir terim olan ‘Coumarou’ olarak da bilinen kumarin ilk olarak 1820 yılında *Dipteryx odorata* Wild (tonka fasulyesi) ağacının tohumlarından doğal bir ürün olarak elde edilmiştir [1]. Bu tarihten itibaren zaman içerisinde çeşitli bakteri, mantar ve bitki türlerinden de çok sayıda kumarin izole edilmiş, kimyasal yapıları aydınlatılmış, sentetik olarak değiştirilmiş ve çeşitli biyolojik aktiviteleri için yaygın bir şekilde kullanılmışlardır [2-4]. Kumarinlerin temel yapısı (2H-1-benzopiran-2-on veya 1,2-benzopiran), bir piron halkası ile kaynaşmış benzenden oluşur ve benzopiron bileşikler ailesine aittir [5]. Kumarin halkası, birçok hedef bölgeye bağlanmayı kolaylaştıran yapısal ve fizikokimyasal özelliklere sahiptir. Kumarinlerin bu çok yönlü yapısı, çeşitli ikame grupları ve konjugatlarıyla kombinasyonlar sağlayarak biyolojik aktivitelerini etkiler. Kumarinlerin bu konjuge sistemi, elektronlar açısından zengin olmasını sağlar ve iyi yük taşıma özelliklerini oluşturur [6]. Çok farklı ve çok yönlü yapısı, kumarin ve türevlerinin tıbbi kimya, organik kimya, malzeme ve çoklu moleküler kimya alanlarında sayısız uygulamalarda kullanımına olanak vermektedir. Ayrıca parfüm, kozmetik, gıda katkı maddeleri, optik parlaticılar [7] ve boya lazerleri [8] gibi alanlarda da geniş uygulamaları vardır [9]. Kumarinlerin yüksek çözünürlükleri, stabiliteyi, yüksek biyoyararlılıkları, terapötik ve farmakolojik aktiviteleri, düşük toksisiteyi, en az derecede yan etkileri gibi avantajlı özellikleri sayesinde ilaç keşfi ve geliştirmenin çeşitli aşamalarında incelenmelerine katkı sağlamaktadır [6, 10, 11]. Kumarinlerin en yüksek konsantrasyonu meyvelerde, çiçeklerde ve tohumlarda bulunur, bunu yapraklar, kökler ve gövdeler takip eder [12, 13]. Ayrıca lavanta yağı ve tarçın kabuğu yağı gibi uçucu yağlarda da kumarinlerin varlığı tespit edilmiştir [14-16].

4-metil umbelliferon (4-MU), kumarinler sınıfına ait bir bileşik olup dikkat çekici anti-paraziter, anti-kanser ve anti-oksidan aktivitelere sahiptir. [13, 17, 18]. Kimyasal ismi 7-hidroksi-4-metilkumarin veya himekromon olan bu bileşik, anason, kimyon, maydanoz ve dereotunu içeren umbelliferos bitkilerinden (Apiaceae) elde edilir [19]. 4-MU, benzopiron heterosikl iskeletine sahiptir ve en çok araştırılan kumarin ailesinin sentetik üyelerinden biridir. Binlerce sentetik kumarin arasında çok dikkat çekmesinin nedeni bileşiğin çeşitli kanser türlerinin fototerapi ve kemoterapisindeki potansiyelinden kaynaklanmaktadır [20]. 4-MU ve türevleri ayrıca anti-fungal [21], herbisit [22], insektisit [23], akarisit [24], mollusit ve anti-helmintik [25] gibi potansiyel pestisidal kullanımları vardır [22]. Ayrıca anti-psikotik [26], anti-depresan [27], anafilaksi [28] hipoglisemik [29], anti-inflamatuar [30] ve anti-bakteriyel [31] gibi çeşitli biyolojik özelliklerinin yanında anti-anjiyogenik [19] bileşik gibi de davranırlar.

Çoğunlukla soğan olarak bilinen *Allium cepa* L. türü, son taksonomik düzenlemelere göre *Allioideae* alt familyası ile *Amaryllidaceae* familyasına aittir. *Allium* cinsi, yaklaşık 850 tür içeren en büyük monokotil cinslerinden birisidir [32]. *A. cepa* L., ek ve lifli köklere sahip, 3-8 adet dikey iki sıra halinde düzenlenmiş, mat yeşil yapraklı olan iki yıllık bir bitkidir. Soğanları, konsantrik ve genişletilmiş etli yaprak tabanlarından yapılmıştır. Dış yaprak tabanı kurur, incilir ve çeşitli renklere bürünerek koruyucu tabakayı oluşturur, iç yaprak tabanları ise soğan geliştikçe kalınlaşır. Olgun soğan, küresel, oval veya uzun olabilir ve boyutu kültivarına bağlı olarak değişkenlik gösterir [33]. *A. cepa* L., dünya çapında hem sebze hem de lezzet verici olarak kullanılan en eski kültür bitkilerinden biridir [34].

Allium testi mutajenite ve toksisite olmak üzere iki hedefi birleştirir [35]. Toksikite, kök büyüme inhibisyonu gözlemlenerek ölçülür, mutajenite ise kromozom bozukluk oranı ile ilişkilendirilir. *Allium* testinin duyarlılığı, örneğin algler veya insan lenfositlerini kullanan test sistemleriyle aynı düzeydedir. Çeşitli organizmalar üzerinde yapılan birçok test, *Allium* testinin sonuçları ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar vermiştir ve bu da *Allium* testini bir izlem testi olarak güvenilir bir test haline getirmektedir [36, 37]. Ayrıca bu test hızlı, ucuz ve hassas bir yöntemdir. Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve ABD Çevre Koruma Ajansı (USEPA) altındaki uluslararası işbirlikçi çalışmalarda çevresel kirleticilerin genetik izlenebilmesi için etkili bir test olarak onaylanmıştır [38].

Dışsal 4-MU uygulamasının çimlenme ve fide büyümesi üzerindeki etkileri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmasına rağmen, fidelerin kök ucu hücrelerindeki antioksidan enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu, serbest prolin içeriği, Mİ, KA ve MN sıklığı ve anatomik değişimler üzerindeki rolü hakkında bilgi bulunmamaktadır. Ayrıca, bahsedilen parametreler üzerine 4-MU'nun etkileri soğanda ilk kez rapor edilmiştir. Bu nedenle bu çalışmanın amacı, *A. cepa* L.'nin çeşitli fizyolojik, sitogenetik, anatomik ve biyokimyasal parametreleri üzerine 125 µM ila 500 µM arasında değişen konsantrasyonlardaki 4-MU'nun etkilerini belirlemektir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitki materyali ve kimyasal madde konsantrasyonu

Bu çalışmada Erdoğan Ekinci Limited Şirketinden sağlanan *A. cepa* L. araştırma materyali olarak kullanıldı. Deneylerde kullanılan 4-MU konsantrasyonları 125 µM, 250 µM ve 500 µM'dir. 4-MU konsantrasyonları, tespit edilen EC50 dozuna göre belirlendi. EC50 dozunun 250 µM olduğu tespit edildi. EC50 dozunun iki katı olan 500 µM'lik bir doz ile en düşük doz olan 125 µM'lik doz tercih edildi. 4-MU, Sigma-Aldrich firmasından satın alındı.

2.2. Fizyolojik değişimler ve uygulama prosedürü

Çimlenme deneyleri, bir inkübatörde, karanlıkta ve sabit bir sıcaklıkta (20°C) gerçekleştirildi. Sağlıklı ve yaklaşık olarak eşit büyüklükteki soğanlar seçildi. Bu soğanlar, 10 dakika süreyle % 2.5 sodyum hipoklorit çözeltisi ile sterilize edildi ve 24 saat süreyle ultra-damıtılmış suyla yıkandı. Bu soğanlar dört gruba ayrıldı ve her bir uygulama grubuna ait yirmi adet soğan, plastik kapların içine yerleştirildi (Tablo 1).

Tablo 1. Test grupları ve çözeltiler

Gruplar	Çözeltiler
Grup I/Kontrol	Distile su
Grup II	125 µM 4-MU
Grup III	250 µM 4-MU
Grup IV	500 µM 4-MU

Plastik kaplar, 7 gün boyunca soğanların çimlendirilmesi amacıyla bir inkübatöre konuldu. 10 mm kök uzunluğuna ulaşan soğanlar çimlenmiş kabul edildi. 7. günün sonunda, çimlenme yüzdeleri ile kökçük sayıları belirlendikten sonra fidelerin kök uzunlukları mm cinsinden ölçüldü ayrıca taze ağırlıkları g/fide cinsinden kaydedildi [39]. Tüm deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

2.3. Sitogenetik değişimlerin belirlenmesi

Birkaç gün sonra çimlenmiş *A. cepa* L. kök uçları, sitogenetik analizler için 1-1.5 cm uzunluğunda kesilerek alındı. Kesilen kök uçları, hücre bölünmesi sırasında bölünmeyi kontrol edebilecek ilk işlem çözeltisi olan doymuş para-diklorobenzen ile 4 saat ön işlemden geçirildi, gece boyunca oda sıcaklığında etanol-asetik asit (3:1) solüsyonunda sabitlendi ve kullanılıncaya kadar % 70 etanol içinde 4°C'de saklandı. Kök uçları 1 N HCl içerisinde 60°C'de 15 dakika hidroliz edildi, 1-1.5 saat Feulgen ile boyandı, bir damla % 45'lik asetik asitle parçalanarak ezildi [40]. 24 saatin sonunda, mikroskopik preparatlar balzam içine monte edilerek kalıcı hale getirildi. Mitotik fazlar ve mitotik anormallikler, Olympus CX41 mikroskobu üzerine monte edilmiş dijital kamera (Olympus C-5060) ile fotoğraflandırdı (500x). Mitotik indeks, yani sayılan bölünen hücre yüzdesi, her bir uygulama grubu başına en az 30.000 hücre (slayt başına yaklaşık 10.000 hücre) analiz edilerek değerlendirildi. Kromozomal anormallikler ise sayılan 2000 bölünen hücre yüzdesi olarak her bir uygulama grubu için hesaplandı. Mikronükleus (MN) sıklık testi, Fenech [41]'in kriterleri baz alınarak gerçekleştirildi. Buna göre:

- i- Mikronükleus hücre çekirdeğinin 1/3'ü veya daha küçük olmalıdır.
- ii- Mikronükleus yuvarlak veya oval olmalıdır.
- iii- Mikronükleus membranı, hücre çekirdeğinden açıkça ayırt edilebilir olmalıdır.

2.4. SOD ve KAT tayini

SOD ve KAT analizleri için, 0.2 g taze kök materyali toplanmış ve 5 ml soğutulmuş sodyum fosfat tamponu (50 mM, pH 7.8) ile homojenleştirildi. Bu homojenatlar 10000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmı enzim analizleri için kullanıldı. SOD aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich [42] tarafından önerilen metoda göre hesaplandı. 1.5 ml 0.05 M sodyum fosfat tamponu (pH 7.8), 0.3 ml 130 mM metiyonin, 0.3 ml 750 µM nitroblue tetrazolyum klorid, 0.3 ml 0.1 mM EDTA-Na₂, 0.3 ml 20 µM riboflavin, 0.01 ml süpernatant, 0.01 ml % 4 polivinilpirolidon ve 0.28 ml deiyonize su içeren bir reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu reaksiyon, iki adet 15 W floresan lamba altında 10 dakika süreyle tüplerin tutulmasıyla başlatılmış ve daha sonra tüpler karanlıkta 10 dk süreyle tutularak işlem sonlandırılmış ve absorbans 560 nm'de ölçülmüştür [43]. Spesifik SOD aktivitesi (U/mg FW), mg taze ağırlık başına birim olarak ifade edildi.

KAT aktivitesi, Beers ve Sizer [44] tarafından önerilen protokole göre ölçülmüştür. KAT aktivitesi, kullanımdan hemen önce hazırlanan 0.3 ml 0.1 M H₂O₂, 1.0 ml deiyonize su ve 1.5 ml 200 mM sodyum fosfat tamponu içeren 2.8 ml'lik bir reaksiyon karışımında 25°C'de bir UV-Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Bu reaksiyon 0.2 ml süpernatant ilave edilerek başlatıldı. KAT aktivitesi, H₂O₂ tüketiminin bir sonucu olarak absorbanstaki (240 nm) düşüşün ölçülmesiyle belirlendi. Aktivite, taze ağırlık gramı başına dakikada birim olarak ifade edildi; bir KAT aktivite birimi (OD_{240nm}/dk. g FW), 240 nm'lik absorbanstaki 0.1'lik bir değişiklik olarak belirlendi.

2.5. Lipid peroksidasyon tayini

Lipid peroksidasyonu, Ünyayar vd. [45] tarafından önerilen protokole göre belirlendi. Kök uçları (0.5 g), bir homojenleştirici (Ultraturrax, T25-B) yardımıyla % 5 trikloroasetik asit (TCA) içinde homojenleştirildi. Daha sonra bu homojenizatlar 24°C'de 12000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. % 20'lik bir TCA solüsyonunda, % 0.5 tiyobarbitürik asit ve süpernatant, eşit hacimli yeni bir tüpe aktarılmış ve 96°C'de 25 dk kaynatıldı. Süre sonunda, tüpler buz banyosuna alınmış ve 5 dakika süreyle 10000 rpm'de santrifüj edildi. Absorbans 532 nm'de ölçüldü ve MDA içeriği 155 M⁻¹ cm⁻¹ tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı ve MDA düzeyleri standart sapma (SS) ile ortalama olarak ifade edildi.

2.6. Prolin tayini

Serbest prolin içeriği Bates vd. [46]'nin metoduna göre belirlendi. Dondurulmuş kök dokusu (0.5 g), 4°C'de 10 ml % 3 sülfosalisilik asit ile homojenleştirildi. Bu ekstrakt, Whatman No. 2 filtre kağıdı ile süzülümüştür. Bir test tüpünün içinde, 2 ml süzüntü, 2 ml asit-ninhidrin ve 2 ml glasiyal asetik asit karıştırıldı ve 100°C'de 1 saat süreyle inkübe edildi. Bu reaksiyon buz üzerinde sonlandırıldı ve reaksiyon karışımı daha sonra 4 ml toluen ile özümlendirildi. Kromofor içeren toluen, hidratlı fazdan ayrıldı. 520 nm'de absorbans, kör olarak toluen ile spektrofotometrik olarak belirlendi. Prolin konsantrasyonu, standart bir eğriye göre hesaplandı ve µmol prolin g/FW olarak ifade edildi.

2.7. Anatomik değişimlerin belirlenmesi

Soğan köklerinin yüzeyindeki kalıntıların uzaklaştırılması amacıyla kök uçları distile su ile yıkandı. Daha sonra kök uçlarından keskin bir jilet yardımıyla enine kesitler alındı ve % 2'lik metilen mavisi ile boyandıktan sonra her bir grubun boyanan örnekleri araştırma mikroskobu ile 500x büyütmede incelendi [47, 48].

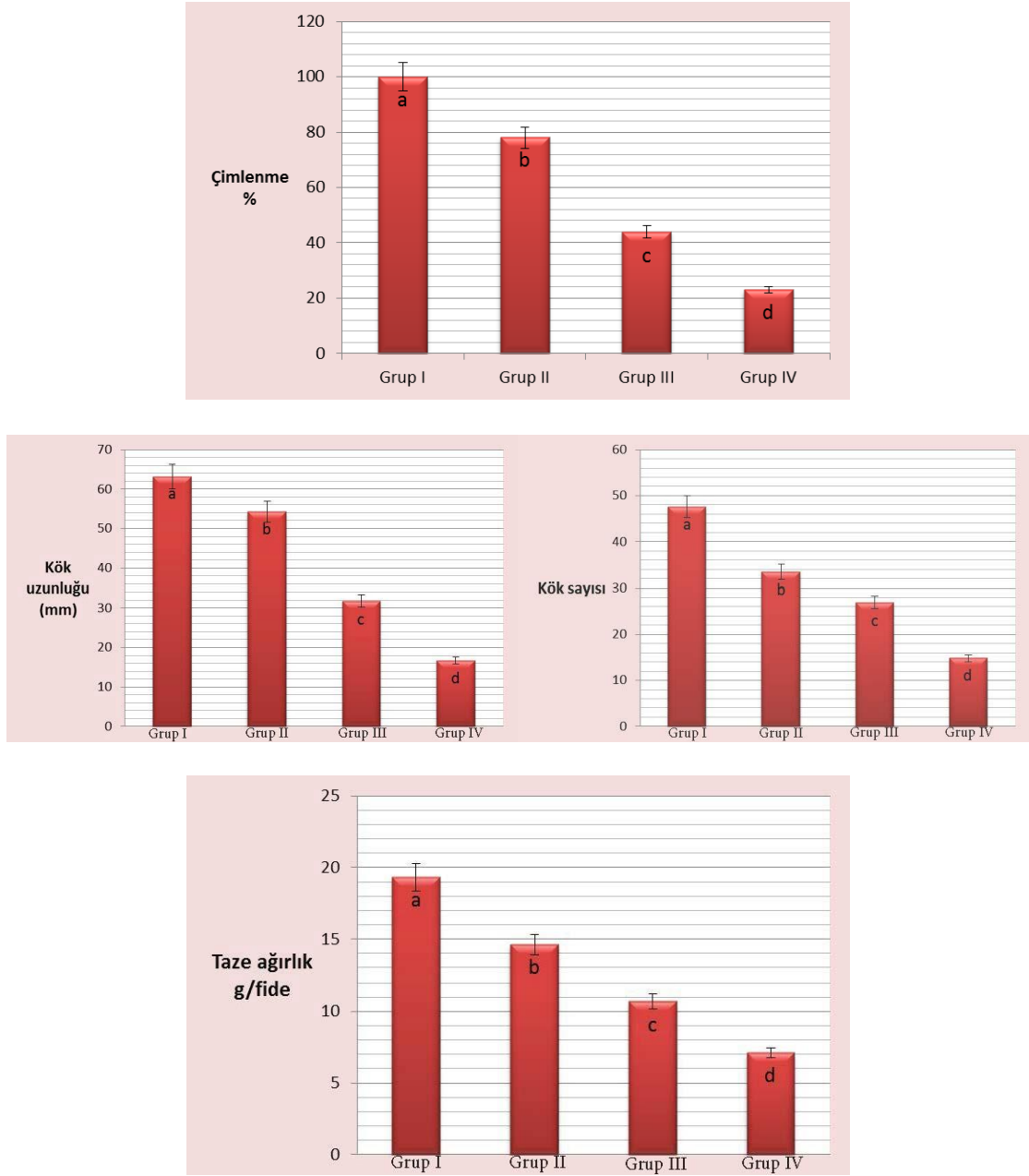
2.8. İstatistiksel analizler

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS istatistik V 23.0 (IBM Corp., ABD, 2015) paket programı kullanıldı. Tüm sonuçlar, ortalama değerler ± standart sapmalar olarak sunuldu. Ortalama değerler arasındaki farklılıkların istatistiksel önemi, Duncan Multiple Range Test analizi ile değerlendirildi ve P <0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

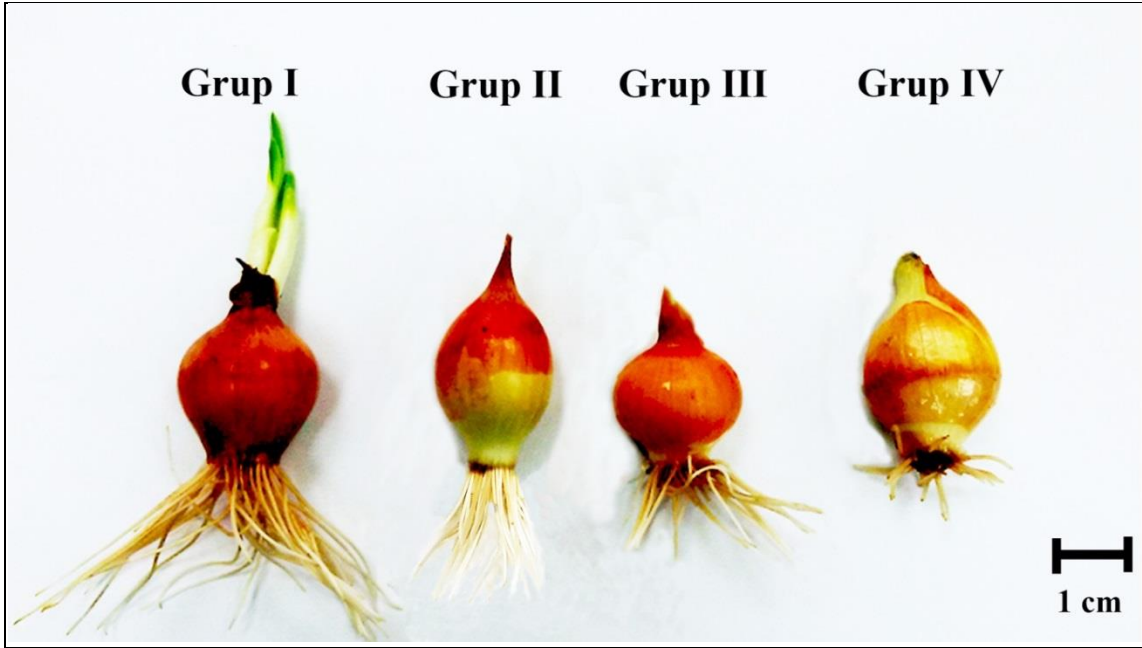
3. Sonuçlar ve tartışma

3.1. 4-MU'nun fizyolojik parametreler üzerindeki etkisi

A. cepa L.'nin fizyolojik parametreleri üzerine dışsal 4-MU'nun etkileri Şekil 1'de gösterildi. İnkübasyonun 7. gününde kontrol grubunun (Grup I) çimlenme yüzdesi % 100 ± 0.0 iken bu değer 125 μM , 250 μM ve 500 μM 4-MU düzeylerinde sırasıyla % 78 ± 2.8 , % 44 ± 2.4 ve % 23 ± 1.2 olmuştur. Diğer bir ifadeyle, 4-MU'nun artan konsantrasyonları çimlenme yüzdesini kontrolle kıyaslandığında (Grup I) 125 μM ' da % 22, 250 μM ' da % 56 ve 500 μM konsantrasyonda % 77 azaltmıştır. Benzer şekilde, soğan fidelerinin kök uzunlukları, kökçük sayıları ve taze ağırlıkları artan 4-MU düzeyleri ile önemli ölçüde azalmıştır. Maksimum kök uzunluğu kontrol grubunda (Grup I) ortalama 63.2 ± 2.1 mm ve minimum kök uzunluğu 500 μM 4-MU ile muamele edilen Grup IV'te ortalama 16.7 ± 0.6 mm olarak ölçülmüştür. Kök uzunluğu, kontrol grubuna (Grup I) göre 4-MU ile muamele edilen Grup II'de 8.9 mm, Grup III'te 31.4 mm ve Grup IV'de 46.5 mm azalmıştır. Distile su ortamında çimlendirilen Grup I (kontrol) soğanlarının kökçük sayısı 47.6 ± 1.4 iken bu değer 125 μM 4-MU konsantrasyonunda 33.5 ± 1.1 , 250 μM 4-MU'da 26.9 ± 0.7 ve 500 μM 4-MU'da 14.8 ± 0.3 olmuştur. 500 μM 4-MU kökçük sayısını kontrol grubuna göre yaklaşık 3.2 kat azaltmıştır (Şekil 2). Grupların ortalama taze ağırlıkları Grup I'de 19.3 ± 1.0 g, Grup II'de 14.6 ± 0.8 g, Grup III'de 10.7 ± 0.5 g ve Grup IV'te 7.1 ± 0.2 g olarak belirlendi. Maksimum taze ağırlık, kontrol grubunda (Grup I) ve en düşük taze ağırlık ise 4-MU'un 500 μM 'lik bir dozu ile muamele edilen Grup IV'te belirlendi. Bu düşüşler istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$). Dışsal 4-MU'nun tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerindeki etkileri hakkında az sayıda çalışma bulunmasına karşın, söz konusu kimyasalın soğan çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki etkileri konusunda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Abenavoli vd. [49] ve Li vd. [50], 100 μM ve 125 μM 4-MU uygulanmasının *Arabidopsis thaliana* tohumlarında birincil kök büyümesini azaltarak tohum çimlenmesini engellediğini ve ayrıca kalın ve yuvarlak kök kıllarının oluşumuna ve düzensiz ayrılmış kök gelişimine yol açtığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Bernhard [51], 10^{-4} M dışsal 4-MU'ya maruz bırakılan *Raphanus sativus* L. tohumlarında kayda değer bir çimlenme inhibisyonunun meydana geldiğini tespit etmiştir ve söz konusu araştırmacıların bulgularıyla bu çalışmanın sonuçları tutarlılık göstermektedir. Harashima ve Schnittger [52], bitkilerin kök büyümesinin doğrudan uzama seviyesine ve farklılaşma aşamasındaki hücre sayısına bağlı olduğunu bildirmiştir. Güçlü bir kök büyümesi için sağlıklı bir mitotik bölünme şarttır [53]. 4-MU'nun kök sayısı ve kök uzaması üzerindeki inhibe edici etkisi, hücre bölünmesinin azalmasından kaynaklanabilir. Çünkü bu çalışmada 4-MU kök ucu meristem hücrelerinin mitotik aktivitesini azaltmıştır (Şekil 3). Ayrıca 4-MU ortamında soğanların taze ağırlığı ve su içeriğinin azaldığını gösteren sonuçlar köklerin yeterli su almaması ile açıklanabilir (Şekil 1). Diğer yandan, söz konusu uygulama hücrelerde lipid peroksidasyonunu artırarak (Şekil 6) membran hasarına neden olduğu için soğan çimlenmesine müdahale etmiş olabilir.



Şekil 1. *A. cepa* L.'nin bazı fizyolojik parametreleri üzerine 4-MU'nun etkisi. Grup I (kontrol) distile su; Grup II 125 µM 4-MU; Grup III 250 µM 4-MU; Grup IV 500 µM 4-MU ile muamele edilmiştir. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir (± SS)

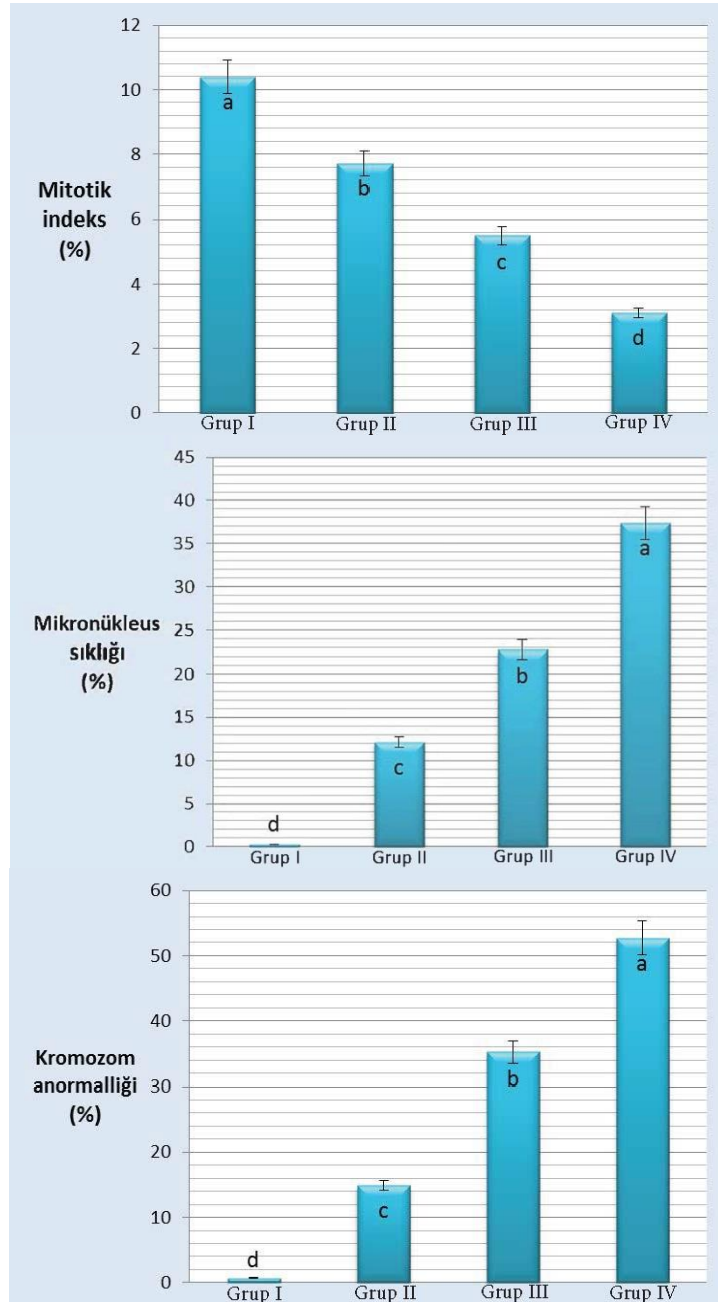


Şekil 2. *A. cepa* L. soğanlarının yedinci gün sonundaki çimlenme durumları. Grup I (kontrol) distile su; Grup II 0.125 µM 4-MU; Grup III 250 µM 4-MU; Grup IV 500 µM 4-MU ile muamele edilmiştir. Ölçek = 1 cm

3.2. 4-MU'nun sitogenetik parametreler üzerindeki etkisi

Bazı kimyasal ajanlar stressiz koşullarda bile mitotik düzensizliklere, hücre bozulmalarına ve kromozomal anormalliklerine neden olabilirler [54, 55]. Gözden geçirilen literatür incelemeleri sonucunda fidelerin kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (Mİ), mikronükleus (MN) sıklığı ve kromozomal anormallikleri (KA'lar) gibi sitogenetik parametreler üzerine dışsal 4-MU'nun etkileri hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, mevcut çalışmanın sitogenetik sonuçları ilk kez rapor edildiğinden son derece önemlidir. Konsantrasyon artışına paralel olarak, 4-MU'nun Mİ, MN frekansı ve KA'lar üzerindeki toksik etkisi artmıştır (Şekil 3). Bir test bileşiğinin sitotoksosite düzeyi, çevresel biyoizlem çalışmalarında sitotoksosite parametresi olarak kullanılabilen Mİ'deki artış veya azalmaya bağlı olarak belirlenebilir [56]. Veriler incelendiğinde Mİ kontrol grubunda (Grup I) % 10.4±0.9, Grup II' de % 7.7±0.7, Grup III' de % 5.5±0.3 ve Grup IV'de ise % 3.1±0.1 olarak belirlendi. 4-MU'ya maruziyetin bir sonucu olarak, bahsedilen gruplarda Mİ, kontrole (Grup I) göre sırasıyla yaklaşık % 2.7, % 4.9 ve % 7.3 oranında azalmıştır. Bu bulgulara bağlı olarak, artan 4-MU dozu ile Mİ'nin azaldığı gözlemlendi. Yani Mİ ve 4-MU uygulama dozları ters orantı sergilemişlerdir. 4-MU'nun, uygulama dozuna bağlı olarak *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde MN oluşumunu teşvik ettiği bulunmuştur. Mikroskobik incelemeler sonucunda, kontrol grubu olan Grup I'de MN oluşumunun çok az (% 0.3±0.4) olduğu gözlemlendi. Ancak artan 4-MU dozları ile uygulama gruplarındaki MN oluşum oranı artmıştır. MN sıklığı Grup II' de % 12.1±0.6, Grup III' de % 22.8±1.4 ve Grup IV' de % 37.4±1.9 olarak belirlendi. Grup IV'te, MN sayısı Grup I'e (kontrol) göre 37.1 kat artmıştır. Mevcut veriler, 4-MU uygulamasının soğanların kök ucu meristem hücrelerindeki KA sayısını arttırdığını gösterdi. Örneğin, distile su ortamında çimlendirilen Grup I (kontrol) soğanlarının kök ucu meristemlerindeki KA'ların sıklığı % 0.7±0.5 iken bu değer 125 µM 4-MU konsantrasyonunda % 14.9±0.9, 250 µM' da % 35.2±1.4 ve 500 µM' da % 52.7±1.6 olmuştur. 500 µM 4-MU uygulaması ile anormalliklerin sıklığı, kontrol grubuna (Grup I) göre 52 kat artmıştır. Her bir grup diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı sonuçlara sahip olmuştur ($p < 0.05$). MN ve

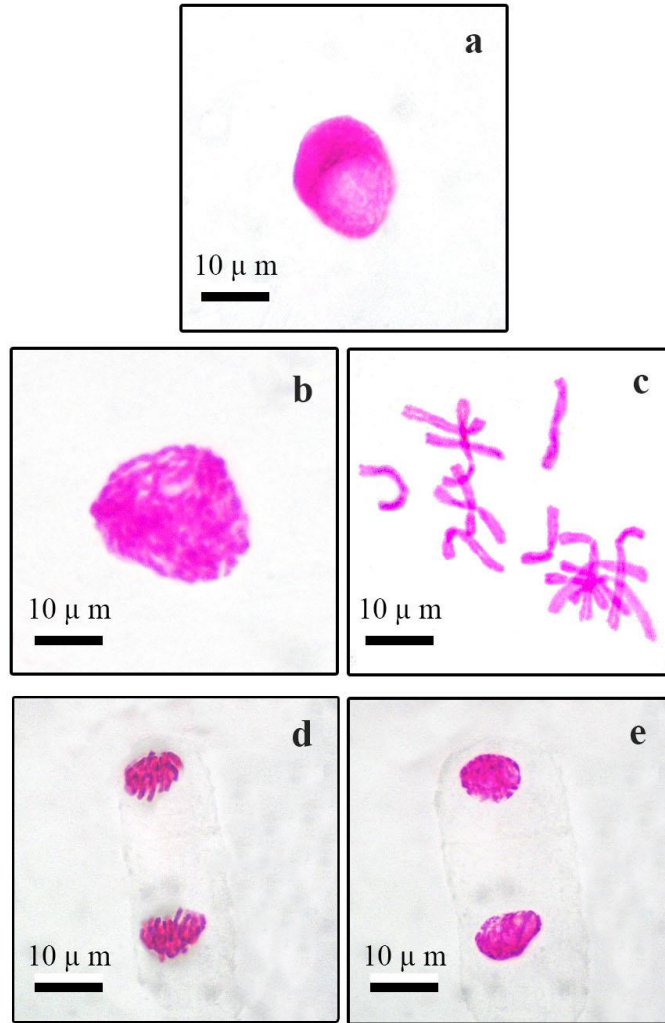
KA'lerin sıklığındaki dikkate değer artışlar, 4-MU'nun *A. cepa* L. için genotoksik bir ajan olduğunu açıkça göstermiştir.



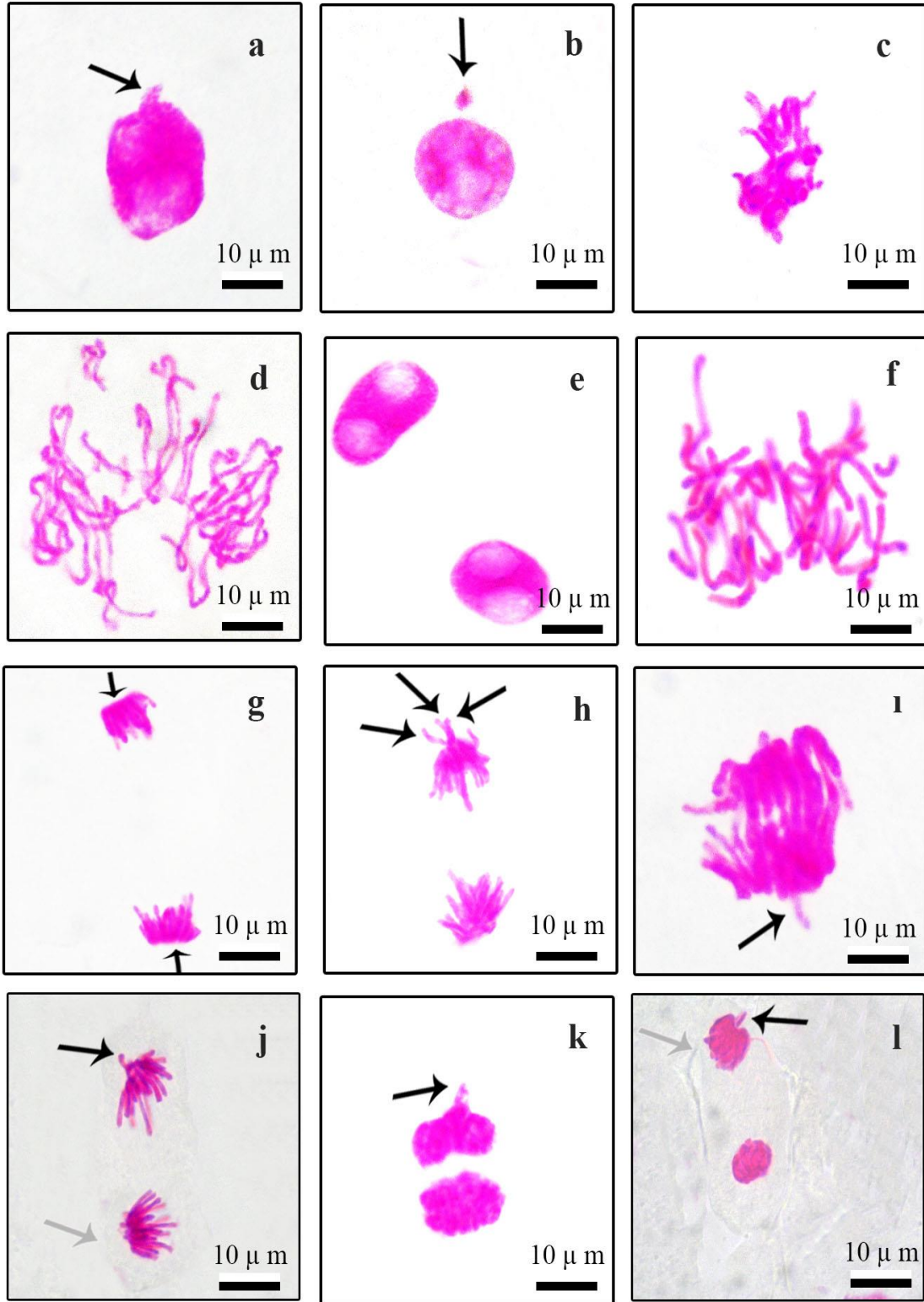
Şekil 3. *A. cepa* L.'nin bazı sitogenetik parametreleri üzerine 4-MU'nun etkisi. Grup I (kontrol) distile su; Grup II 125 μ M 4-MU; Grup III 250 μ M 4-MU; Grup IV 500 μ M 4-MU ile muamele edilmiştir. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir (\pm SS)

Şekil 4'te, kök ucu meristem hücrelerinin mikroskopik incelemesi sırasında gözlemlenen normal mitotik evreleri ve Şekil 5'te anormal mitotik evreleri göstermektedir. En belirgin anormallikler: nükleer tomurcuklu çekirdek (Şekil 5a), mikronükleus (Şekil 5b), kromozom yapışıklığı (Şekil 5c), düzensiz profaz (Şekil 5d), vakuolasyon çekirdekleri (Şekil 5e), düzensiz anafaz (Şekil 5f), anafazda kutup düzleşmeleri (Şekil 5g), anafazda kalgın kromozomlar (Şekil 5h, 1, j), anafazda çoklu köprü oluşumu (Şekil 5i), telofazda kalgın kromozom (Şekil 5k, l), anafaz/telofazda kutup kaymaları (Şekil 5j, l) olarak belirlendi. Bir nükleer deformasyon olan

vakuolasyon çekirdekleri, mitoz bölünmesinin S fazı sırasında DNA sentezi üzerindeki bir nükleer 214 zehirinin baskılayıcı etkisinin bir göstergesidir [57]. Nükleer tomurcuklu çekirdekler, çekirdeğe katılmaları dışında morfolojik olarak mikronükleuslara benzerlik göstermektedir [58]. MN oluşumu ve nükleer tomurcuk oluşumu, genetik materyallerin kaybı ile sonuçlanabilir [59]. Gözlemlenen MN, telofaz evresi sırasında her iki kardeş çekirdeğin dâhil edilememesinden ve telofazda geride kalan kromozomlardan ve kromozom kırılmalardan kaynaklanır [60, 61]. Düzensiz profaz, iğ ipliklerinin bağlanamamasından veya eşit olarak ayrılamamasından dolayı meydana gelir ve kromozom kaybına neden olabilir [62]. Düzensiz anafaz, kromozomların hücreye düzensiz bir şekilde yayılmasına izin veren eksen düzeneği bozukluğundan kaynaklanabilir [63]. Anafazda köprü oluşumu, büyük bir olasılıkla kromozom yapışıklığından ve bozulmuş kromozom ayrışımından meydana gelmektedir. Köprü oluşumu, muhtemelen kromozom yapışkanlığı nedeniyle veya eşit olmayan translokasyon sonucu ve kromozomda yapısal mutasyona neden olarak kromatidlerin veya kromozomların birleşmesi ve kesintiye uğramasından oluşmaktadır [64]. Anafaz ve telofazda kutup kaymaları, iğ bozukluklarından kaynaklanmaktadır [65]. Kalgın kromozomlar ise eşit olmayan kromozomlara sahip kardeş hücrelerdeki düzensiz şekilli veya eşit olmayan boyuttaki çekirdeklerden türemişlerdir [66].



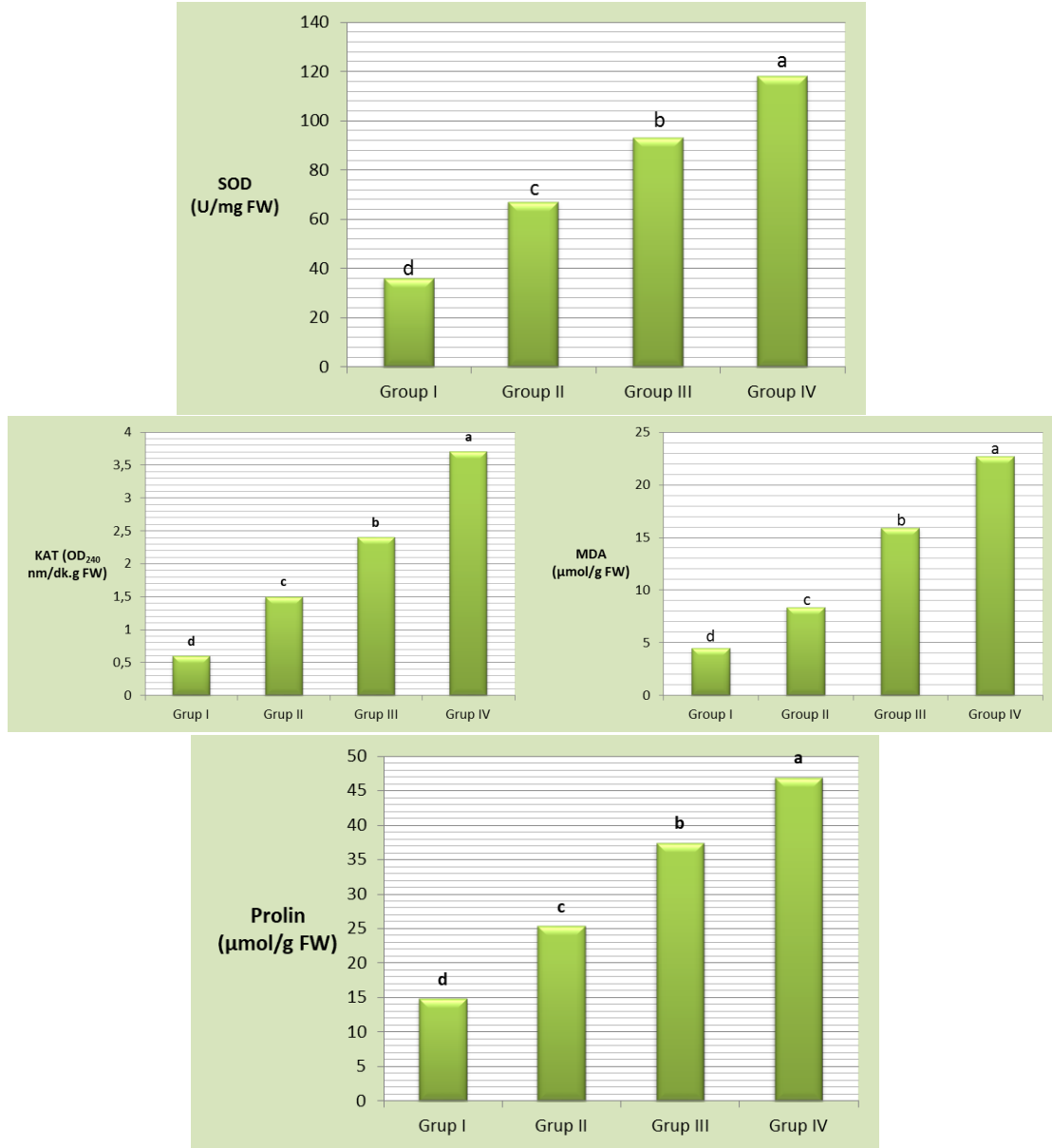
Şekil 4. *A. cepa* L. kök ucu meristem hücrelerindeki normal mitoz evreleri; a- interfaz; b- profaz; c- metafaz, $2n = 16$ kromozom; d- anafaz; e- telofaz. Ölçek= 10 µm



Şekil 5. Dışsal 4-MU ile indüklenen *A. cepa* L. kök ucu hücrelerindeki kromozomal anormallikler; a- nükleer tomurcuklu çekirdek=ok; b- mikronükleus=ok; c- kromozom yapışıklığı; d- düzensiz profaz; e- vakuolasyon çekirdekleri; f- düzensiz anafaz; g- anafazda kutup düzleşmeleri=oklar; h- anafazda kalgın kromozomlar=oklar; ı- anafazda çoklu köprü oluşumu ve kalgın kromozom=ok; j- anafazda kutup kayması (gri ok) ve kalgın kromozom (siyah ok); k- telofazda kalgın kromozom=ok; l- telofazda kutup kayması (gri ok) ve kalgın kromozom (siyah ok) Ölçek = 10 µm

3.3. 4-MU'nun biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi

Normal koşullar altında yetiştirilen fidelerin köklerinde SOD ve KAT aktiviteleri, lipid peroksidasyonu ve serbest prolin içeriği gibi biyokimyasal parametreler üzerine dışsal 4-MU'nun etkileri ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu araştırmadan elde edilen biyokimyasal bulgular son derece önemlidir. Reaktif oksijen türleri (ROS) tehlikeli sitotoksik moleküllerdir, ancak aynı zamanda antioksidan savunma mekanizmalarıyla ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenlemek için ara sinyal molekülleri olarak da işlev görürler. Bitkiler, ROS'un neden olduğu hasarla başa çıkmak için antioksidan sistemlere sahiptirler [67-69]. Antioksidan enzimler bu sistemlerin önemli bir parçasını oluştururlar. Antioksidan enzimler arasında; süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve dioksijene orantısızlığını katalizleyen SOD ile H₂O₂'yi ortadan kaldıran KAT yer almaktadır. SOD, aktif bölge metal kofaktörüne (Mn, Fe veya Cu, Zn) bağlı olarak bilinen üç sınıfı olan ve oksidatif strese karşı korumada anahtar rol oynayan metalloenzimlerdir. KAT, nükleer genler tarafından kodlanan çoklu izozimler olarak var olan tetramerik homoproteinlerdir. Çoğunlukla peroksizomlarda ve glioksizomlarda bulunurlar [70]. Bu çalışmada, 4-MU uygulamasının neden olduğu oksidatif stresi izlemek için SOD, KAT, MDA ve prolin analizleri kullanıldı. Şekil 6, 4-MU tarafından indüklenen SOD, KAT MDA ve prolin seviyelerindeki değişiklikleri göstermektedir. Artan 4-MU dozları, *A. cepa* L. köklerinde SOD ve KAT aktivitelerinde önemli bir artışı tetikledi. 4-MU ile muamele edilen gruplarda artan KAT ve SOD aktiviteleri, bu antioksidan sistemin oksidatif stres varlığında indüklendiğini göstermektedir. SOD aktivitesi Grup I' de (kontrol) 36±1.7 U/mg FW, Grup II' de 67±2.9 U/mg FW, Grup III' te 93±3.1 U/mg FW ve Grupta IV' de 118±3.6 U/mg FW olarak ölçülmüş iken Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV'ün KAT seviyeleri sırasıyla 0.6±0.2 OD_{240nm}/dk. g FW, 1.5±0.2 OD_{240nm}/dk. g FW, 2.4±0.6 OD_{240nm}/dk. g FW ve 3.7±0.9 OD_{240nm}/dk. g FW olarak belirlendi. Bu iki enzimin yüksek düzeyleri, 4-MU'un *A. cepa*'da aşırı ROS üretimine neden olduğunu göstermektedir (Şekil 6).



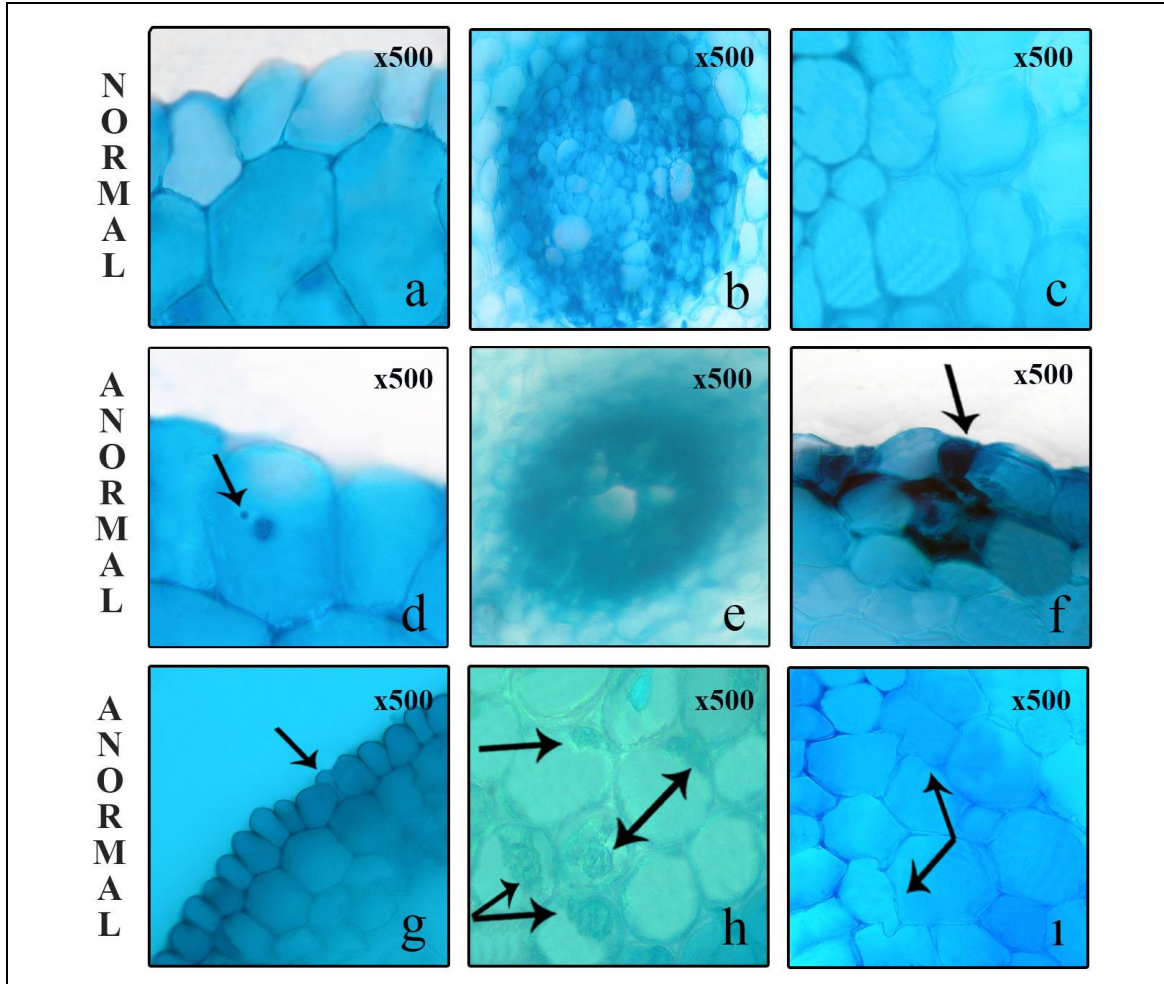
Şekil 6. *A. cepa L.*'nin bazı biyokimyasal parametreleri üzerine 4-MU'nun etkisi. Grup I (kontrol) distile su; Grup II 125 μM 4-MU; Grup III 250 μM 4-MU; Grup IV 500 μM 4-MU ile muamele edilmiştir. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir (± SS)

Lipid peroksidasyonu, ROS ve lipidlerin, özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin ve MDA üretiminin oksidatif yıkımına neden olan metabolik bir süreçtir [71]. Hücre membran hasarı, MDA içeriğinin artmasına neden olur [72]. MDA, membran lipidlerinin oksidatif bir ürünüdür ve oksidatif stres düzeylerini gösteren biyolojik bir belirteç [73]. ROS, lipidler, proteinler, RNA ve DNA dâhil olmak üzere biyolojik moleküllerin peroksidasyonuna zarar verir [74, 75]. Serbest oksijen grupları, DNA üzerine etki ederek nükleik asitlerde mutasyonlara ve kromozomlarda değişikliklere neden olabilirler [76]. MDA düzeyleri doza bağlı olarak 4-MU uygulamasının bir sonucu olarak önemli ölçüde yükselmiştir. Kontrol grubu (Grup I) köklerinde MDA içeriği ortalama 4.5 ± 1.3 μmol/g FW olarak ölçülürken, 4-MU dozlarındaki artışa paralel olarak MDA içeriği artış göstermiştir. Grup II, Grup III ve Grup IV'ün MDA düzeyleri sırasıyla 8.4 ± 1.8 μmol/g FW, 15.9 ± 2.9 μmol/g FW ve 22.7 ± 3.5 μmol/g FW olarak belirlendi. 4-MU uygulaması sonucunda MDA düzeylerinde gözlenen artışlar, antioksidan-oksidan dinamiklerinde bozulma olduğunu göstermektedir (Şekil 6).

Prolin, ozmotik strese maruz kalan bitkilerde en yaygın üretilen ozmolitlerden birisidir [77]. Bir ozmolit olan prolin, ozmotik stres altında ozmotik potansiyel ve turgorun korunmasında önemli bir rol oynayabilir [78, 79]. Aynı zamanda prolin, dehidrasyon sırasında proteinleri ve hücrel membranları stabilize ederek hücreleri koruyan ana bileşiktir [80-82]. Prolin bitkilerde glutamat ve ornitin yoluyla sentezlenir. Ozmotik stres altında, glutamat yolu, prolin üretiminin ana kaynağıdır. Prolin oksidaz, ozmolitlerin birikmesinden sorumlu ana düzenleyici enzimdir; bu enzim prolini glutamata dönüştürür [83]. Bu araştırmada kontrol grubu (Grup I) köklerinin serbest prolin içeriği $14.8 \pm 1.3 \mu\text{mol/g FW}$ olmuştur. Bu değer Grup II' de $25.3 \pm 1.7 \mu\text{mol/g FW}$, Grup III' te $37.4 \pm 2.0 \mu\text{mol/g FW}$ ve Grup IV' te $46.9 \pm 3.5 \mu\text{mol/g FW}$ olarak ölçülmüştür. Yani 4-MU uygulaması kontrole göre serbest prolin içeriğini $125 \mu\text{M}$ ' de yaklaşık 1.7 kat, $250 \mu\text{M}$ ' de 2.5 kat ve $500 \mu\text{M}$ konsantrasyonda 3.1 kat artırmıştır (Şekil 6). Bu artışlar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$). Mevcut çalışma bulgularıyla uyumlu olarak, MDA ve prolin birikimi arasında pozitif bir ilişki kaydedildi [84], bu ozmolitin üretilen ROS'u temizlemeye etkin bir şekilde katıldığını ve böylece hücreleri oksidatif hasardan koruduğunu düşündürmektedir [85].

3.4. 4-MU'nun anatomik parametreler üzerindeki etkisi

Soğan kök ucu meristem hücrelerinde dışsal 4-MU'nun neden olduğu anatomik değişiklikler ve hasarlar Şekil 7'de gösterildi. Mikroskopik incelemeler sonucunda kontrol grubunun (Grup I) kök ucu meristem hücrelerinde hiçbir anatomik hasar tespit edilmedi. 4-MU uygulanan grupların kök ucu anatomik kesitlerinde ise MN oluşumu, belirgin olmayan iletim dokusu, nekroz, epidermis/korteks hücre deformasyonları ve bazı kimyasal bileşiklerin kortekste birikmesi gibi anatomik hasarlar ve değişimler gözlemlendi. Epidermis hücrelerindeki deformasyon (Şekil 7g), hücre zarının karakteristik yapısındaki bozulma ile açıklanabilir. 4-MU kök yapısına ilk olarak epidermis dokusu yoluyla girdiği için, etkiler burada başlamaktadır. 4-MU tarafından indüklenen bir lipid peroksidasyonu (Şekil 6) epidermal membran yapısına zarar verebilir ve hücre deformasyonlarını meydana getirebilir. Kök dokusunda epidermis tabakasını geçebilen kimyasal ajanlar kortekse ulaşırlar. 4-MU uygulaması sonrasında korteks hücrelerinde madde birikimi (Şekil 7h) gibi anatomik değişimler toksisiteye karşı geliştirilen tepkilerdir. Ancak bazı durumlarda yüksek toksik etki anatomik değişikliklerden çok anatomik hasarlara neden olabilir. Bu çalışmada gözlenen nekroz (Şekil 7f) ve epidermis/korteks hücrelerindeki deformasyonlarının (Şekil 7g, ı) $500 \mu\text{M}$ 4-MU uygulama grubunda baskın olması da bu hipotezi doğrulamaktadır. Yüksek 4-MU uygulamasında daha baskın olarak gözlenen nekrozlar geri dönüşümsüzdür. Bitkiler veya bitki hücre kültürleri strese maruz kaldıklarında nekrotik morfoloji ile hızlı hücre ölümünü başlatırlar. Nekrotik alanlar kahverengi-siyah lekeler olarak görünürler. Bu nedenle, 4-MU uygulamasından sonra kortekste bazı kimyasal bileşiklerin birikimi (Şekil 7h), hasardan ziyade kimyasala maruziyete karşı anatomik bir adaptasyondur. Bu verilerden, düşük 4-MU uygulamalarında daha fazla anatomik değişikliğin gözlemlendiği ve yüksek 4-MU uygulamasında ise ciddi anatomik hasarların meydana geldiği sonucuna varılmıştır. Görüldüğü gibi literatürde soğan bitkisinin kök anatomisi üzerine 4-MU etkisine dair herhangi bir veri rapor edilmemiştir. Bu nedenle, 4-MU ile ilgili mevcut çalışmanın anatomik sonuçları ilk kez rapor edildiğinden son derece önemlidir. Literatürde çeşitli toksik ajanlara karşı *A. cepa* kök anatomisinde belirgin olmayan iletim dokusu, hücre çekirdeğinde düzleşme, korteks hücre duvarında kalınlaşma, epitel/korteks hücre deformasyonu gibi birçok anatomik adaptasyon ve hasarın meydana geldiği bildirilmiştir [47, 48].



Şekil 7. Dışsal 4-MU ile indüklenen *A. cepa* L. kök meristem hücrelerindeki anatomik değişimler; a- kontrol grubunda epidermis hücrelerinin normal görünümü; b- kontrol grubunda iletim dokusunun normal görünümü; c- kontrol grubunda korteks hücrelerinin normal görünümü; d- 4-MU ile muamele edilen gruplarda epidermis hücrelerinde MN oluşumu=ok; e- 4-MU ile muamele edilen gruplarda belirgin olmayan iletim dokusu; f- 4-MU ile muamele edilen gruplarda nekroz=ok; g- 4-MU ile muamele edilen gruplarda epidermis hücre deformasyonu=ok; h- 4-MU ile muamele edilen gruplarda korteks hücrelerinde madde birikimleri=oklar; i- 4-MU ile muamele edilen gruplarda korteks hücrelerinin deformasyonu=oklar

4. Sonuç

Bu çalışma, dışsal 4-MU'un doza bağlı çoklu etkilerini kapsamlı bir şekilde araştırmıştır. Soğanın burada incelenen fizyolojik, sitogenetik, biyokimyasal ve anatomik parametreleri üzerine dışsal 4-MU uygulamasının etkileri ile ilgili mevcut literatür verisi bulunmamaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışmanın sonuçları ilk kez rapor edilmektedir. Bu sonuçlar 4-MU'un, *A. cepa* L. kök anatomik yapısını, çimlenme, kök uzunluğu, kökçük sayısı ve taze ağırlık gibi fizyolojik parametrelerini, Mİ, MN sıklığı ve KA'lar gibi sitogenetik parametrelerini ve SOD, KAT, MDA ve prolin içeriği gibi biyokimyasal parametrelerini etkileyen toksik bir bileşik olarak hareket ettiğini göstermektedir. Ayrıca, bu çalışmanın tutarlı sonuçları, *A. cepa*'nın çeşitli kimyasal ajanların aktivitelerini değerlendirmede faydalı bir model olduğunu göstermiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Dilek Çavuşoğlu: Araştırma, İnceleme ve Düzenleme, Orijinal Taslak Yazımı, Yazılım, Görselleştirme.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışmanın yazarı olarak herhangi bir destek ve teşekkür beyanımın bulunmadığını bildiririm.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarı olarak herhangi bir çatışma beyanımın bulunmadığını bildiririm.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarı olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımın bulunmadığını bildiririm.

Kaynaklar

- [1] D. Srikrishna, C. Godugu, and P. K. Dubey, "A Review on Pharmacological Properties of Coumarins," *Mini-Rev. Chem.*, 18 (2), 113–141, 2018.
- [2] M. Iranshahi, M. Askari, A. Sahebkar, and D. Adjipavlou-Litina, "Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxigenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin," *DARU J. Pharm. Sci.*, 17 (2), 99–103, 2009.
- [3] M. K. Bashir, Y. F. and M. K. Mustafa, "Oglah Antitumor, antioxidant, and antibacterial activities of glycosyl-conjugated compounds: A review," *Syst. Rev. Pharm.*, 11, 175–187, 2020.
- [4] Y. F. Mustafa, E. T. Mohammed, and R. R. Khalil, "Antioxidant and antitumor activities of methanolic extracts obtained from Red Delicious and Granny Smith apples' seeds," *Syst. Rev. Pharm.*, 11, 570–576, 2020.
- [5] Y. Aoyama, T. Katayama, M. Yamamoto, H. Tanaka, and K. Kon, "A new antitumor antibiotic product, demethylchartreusin. Isolation and biological activities," *J. Antibiot.*, 45 (6), 875–878, 1992.
- [6] X. M. Peng, G. V. Damu, and C. Zhou, "Current developments of coumarin compounds in medicinal chemistry," *Cur. Pharm. Des.*, 19 (21), 3884–3930, 2013.
- [7] G. H. Zhang, H. Zheng, M. Y. Guo, L. Du, G. J. Liu, and P. Wang, "Synthesis of polymeric fluorescent brightener based on coumarin and its performances on paper as light stabilizer, fluorescent brightener and surface sizing agent," *Appl. Surf. Sci.*, 367, 167–173, 2016.
- [8] V. R. Mishra, and N. Sekar, "Photostability of coumarin laser dyes-A mechanistic study using global and local reactivity descriptors," *J. Fluoresc.*, 27, 1101–1108, 2017.
- [9] M. J. Matos, L. Santana, E. Uriarte, O. Abreu, E. Molina Pe'rez, and E. Yordi, "Coumarins-An important class of phytochemicals," in *Phytochemicals-Isolation, Characterisation and Role in Human Health*, A. Venket Rao and Leticia G. Rao, Eds., 2015, pp. 113–140.
- [10] H. Wang, X. Lu, H. Yao, J. Feng, and R. Liu, "Research progress on application of coumarin and its derivatives," *Chem. Ind. Times.*, 23 (8), 40–43, 2009.
- [11] F. Annunziata, C. Pinna, S. Dallavalle, L. Tamborini, and A. Pinto, "An overview of coumarin as a versatile and readily accessible scaffold with broad-ranging biological activities," *Int. J. Mol. Sci.*, 2 (13), 2020.
- [12] M. Miranda, and A. Cuéllar, "Farmacognosia y productos naturales," Fe'lix Varela, La Habana, Ed., *Rev. Cuba. de Plantas Medicinales.*, 9, 34–49, 2001.
- [13] K. N. Venugopala, V. Rashmi, and B. Odhav, "Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity," *Bio. Med. Res. Int.*, 963248, 2013.
- [14] J. Choi, K. T. Liu, H. Ka, W. T. Jung, H. J. Jung, and H. J. Park, "Constituents of the essential oil of the *Cinnamomum cassia* stem bark and the biological properties," *Arch. Pharm. Res. (Seoul).*, 24 (5), 418–423, 2001.
- [15] F. Bourgaud, A. Hehn, R. Larbat, S. Doerper, E. Gontier, S. Kellner, and U. Matern, "Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes," *Phytochem. Rev.*, 5 (2), 293–308, 2006.
- [16] S. Rosselli, A. M. Maggio, N. Faraone, V. Spadaro, S. L. Morris-Natschke, K. F. Bastow, K. H. Lee, and M. Bruno, "The cytotoxic properties of natural coumarins isolated from roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae) and of synthetic ester derivatives of aegelinol," *Nat. Prod. Commun.*, 4 (12), 2009.
- [17] G. Vialart, A. Hehn, A. Olry, K. Ito, C. Krieger, R. Larbat, C. Paris, B. Shimizu, Y. Sugimoto, M. Mizutani, and F. Bourgaud, "A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase from *Ruta graveolens* L.

- exhibits p-coumaroyl CoA 2'-hydroxylase activity (C2'H): a missing step in the synthesis of umbelliferone in plants," *Plant J.*, 70, 460–470, 2012.
- [18] R. Ramalingam, and M. Vaiyapuri, "Effects of umbelliferone on lipid peroxidation and antioxidant status in diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma," *J. Acute Med.*, 3, 73–82, 2013.
- [19] J. A. García-Vilas, A. R. Quesada, and M. Á. Medina, "4-Methylumbelliferone inhibits angiogenesis in vitro and in vivo," *J. Agric. Food Chem.*, 61, 4063–4071, 2013.
- [20] S. Medimagh-Saidana, A. Romdhane, M. Daami-Remadi, H. Jabnoun-Khiareddine, D. Touboul, H. Ben Jannet, et al., "Synthesis and antimicrobial activity of novel coumarin derivatives from 4-methylumbelliferone," *Med. Chem. Res.*, 24 (8), 3247–3257, 2015.
- [21] L. Pan, X. Li, H. Jin, X. Yang, and B. Qin, "Antifungal activity of umbelliferone derivatives: Synthesis and structure-activity relationships," *Microb. Pathog.*, 104, 110–115, 2017.
- [22] L. Pan, X. Z. Li, Z. Q. Yan, H. R. Guo, and B. Qin, "Phytotoxicity of umbelliferone and its analogs: Structure-activity relationships and action mechanism," *Plant Physiol. Bioch.*, 97, 272–277, 2015.
- [23] M. Deshmukh, P. Pawar, M. Joseph, M. Phalgune, U. Kashalkar, R. Deshpande, and R. Nirmala, "Efficacy of 4-methy-7-hydroxy coumarin derivatives against vector," *Indian J. Exp. Biol.*, 46 (11), 788–792, 2008.
- [24] Y. Wei, S. Q. Li, and S. H. Hao, "New angular oxazole-fused coumarin derivatives: Synthesis and biological activities," *Nat. Prod. Res.*, 32 (15), 1824–1831, 2018.
- [25] G. L. Liu, Y. Hu, X. H. Chen, G. X. Wang, and F. Ling, "Synthesis and anthelmintic activity of coumarin-imidazole hybrid derivatives against *Dactylogyrus intermedius* in goldfish," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 26, 5039–5043, 2016.
- [26] P. Arora, M. S. Ranawat, and N. Arora, "Synthesis and screening of some novel coumarin derivatives for antipsychotic activity," *Res. J. Pharm. Technol.*, 5 (18), 968–972, 2012.
- [27] K. Ostrowska, K. Młodzikowska, M. Głuch-Lutwin, A. Grybo's, and A. Siwek, "Synthesis of a new series of aryl/heteroarylpiperazinyl derivatives of 8-acetyl-7-hydroxy-4-methylcoumarin with low nanomolar 5-HT 1A affinity," *Eur. J. Med. Chem.*, 137, 108–116, 2017.
- [28] S. T. Nam, Y. H. Park, H. W. Kim, H. S. Kim, D. Lee, M. B. Lee, Y. M. Kim, and W. S. Choi, "Suppression of IgE-mediated mast cell activation and mouse anaphylaxis via inhibition of Syk activation by 8-formyl-7-hydroxy-4-methylcoumarin, 4-8C," *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 332, 25–31, 2017.
- [29] X. J. Hu, X. B. Wang, and L. Y. Kong, "Glucosidase inhibitors via green pathway: Biotransformation for bicoumarins catalyzed by *Momordica charantia* peroxidase," *J. Agric. Food Chem.*, 61, 1501–1508, 2013.
- [30] E. Radwan, and I. A. Reem, "Anti-inflammatory screening and molecular modeling of some novel coumarin derivatives," *Molecules*, 20, 5374–5391, 2015.
- [31] Y. F. Mustafa, E. T. Mohammed, and R. R. Khalil, "Synthesis, characterization, and anticoagulant activity of new functionalized biscoumarins," *Egyptian J. Chem.*, 64, 4461–4468, 2021.
- [32] L. Peruzzi, A. Carta, and F. Altinordu, "Chromosome diversity and evolution in *Allium* (Allioideae, Amaryllidaceae)," *Plant Biosyst.*, 151, 212–220, 2017.
- [33] T. K. Lim, "Modified stems, roots, bulbs," in Springer, Netherlands, *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*, 2015, pp. 124–203.
- [34] M. Marrelli, V. Amodeo, G. Statti, and F. Conforti, "Biological properties and bioactive components of *Allium cepa* L.: focus on potential benefits in the treatment of obesity and related comorbidities," *Molecules*, 24, 119–136, 2019.
- [35] S. B. Tedesco, and I. V. H. D. Laughinghouse, "Bioindicator of genotoxicity. The *Allium cepa* test," *J. Environ. Contam.*, 138–156, 2012.
- [36] G. Fiskesjo, "The *Allium* test as a standard in environ-1535 mental monitoring," *Hereditas*, 102, 99–112, 1985.
- [37] T. R. Chaparro, C. M. Botta, and E. C. Pires, "Biodegradability and toxicity assessment of bleach plant effluents treated anaerobically," *Water Sci. Technol.*, 62, 1312–1319, 2010.
- [38] W. F. Grant, "Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations—a brief historical back ground on their use for screening and monitoring environmental chemicals," *Mutat. Res.*, 426, 107–112, 1999.
- [39] K. Çavuşoğlu, and D. Çavuşoğlu, "Role of L-ornithine in mitigation salt stress in *Allium cepa* L.," *Bangl. J. Bot.*, 50(4), 1165–1171, 2019.
- [40] P. C. Sharma, and P. K. Gupta, "Karyotypes in some pulse crops," *Nucleus*, 25, 181–185, 1982.
- [41] M. Fenech, W. P. Chang, M. Kirsch-Volders, N. Holland, S. Bonassi, and E. Zeiger, "HUMN (human micronucleus) project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures," *Mutation. Res.*, 534, 65–75, 2003.
- [42] C. Beauchamp, and I. Fridovich, "Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels," *Anal. Biochem.*, 44, 276–287, 1971.

- [43] J. Zou, J. Yue, W. Jiang, and D. Liu, "Effects of cadmium stress on root tip cells and some physiological indexes in *Allium cepa* var. *agrogarum* L.," *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.*, 54, 129–141, 2012.
- [44] R. F. Beers, and I. W. Sizer, "Colorimetric method for estimation of catalase," *J. Biol. Chem.*, 195, 133–139, 1952.
- [45] S. Ünyayar, A. Celik, F. O. Cekic, and A. Gozel, "Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*," *Mutagenesis*, 21, 77–81, 2006.
- [46] L. S. Bates, R. P. Waldren, and I. D. Teare, "Rapid determination of free proline for water stress studies," *Plant Soil.*, 39, 205–207, 1973.
- [47] K. Çavuşoğlu, T. Kalefetoğlu Macar, O. Macar, D. Çavuşoğlu, and E. Yalçın, "Comparative investigation of toxicity induced by UV-A and UV-C radiation using *Allium test*," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 29, 33988–33998, 2022.
- [48] D. Çavuşoğlu, O. Macar, T. Kalefetoğlu Macar, K. Çavuşoğlu, and E. Yalçın, "Mitigative effect of green tea extract against mercury (II) chloride toxicity in *Allium cepa* L. model," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 29, 27862–27874, 2022.
- [49] M. R. Abenavoli, A. Nicolò, A. Lupini, S. Oliva, and A. Sorgonà, "Effects of different allelochemicals on root morphology of *Arabidopsis thaliana*," *Allelopathy J.*, 22, 245–252, 2008.
- [50] X. Li, M. Y. Gruber, D. D., Hegedus, D. J., Lydiate, and M. J., Gao, "Effects of a Coumarin Derivate, 4-Methylumbelliferone, on Seed Germination and Seedling Establishment in *Arabidopsis*," *J. Chem. Ecol.*, 37, 880–890, 2011.
- [51] R. A. Bernhard, "Some Studies of Coumarin and Coumarin Analogues as Germination Inhibitors of Radish Seeds," *Bot. Gaz.*, 17–21, 2016.
- [52] H. Harashima, and A. Schnittger, "The integration of cell division, growth and differentiation," *Curr. Opin. Plant Biol.*, 13, 66–74, 2010.
- [53] L. F. Andrade, L. C. Davide, and L. S. Gedraite, "The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*," *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 73, 626–631, 2010.
- [54] A. Acar, Z. Turkmen, K. Cavusoglu, and E. Yalcin, "Investigation of benzyl benzoate toxicity with anatomical, physiological, cytogenetic and biochemical parameters in vivo," *Caryologia*, 73, 21–32, 2020.
- [55] G. Öztürk, K. Çavusoglu, and E. Yalçın, "Dose-response analysis of potassium bromate-induced toxicity in *Allium cepa* L. meristematic cells," *Env. Sci. Pollut. Res.*, 27, 43312–43321, 2020.
- [56] T. C. C. Fernandes, D. E. C. Mazzeo, and M. A. Marin Morales, "Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *A. cepa* exposed to trifluralin herbicide," *Pest. Biochem. Physiol.*, 88, 252–259, 2007.
- [57] N. A. Sutan, A. Popescu, C. Mihaescu, L. C. Soare, and M. V. Marinescu, "Evaluation of cytotoxic and genotoxic potential of the fungicide Ridomil in *Allium cepa* L.," *Analele Stiint Univ. Al I Cuza Iasi.*, 60, 5–12, 2014.
- [58] M. Fenech, and J. W. Crott, "Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis block micronucleus assay," *Mutat. Res.*, 504, 131–136, 2002.
- [59] C. Ruan, Y. Lian, and J. Lium, "Application of micronucleus test in *Vicia faba* in the rapid deletion of mutagenic environmental pollutants," *Chin J. Environ. Sci.*, 4, 56–58, 1992.
- [60] M. Fenech, "The in vitro micronucleus technique," *Mutat. Res.*, 455, 81–95, 2000.
- [61] H. Norppa, and G. C. Falck, "What do human micronuclei contain?," *Mutagenesis*, 18, 221–233, 2003.
- [62] D. Gisselsson, E. Palsson, C. Yu, F. Mertens, and N. Mandahl, "Mitotic instability associated with late genomic changes in bone and soft tissue tumours," *Cancer Lett.*, 206, 69–76, 2004.
- [63] L. Luzhna, P. Kathiria, and O. Kovalchuk, "Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond," *Front. Genet.*, 4, 131, 2013.
- [64] S. Türkoğlu, "Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L.," *Mutat. Res.*, 626, 4–14, 2007.
- [65] V. P. Kalcheva, A. P. Dragoeva, K. N. Kalchev, and D. D. Enchev, "Cytotoxic and genotoxic effects of Br-containing oxaphosphole on *Allium cepa* L. root tip cells and mouse bone marrow cells," *Genet. Mol. Biol.*, 32, 389–393, 2009.
- [66] A. A. El-Ghamery, M. A. El-Kholy, and M. A. Abou El-Yousser, "Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L.," *Mutat. Res.*, 537, 29–41, 2003.
- [67] S. J. Neill, R. Desikan, A. Clarke, R. D. Hurst, and J. T. Henscock, "Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants," *J. Exp. Bot.*, 53, 1237–1247, 2002.

- [68] E. Vranova, D. Inze, and F. Van Breusegen, "Signal transduction during oxidative stress," *J. Exp. Bot.*, 53, 1227–1236, 2002.
- [69] A. K. Srivastava, and D. Singh, "Assessment of malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of *Allium cepa* model," *Sci. Rep.*, 10, 1–10, 2020.
- [70] A. M. S. Soares, T. F. Souza, T. Jacinto, and O. L. T. Machado, "Effect of methyl jasmonate on antioxidative enzyme activities and on the contents of ROS and H₂O₂ in *Ricinus communis* leaves," *Braz. J. Plant Physiol.*, 22, 151–158, 2010.
- [71] V. J. Odjegba, and R. A. Adeniran, "Bentazone herbicide induces genotoxic effect and physiological disorders in non-targeted *Allium cepa* L.," *Indian J. Plant Physiol.*, 20, 375–379, 2015.
- [72] I. S. Fedina, and K. M. Benderliev, "Response of *Scendesmus incrassatulus* to salt stress as affected by methyl jasmonate," *Biol. Plant.*, 43, 625–627, 2000.
- [73] D. R. Janero, "Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury," *Free Radic. Biol. Med.*, 9, 515–540, 1990.
- [74] K. Shah, R. G. Kumar, S. Verma, and R. S. Dubey, "Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings," *Plant Sci.*, 161, 1135–1144, 2001.
- [75] C. Dinakar, V. Abhaypratap, S. R. Yearla, A. S. Raghavendra, and K. Padmasree, "Importance of ROS and antioxidant system during the beneficial interactions of mitochondrial metabolism with photosynthetic carbon assimilation," *Planta*, 231, 461–474, 2010.
- [76] E. Yarsan, "Lipid peroxidation event and its applications for prevention," *Van. Vet. J.*, 9, 89–95, 2014.
- [77] M. Ashraf, and M. R. Foolad, "Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance," *Environ. Exp. Bot.*, 59, 206–216, 2007.
- [78] S. T. Sadiqov, M. Akbulut, and V. Ehmedov, "Role of Ca²⁺ in drought stress signaling in wheat seedlings," *Biochem.*, 67, 491–497, 2002.
- [79] R. Munns, and M. Tester, "Mechanisms of salinity tolerance," *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651–681, 2008.
- [80] S. G. Kumar, A. M. Reddy, and C. Sudhakar, "NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) with contrasting salt tolerance," *Plant Sci.*, 165, 1245–1251, 2003.
- [81] C. A. Martinez, M. Maestri, and E. G. Lani, "In vitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum* spp.) differing in frost resistance," *Plant Sci.*, 116, 117–184, 2003.
- [82] X. S. Wang, and J. G. Han, "Changes in proline content, activity, and active isoforms of antioxidative enzymes in two alfalfa cultivars under salt stress," *Agric. Sci. China.*, 8, 431–440, 2009.
- [83] O. Çelik, and C. Atak, "The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties," *Turk. J. Biol.*, 36, 339–356, 2012.
- [84] F. Boughalleb, R. Abdellaoui, M. Mahmoudi, and E. Bakhshandeh, "Changes in phenolic profile, soluble sugar, proline, and antioxidant enzyme activities of *Polygonum equisetiforme* in response to salinity," *Turk. J. Bot.*, 44, 25–35, 2020.
- [85] J. Matysik, B. Alia-Bhalu, and P. Mohanty, "Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants," *Curr. Sci.*, 82, 525–532, 2002.

Favipiravirin Su-Asetonitril İkili Karışımlarında İyonlaşma Sabiti Değerinin Belirlenmesi ve İki Farklı C18 Kolonun Karşılaştırılması

Ümit Ayhan Arzuoğlu¹, İlkey Konçe², Ebru Çubuk Demiralay³

^{1,3}Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, 32200, Isparta, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-3996-9076>

<https://orcid.org/0000-0003-3542-7090>

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İlaç Araştırma ve Geliştirme Anabilim Dalı, 32200, Isparta, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-6270-7509>

*yazışılan yazar: ebrucubuk@sdu.edu.tr

(Alınış / Received: 20.10.2022, Kabul / Accepted: 05.05.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Favipiravir (T-705), RNA virüslerinin RNA'ya bağımlı RNA polimerazını seçici ve güçlü bir şekilde inhibe eden bir anti-viral ajandır. Bu bileşiğin kalitatif ve kantitatif analizinde en çok ters faz sıvı kromatografi (RPLC) metodu tercih edilmektedir. Bu metot, asidik ve bazik fonksiyonel grup içeren bileşiklerin iyonlaşma/protonasyon (pK_a) sabitlerinin tayini için çok tercih edilmektedir. pK_a değeri, bileşiklerin fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerini tahmin etmeye yarayan önemli bir parametredir. Bu parametre ilaçların absorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım, toksite (ADMET) karakterizasyonunu da içeren önemli bir veridir. Sunulan bu çalışmada, favipiravirin su-asetonitril ikili karışımında pK_a değerinin tayini için iki farklı özellikteki kromatografik kolonlar kullanılarak RPLC metot geliştirilmiş ve asetonitrilin mobil fazdaki miktarının değişimiyle favipiravirin kromatografik davranışı da belirlenmiştir. Çalışma 37°C kolon sıcaklığında ve sabit akış hızlarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen alıkonma verileriyle sigmoidal ve doğrusal olmayan modeller kullanılarak bileşiğin pK_a değeri belirlenmiştir. Hidrofilik özellikte olan favipiravirin su ortamındaki pK_a değeri, mobil faz pK_a değerleri ve asetonitrilin makroskopik sabitleri (mol kesri, dielektrik sabiti, vs.) kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan bu önemli fizikokimyasal parametre literatürdeki deneysel çalışma ile elde edilen ilk veridir.

Anahtar kelimeler: Favipiravir, RPLC, Alıkonma zamanı, İyonlaşma sabiti, Hidrofilik bileşik

Determination of Ionization Constant Value in Water-Acetonitrile Binary Mixtures of Favipiravir and Comparison of Two Different C18 Columns

Abstract: Favipiravir (T-705) is an anti-viral agent that selectively and potently inhibits the RNA-dependent RNA polymerase of RNA viruses. The reverse phase liquid chromatography (RPLC) method is mostly preferred in the qualitative and quantitative analysis of this compound. This method is highly preferred for the determination of ionization/protonation (pK_a) constants of compounds containing acidic and basic functional groups. The pK_a value is important parameter to predict the physicochemical and biological properties of compounds. This parameter is an important data including the absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) characterization of drugs. In this study, the RPLC method was developed using two different chromatographic columns for the determination of the pK_a

value of favipiravir in a water-acetonitrile binary mixture, and the chromatographic behavior of favipiravir was determined by changing the amount of acetonitrile in the mobile phase. The study was carried out at 37 °C column temperature and constant flow rates. The pKa value of the compound was determined by using sigmoidal and nonlinear models with the obtained retention data. The pKa value of hydrophilic favipiravir in water was calculated using the mobile phase pKa values and the macroscopic constants (mole fraction, dielectric constant, etc.) of acetonitrile. This important calculated physicochemical parameter is the first data obtained from the experimental study in the literature.

Keywords: Favipiravir, RPLC, Retention time, Ionization constant, Hydrophilic compound

1. Giriş

Favipiravir (T 705), ribonükleik asit (RNA) virüslerinin RNA'ya bağlı RNA polimerazını seçici ve güçlü bir şekilde inhibe eden yeni geniş spektrumlu bir antiviral ilaçtır. İlk olarak 2014 yılında Japonya'da Toyama Chemicals tarafından geliştirilmiş ve üretilmiştir ve çok çeşitli influenza virüslerine ve alt tiplerine karşı etkilidir. Favipiravir yaygın olarak COVID-19 olarak bilinen şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) enfeksiyonlarına karşı ilaç olarak kullanımı nedeniyle 2020 yılında çok ilgi görmüştür [1,2]. Özellikle bu tarihten sonra ilaç endüstrisinde önemli bir yere sahip olan bu ilacın tayini için analitik metotların geliştirilmesi ayrı bir gereklilik kazanmıştır. Yapılan literatür taramasında favipiravirin tayini için yüksek performans sıvı kromatografi (HPLC) [3,4], spektrofotometri [5] ve elektroanalitik yöntemler [6,7] yaygın şekilde kullanılmıştır. Bu yöntemler arasında ilaç endüstrisinde yaygın şekilde kullanılan HPLC yöntemi, favipiravirin kalitatif ve kantitatif tayini için özellikle tercih edilmektedir [8].

Ters faz yüksek performans sıvı kromatografi metodu (RPLC), sıvı kromatografik tekniklerin içerisinde en popüler olanıdır. Düşük molekül ağırlıklı numunelerin analizlerinin neredeyse %80-90'ı bu metot kullanılarak gerçekleştirilmektedir [9]. Hem alıkonma hem de seçiciliği aynı anda sağlayarak asidik, bazik ve nötral yapıdaki bileşiklerin tayini gerçekleştirilebilmektedir. Bu kromatografik tayin kimyasal olarak modifiye edilmiş sabit fazlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir. İlaç endüstrisinde ters faz sıvı kromatografi ayırmaları için yapılan uygulamalarda silika esaslı dolgu materyalleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında başarılı bir ayırma için mobil fazdaki organik modifiyerin tipi, eluent bileşimi, pH ve tampon derişimindeki değişim sağlanmalıdır. Tayin edilen bileşik iyonlaşabilir ise mutlaka mobil faz pH'sı, sıcaklık ve mobil fazdaki organik çözücü derişimindeki değişimden etkilenir. Mobil fazın gücü sadece organik çözücünün derişimine bağlı değil aynı zamanda kullanılan çözücünün tipine de bağlıdır. Bu çalışmada kullanılan asetonitril (ACN), polar aprotik bir çözücüdür ve hem suda hem de polar çözücülerde çözünme özelliğine sahiptir. Su ile farklı hacimlerde karıştırılarak oluşturulan hidro-organik karışımlarda, miktarındaki değişime bağlı olarak RPLC'de analizlenen bileşiğin alıkonma davranışında etkin bir rol oynamaktadır [9,10]. Bunun yanında iyonlaşan bileşiklerin analizinde, analitlerin iyonlaşma /protonasyon (pK_a) değerlerinden en az bir birim uzaklıktaki mobil faz pH'ı kromatografik tayin için tercih edilebilir. pK_a önemli bir fizikokimyasal parametredir. Analitin pK_a değerleri, iyonlaşan bileşiklerin çözünürlüğünü etkilediği gibi farmakokinetik (ADME-absorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım) özelliklerinin belirlenmesinde de etkin bir parametredir. Bu fizikokimyasal parametrenin tayini için kullanılan potansiyometrik titrasyonlar ve spektrofotometrik analizler, eğer bileşik saf değilse suda az çözünüyorsa, belirgin bir kromofor grubu yoksa ve miktarı azsa sorun teşkil edebilir. Bu gibi dezavantajların üstesinden gelen RPLC metodu ile pK_a değerlerinin tayini daha çok tercih edilmektedir [11-13].

Çalışılan mobil faz pH'sı (s_pH) ve analit alıkonması arasındaki ilişki kullanılarak hidro-organik karışımlarda analitin yapısındaki belirli fonksiyonel grubun pK_a (s_pK_a) değeri hesaplanabilir. İzokratik metotla gerçekleştirilebilen bu tayinle günümüzde birçok ilaç etken maddenin pK_a değerinin tayini yapılabilmektedir. RPLC metotla yapılan analizlerde su ortamında çözünürlüğü az olan bileşiklerin pK_a tayini hidro-organik karışımlarda yapılmakta ve bu ortamlarda elde edilen s_pK_a verileri kullanılarak su ortamındaki pK_a (w_pK_a) değerleri hesaplanabilmektedir [9,14].

Pürin nükleozid analogu favipiravir hidrofilik özelliği olmasına rağmen yapılan HPLC çalışmaların çoğunda hidro-organik karışımları içeren mobil fazlar kullanılarak RPLC metoduyla analizlenmiştir. Sunulan bu çalışmada favipiravir suca zengin, su-ACN ikili karışımlarında (% 2, 4, 6, v/v) çözülerek RPLC metoduyla analizlenmiştir. Analiz için iki farklı kimyasal yapıya sahip C18 kolon tercih edilmiş ve bileşiğin kromatografik davranışı belirlenmiştir. Kolon sıcaklığı olan 37°C'de yapılan kromatografik analizler sonucunda favipiravirin mobil fazdaki pH değişimine bağlı olarak alıkonma zamanındaki (t_R) değişim incelenmiştir. pH- t_R arasındaki doğrusal olmayan ilişki kullanılarak favipiravirin %2, 4, 6 (v/v) ACN içeren ACN-su ikili karışımlarındaki s_pK_a değerleri belirlenmiştir. Mobil fazda kullanılan ACN'nin makroskopik özellikleri (mol kesri, dielektrik sabiti) ve s_pK_a değerleri kullanılarak favipiravirin su ortamındaki pK_a (w_pK_a) değeri hesaplanmıştır. 37 °C'de elde edilen bu değer Abraham çözünen parametreleri kullanılarak [15] 25°C için de deneysel bir çalışma yapmadan tahmin edilmiştir. Ayrıca bileşiğin farklı pH değerlerinde iyonlaşma derecesi Henderson-Hasselbach eşitliği ile hesaplanmıştır [16].

2. Materyal ve Metot

2.1. Kimyasallar ve Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar analitik saflıktadır. Favipiravir Supelco (St. Louis, USA) firmasından, asetonitril (ACN), sodyum hidroksit (NaOH), o-fosforik asit (o- H_3PO_4), potasyum hidrojen ftalat (KHP) ise Merck (Darmstadt, Germany) firmasından temin edilmiştir.

pH analizleri için yapılan elektrot kalibrasyonunda, KHP çözeltisi 0,05 mol/kg derişimde çalışılan su-ACN ikili karışımlarında çözülerek hazırlanmıştır [17]. Favipiravirin su ortamında yeterince çözünürlüğü ($\log S$: -1,42) [18] olmadığından, bileşiğin su-ACN ortamlarında kromatografik davranışının belirlenmesi için % 2, 4, 6 (v/v) ACN içeren su-ACN ikili karışımlarında çalışma gerçekleştirilmiştir. Bileşik kalitatif analizi için mobil fazda çözülerek, 100 $\mu\text{g/mL}$ derişimde hazırlanmış ve güneş ışığından uzak, +4 °C'de saklanmıştır.

2.2. Kullanılan Cihazlar ve Kromatografik Koşullar

Favipiravirin kromatografik analizleri için Shimadzu HPLC cihazı kullanılmıştır (Kyoto, Japan). Kullanılan sistem UV dedektör (SPD-20A), kolon fırını (CTO-20A), pompa (LC20AD), degazer (DGU-20A3) ve manuel enjeksiyon sisteminden oluşmaktadır. Mobil faz pH analizleri için Mettler Toledo marka pH metre cihazı (Schwerzenbach, Switzerland) kullanılmıştır. Çalışma boyunca kullanılan ultra saf su Direct-Q3 UV su saflaştırma sisteminden (Millipore, Bedford, MA, USA) temin edilmiştir.

Bileşiğin kromatografik analizi için iki farklı özellikte C18 kolon tercih edilmiştir. Karbon içeriği sırasıyla %15 ve %14 ve pH çalışma aralığı sırasıyla 2-12 ve 1-12 olan X Terra RP18 kolon (250x4,6 mm, 5 μm ; Waters) ve Gemini NX C18 (250x4,6 mm, 5 μm ; Phenomenex) tercih edilmiştir. % 2, 4, 6 (v/v) ACN içeren su-ACN ikili karışımlarında hazırlanan mobil faza 40 mM o- H_3PO_4 ilave edilmiş ve istenilen pH değeri 1 M NaOH

çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. Mobil faz pH'sı 3,5-7,5 arasında tutularak, favipiravirin iki C18 kolonda kromatografik alıkonma davranışı ve s_pK_a değeri belirlenmiştir. Bileşiğin analizi HPLC pompa basıncının aynı olduğu akış hızı X Terra RP18 kolon da 0,8 mL/dakikada, Gemini NX C18 kolonda 1 mL/dakikada sabitlenmiştir. Bileşik 225 nm'de UV dedektörle ve 37°C kolon sıcaklığında tayin edilmiştir. HPLC sistemine 20 µL enjekte edilen bileşik üç tekrarlı olarak analiz edilmiş ve kesinliği yüksek olan bu analizin bağıl standart sapma değeri %1'nin altında hesaplanmıştır.

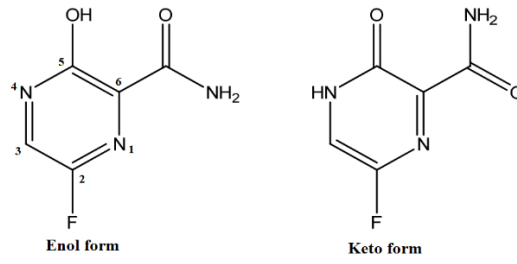
2.3. Teorik Alıkonma Zamanı ve s_pK_a Verilerinin Hesaplanması

Favipiravirin çalışılan hidro-organik ikili karışımlarını içeren mobil faz pH değişimlerine bağlı olarak RPLC metoduyla belirlenmiş, alıkonma zamanı değerleri kullanılarak doğrusal olmayan regresyon programıyla (NLREG) s_pK_a değerleri ve iyonlaşmış ve iyonlaşmamış formlarının uç t_R (HA, A⁻) değerleri hesaplanabilmiştir [19]. Hesaplanan bu veriler kullanılarak teorik t_R değerleri hesaplanmış ve teorik ve deneysel veriler arasındaki uyum artık kareler toplamı ile (RSS) ile verilmiştir.

3. Bulgular

Bu çalışmada favipiravirin (6-floro-3-hidroksi-2-pirazinkarboksamid) analizi için pH çalışma aralığı kısıtlı olan klasik silika esaslı bir kolonla çalışmak yerine modifiye edilmiş C18 kolonlar tercih edilmiştir. X Terra RP18 kolon (250x4,6 mm, 5 µm; Waters) hibrit esaslı, asidik ve bazik bileşiklerin analizi için geliştirilmiş polar gömmeli bir kolondur. Silika ve polimerik esaslı kolonlara göre pH kararlılığı ve tekrarlanabilirliği yüksek bir kolondur. 125 A° gözenek büyüklüğüne sahip küresel yapıdaki parçacıklardan oluşmuştur [20]. Gemini NX C18 (250x4,6 mm, 5 µm; Phenomenex) polimerik silikayı saf silika substrat çekirdeği üzerine dahil eden patentli bir işlemle geliştirilmiştir. Etan ligandları, Silisyum atomları arasında köprü oluşturan polimerik silika içine gömülüdür. Bu yapı aynı anda oldukça yüksek pH kararlılığı ve mekanik direnç sağlamaktadır. 110 A° gözenek büyüklüğüne sahip küresel yapıdaki parçacıklardan oluşmuştur [21]. Literatürde bu tip kolonlarla favipiravirin sıvı kromatografik analizinde bileşiğin alıkonma davranışı ile ilgili hiçbir veri yoktur. Ayrıca kolonun etkin tabaka sayısının yüksek olması (X Terra için 4933; Gemini NX için 10386) ve kuyruklanma faktörünün (X Terra için 1,073; Gemini NX için 1,046) de 2'den düşük olması bileşiğin simetrisinin ve kolon performansının iyi olduğunu göstermektedir.

Favipiravir hem enol hem de keto formuna sahiptir (Şekil 1). Enol formu bir aromatik fenol benzeri yapıya sahipken, keto formu bir dizi dört konjuge çift bağa sahiptir [22]. Bileşik, hangi tautomerik formunun bir hedef biyomoleküle bağlı olduğunu belirlemek için ilaç tasarımı ve geliştirilmesinde ilgi çekebilecek keto-enol tautomerizmi potansiyeline sahiptir. Yapılan son hesaplamalar enol formunun keto formundan kararlı olduğunu göstermektedir [23-25]. Bileşiğin pK_a değerine yönelik herhangi bir deneysel çalışma yoktur. Deneysel çalışma yerine kimyasal yapı özellikleri göz önüne alınarak hesaplama yapan bazı paket programlarıyla favipiravirin pK_a değerleri hesaplanmıştır. Kuantum-kimyasal hesaplamalar için AB INITIO/6-311G ve DFT-PBEO/6-311G programları kullanılarak favipiravirin yapısında bulunan pirazin halkasının 5 numaralı pozisyonunda bulunan hidroksil grubunun pK_a değeri 13; 6 numaralı pozisyonunda bulunan karboksamid grubundaki primer aminin pK_a değeri 14 olarak hesaplanmıştır [26]. Ayrıca pirazin halkasındaki 1 numaralı azota ait pK_a değeri de 0,6 olarak bulunmuştur [27-28]. Bileşiğin enol formundaki pirazin halkasındaki 4 numaralı azota dair pK_a değeri Yoğunluk fonksiyonel teorisine (DFT) göre 5.1 olarak tahmin edilmiştir [22].



Şekil 1. Favipiravirin enol ve keto formu [22]

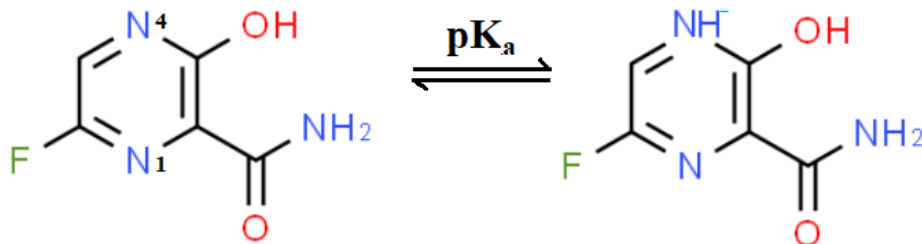
Favipiravirin pK_a değeri ile ilgili hiçbir deneysel çalışma bulunmadığından bu çalışmada seçilen iki farklı özellikteki kolonda, 37°C sıcaklıkta, sabit akış hızında, belirlenen su-ACN ikili karışımlarında hazırlanan mobil fazlarda pH 2 ile 11 arasında bileşiğin alıkonma zamanları belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre pH 3,5-7,5 arasında bileşiğin alıkonma zamanında giderek azalan bir değişim gözlenmiştir. Fakat pH 7,5 ile pH 11 değerleri arasında bileşiğin t_R değerlerinde belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Bu nedenle bu çalışmada mobil faz pH aralığı 3,5-7,5 olarak belirlenmiştir. Çalışılan her bir mobil faz pH değerinde bileşiğin t_R değeri üç tekrarlı olarak belirlenmiş ve ortalama t_R değeri kullanılmıştır. Mobil fazdaki ACN ve pH değişimine bağlı olarak iki kolondan elde edilen deneysel t_R değerleri NLREG programında analizlenmiştir. Elde edilen s_pK_a ve t_{RHA} , t_{RA^-} değerleri standart sapma değerleriyle birlikte Tablo 1’de verilmiştir [19].

Tablo 1. NLREG programı ile hesaplanmış s_pK_a ve t_{RHA} , t_{RA^-} verileri

% ACN (v/v)	X TERRA C18			GEMİNİ NX		
	s_pK_a	t_{RHA}	t_{RA^-}	s_pK_a	t_{RHA}	t_{RA^-}
2	4,802 ± 0,061*	10,937 ± 0,196	4,689 ± 0,107	4,813 ± 0,089*	9,308 ± 0,241	4,055 ± 0,133
4	5,016 ± 0,078	9,129 ± 0,186	3,870 ± 0,086	5,278 ± 0,110	6,679 ± 0,144	3,403 ± 0,131
6	5,239 ± 0,050	8,134 ± 0,097	3,523 ± 0,079	5,807 ± 0,096	5,930 ± 0,109	2,552 ± 0,140

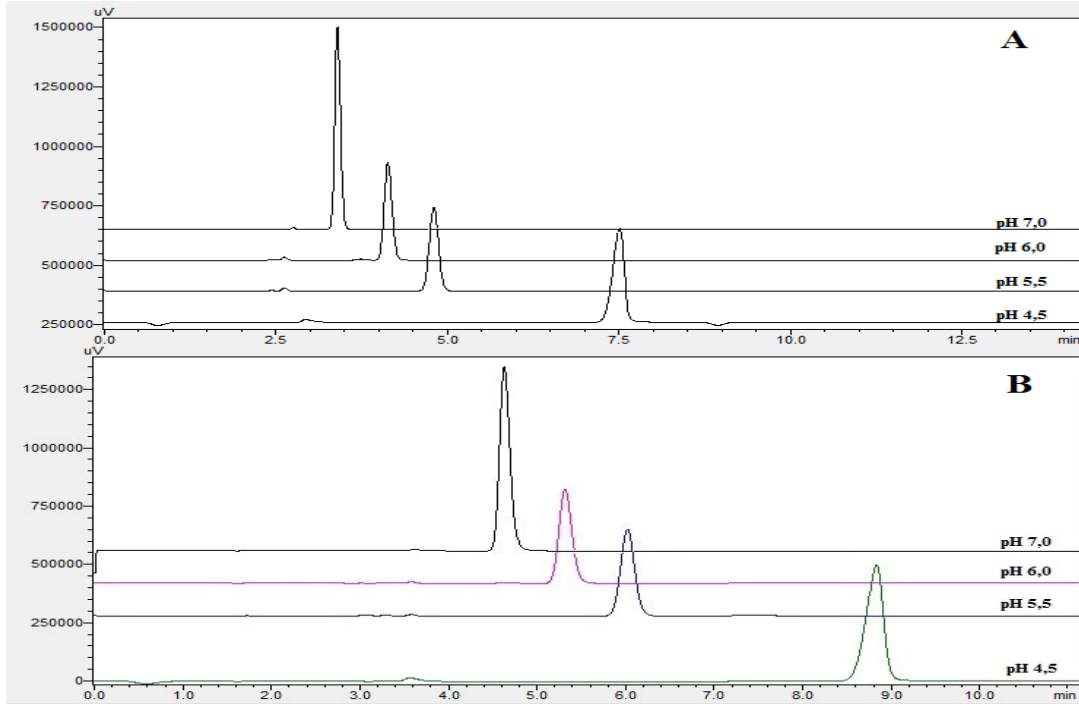
*Standart sapma

Çalışılan her bir ACN yüzdesindeki değişime bağlı olarak değişen s_pK_a değerleri, bileşiğin pirazin halkasındaki 4 numaralı pozisyonunda bulunan azot grubuna aittir. Bileşiğin iyonlaşma dengesi Şekil 2 de verilmiştir. Tablo 1’de görüldüğü gibi mobil fazdaki ACN miktarı arttıkça bileşiğin s_pK_a değeri artmaktadır. Bu durum asidik özellikteki bu grubun kromatografik davranışıyla uyum içerisinde [9].



Şekil 2. Favipiravirin iyonlaşma dengesi

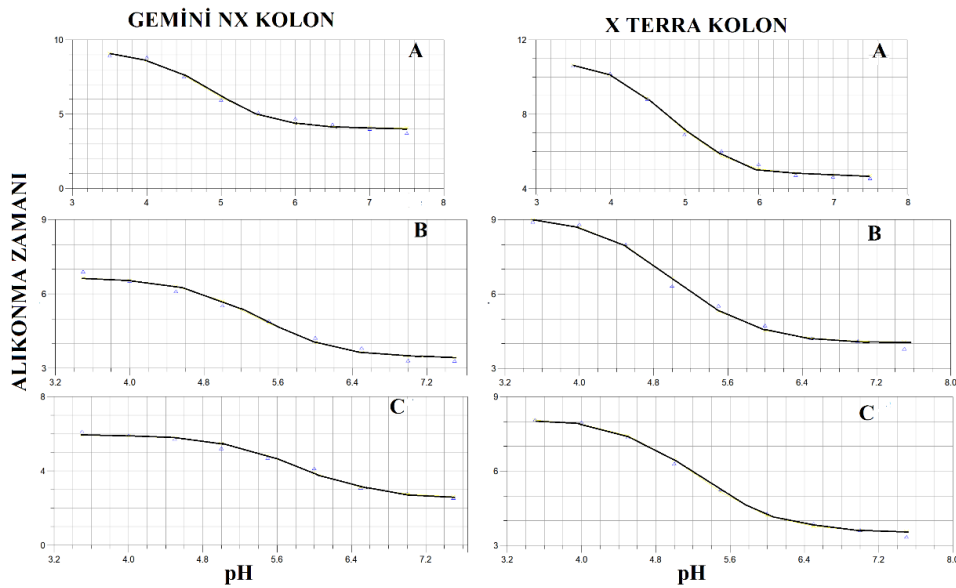
%6 (v/v) ACN içeren ACN-su ikili karışımlarında mobil faz pH'sına bağlı olarak t_R değerinin değişimini gösteren kromatogramlar Şekil 3'te verilmiştir. NLREG programından elde edilen pH- t_R ilişkisi çalışılan üç ortam için Şekil 4'de gösterilmiştir.



Şekil 3. pH- t_R ilişkisini gösteren kromatogramlar A) Gemini NX C18 B) X Terra C18

Bu çalışmada favipiravirin sıvı kromatografik davranışı için teorik t_R değerleri de hesaplanarak, deneysel ve teorik değerlerin uyumu artık kareler toplamı (RSS) hesaplanarak gösterilir. Teorik t_R değerleri NLREG programından elde edilen s_pK_a ve t_{RHA} , t_{RA-} değerleri kullanılarak Denklem 1 ile hesaplanmıştır [23].

$$t_{R\text{teorik}} = t_{RHA} \left(\frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} \right) + t_{RA-} \left(\frac{K_a}{[H^+] + K_a} \right) \quad (1)$$



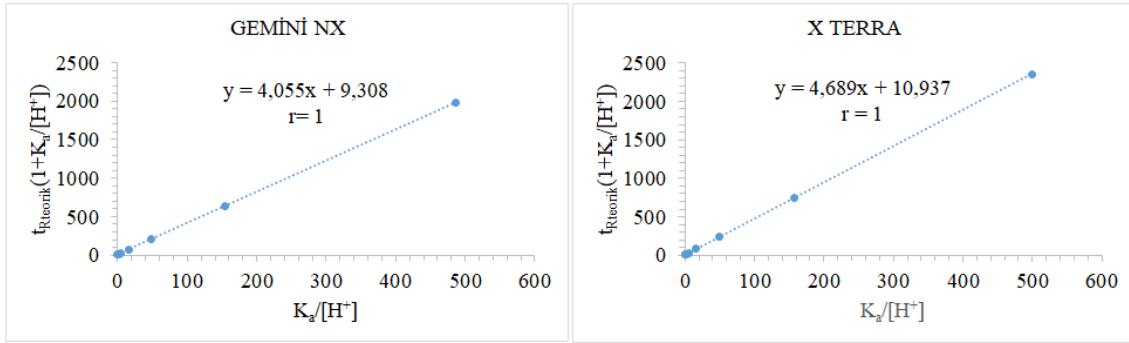
Şekil 4. NLREG programı ile pH- t_R ilişkisi A) %2 (v/v) ACN; B) %4 (v/v) ACN; C) %6 (v/v) ACN içeren ACN-su ikili karışımı

Denklem 1 kullanılarak favipiravirin %2 (v/v) ACN içeren hidro-organik karışımda ve değişen mobil faz pH değerlerindeki $t_{Rteorik}$ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Favipiravir için deneysel ve hesaplanmış teorik alıkonma zamanı değerleri

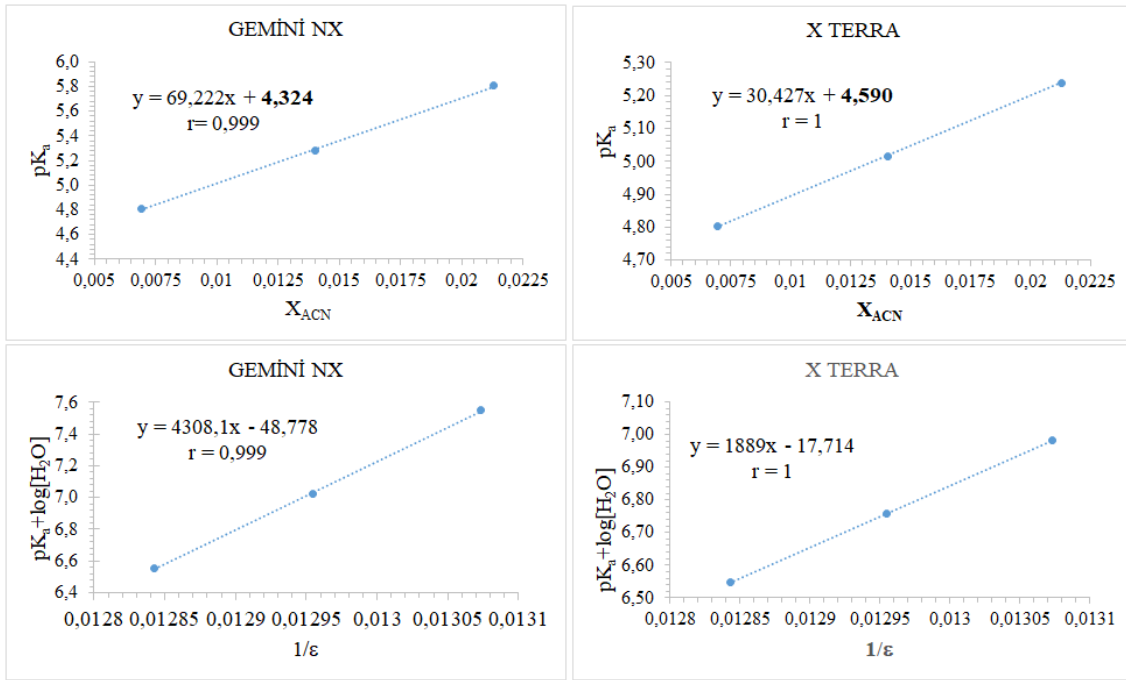
pH	GEMİNİ NX				X TERRA			
	% 2 (v/v) ACN				% 2 (v/v)ACN			
	$t_{Rdeneysel}$	$t_{Rteorik}$	$t_{Rdeneysel}-t_{Rteorik}$	$(t_{Rdeneysel}-t_{Rteorik})^2$	$t_{Rdeneysel}$	$t_{Rteorik}$	$t_{Rdeneysel}-t_{Rteorik}$	$(t_{Rdeneysel}-t_{Rteorik})^2$
3,5	8,951	9,064	-0,113	0,013	10,599	10,640	-0,041	0,002
4	8,824	8,608	0,216	0,047	10,190	10,118	0,072	0,005
4,5	7,509	7,589	-0,080	0,006	8,822	8,919	-0,097	0,009
5	5,947	6,125	-0,178	0,032	6,891	7,179	-0,288	0,083
5,5	5,096	4,951	0,145	0,021	6,012	5,771	0,241	0,058
6	4,706	4,376	0,330	0,109	5,314	5,077	0,237	0,056
6,5	4,292	4,161	0,131	0,017	4,720	4,817	-0,097	0,009
7	3,990	4,089	-0,099	0,010	4,630	4,730	-0,100	0,010
7,5	3,716	4,066	-0,350	0,122	4,555	4,702	-0,147	0,022
			RSS	0,377			RSS	0,255

Tablodaki deneysel t_R veriler arasında 0,5-1,0 dakika arasında farklılıklar görülmektedir. Bunun sebebi de kolonların iç dolgu malzemelerinin kimyasal yapılarının farklı olmasından ileri gelmektedir. Tablo 2 incelendiğinde elde edilen artık kareler toplamının (RSS) oldukça küçük olduğu, deneysel ve teorik değerlerin birbirleriyle uyumlu olduğu görülmektedir. Bunun yanında $t_{Rteorik}(1 + K_a/[H^+])$ verilerine karşın $K_a/[H^+]$ grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrusal fonksiyonun eğim ve kesim değerleri sırasıyla t_{RA^-} , t_{RHA} değerlerini vermektedir. Bu doğrusal ilişkiyi gösteren grafikler Şekil 5’de verilmiştir. Elde edilen grafik doğrusaldır ($r=1$), eğim ve kesim değerleri de NLREG sonuçlarıyla birebir uyumludur.



Şekil 5. $K_a/[H^+] - t_{Rteorik}(1 + K_a/[H^+])$ doğrusal ilişkisini gösteren grafikler

Favipiravirin su ortamında yeterince çözünürlüğü ($\log S$: -1,42) [18] olmadığından, bileşik % 2, 4, 6 (v/v) ACN içeren su-ACN ikili karışımlarında kromatografik davranışının belirlenmesi amaçlanmış ve bileşiğin s_pK_a değeri NLREG programıyla hesaplanmıştır. Farklı yaklaşımlar kullanarak favipiravirin su ortamındaki pK_a (w_pK_a) değeri de hesaplanmıştır. Bunun için ilk olarak ACN’nin çalışılan hacimce yüzdelere karşılık gelen mol kesri (X_{ACN}) değerleri kullanılmıştır [29]. Bunun için farklı NLREG programıyla belirlenmiş s_pK_a değeri, X_{ACN} değerlerine karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrusal fonksiyonun kesim değeri favipiravirin su ortamındaki pK_a (w_pK_a) değerini verir (Şekil 6). İkinci yaklaşımda Yasuda-Shedlovsky metodunda $s_pK_a + \log[H_2O]$ değerleri $1/\epsilon$ ’a karşı grafiğe geçirilerek doğrusal bir ilişki ($r=1$) elde edilmiştir [30]. Bu yaklaşımda kullanılan ACN’nin dielektrik sabiti (ϵ) değerleri Barbosa ve ark. tarafından hesaplanmıştır [29].



Şekil 6. ${}^s pK_a$ - X_{ACN} ve Yasuda-Shedlovsky yaklaşımları ile ${}^w pK_a$ değerlerinin hesaplanması

ACN'nin mol kesri kullanılarak yapılan hesaplamalarda doğrusal fonksiyonun kesim değeri favipiravirin ${}^w pK_a$ değerini vermiştir. Yasuda-Shedlovsky metodunda ise doğrusal bir ilişki elde edilen fonksiyonda $1/\epsilon$ değeri yerine ($\epsilon:78,5$) 0,0127 değeri; $\log[H_2O]$ yerine $\log 55,5:1,744$ değeri konularak bileşiğin ${}^w pK_a$ değeri Gemini NX kolon için 4,358 ve X Terra kolon için 4,606 hesaplanmıştır. Her iki yaklaşımla hesaplanan ${}^w pK_a$ değeri arasında en fazla $\pm 0,034$ fark gözlemlenmiştir. Bu da sonuçların birbiriyle uyumlu olduğunu göstermektedir.

Deneysel olarak seçilen sıcaklıkta ($37^\circ C$) hesaplanan ${}^w pK_a$ değeri ve asidik gruplar için belirlenmiş Abraham çözünen parametreleri (Tablo 3) Denklem 2 ve Denklem 3'te yerine konulduğunda ΔpK_a değeri ve deneysel bir çalışma yapmadan favipiravirin $25^\circ C$ 'deki ${}^w pK_a$ değeri hesaplanmıştır [15].

$$\Delta pK_a = k_0 pK_a^{37} + c_0 + c_1 \sum \alpha_2^H + c_2 \sum \beta_2^H + c_3 \pi_2 + c_4 R_2 + c_5 V_x \quad (2)$$

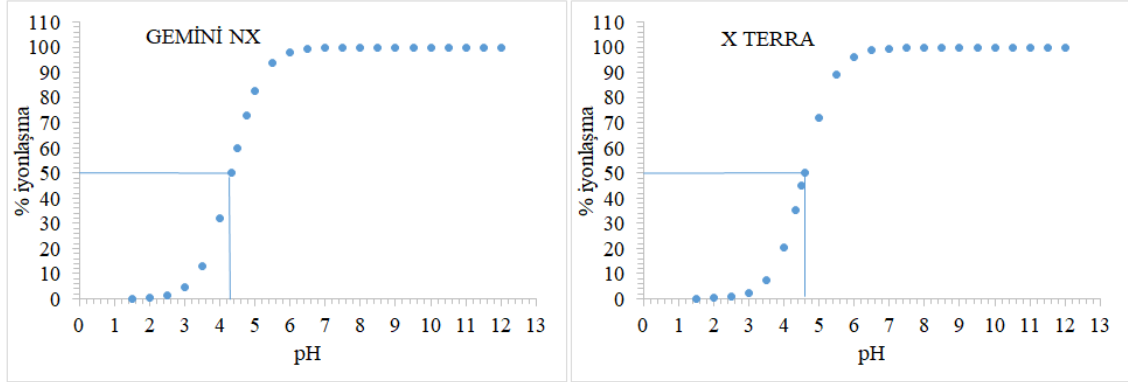
$$\Delta pK_a = pK_a^{37} - pK_a^{25} \quad (3)$$

Tablo 3. Abraham çözünen parametreleri

	k_0	c_0	$c_1 \sum \alpha_2^H$	$c_2 \sum \beta_2^H$	$c_3 \pi_2$	$c_4 R_2$	$c_5 V_x$
Asitler	-0,022	0,123	0,093	0,045	-0,145	0,004	0,028

$37^\circ C$ sıcaklıkta ${}^s pK_a$ - X_{ACN} ilişkisi kullanılarak Gemini NX kolon için bulunan ${}^w pK_a = 4,324$ kullanıldığında $25^\circ C$ için ${}^w pK_a = 4,270$ olarak hesaplanmıştır. X Terra kolon için ${}^w pK_a = 4,590$ kullanıldığında $25^\circ C$ için ${}^w pK_a = 4,543$ olarak hesaplanmıştır. Sun ve Avdeef tarafından yapılan çalışma [15] incelendiğinde asidik fonksiyonel grup içeren bileşiklerin $25^\circ C$ 'deki pK_a değerleri, $37^\circ C$ 'de hesaplanan pK_a değerlerine göre daha azdır. Bu sonuç yapılan hesaplamaların doğruluğunu desteklemektedir.

Bir ilacın iyonlaşma derecesi, ADME özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. İyonlaşmayan ilaçlar hücre membranını kolaylıkla geçebildiğinden, ortam pH'sı değiştikçe ilacın nasıl iyonlaştığının anlaşılması gerekmektedir. Bir ilacın belirli pH değerlerinde iyonlaşıp iyonlaşmadığı formların belirlenebildiği iyonlaşma yüzdesi Henderson-Hasselbach denklemi ile hesaplanabilir [16]. Favipiravir için % iyonlaşma, w_pK_a değeri kullanılarak hesaplanmıştır. pH 1,5-12 aralığında % iyonlaşma değerlerini gösteren grafik Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Favipiravirin % iyonlaşma değerleri

Asidik fonksiyonel grubunu içeren favipiravirin %50'sinin iyonlaştığı pH, bileşiğin pK_a değerini vermektedir. Şekil 7'ye göre bu bileşiğin pK_a değerinin yaklaşık 2,5 birim üzerinde iyonlaşmadığı görülmektedir.

4. Sonuç ve Yorum

Favipiravirin COVID-19 tedavisinde önemli bir yeri olmasına rağmen, bileşiğin pK_a değeri ile ilgili literatürde deneysel bir veri yoktur. Kullanılan değerler tahmini değerlerdir. Bunun için elde edilen deneysel veriler, bu konuda yapılmış ilk çalışma niteliği taşımaktadır. Favipiravirin keto-enol tautomerik dengesinde, literatüre uygun olarak enol formun kararlı olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle pK_a hesaplaması enol form kullanılarak yapılmıştır. RPLC ile yapılan çalışmada elde edilen deneysel verinin hangi fonksiyonel gruba ait olduğu, tahmini programlara göre yapılan hesaplamalarla belirlenebilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler favipiravirin 37°C'de belirlenmiş ilk alıkonma verileridir. Ayrıca literatürde yapılan çalışmalara göre daha az miktarda organik çözücü kullanılmıştır. Bunun dışında herhangi bir deneysel çalışma yapmadan Abraham çözünen parametrelerini kullanarak bileşiğin 25°C'deki su ortamındaki pK_a değeri de tahmin edilmiştir. Favipiravirin 37°C'de vücut sıvılarında ve bölgelerindeki iyonlaşma yüzdeleri de bu çalışma ile hesaplanabilmiştir. Bu çalışma ile sıvı kromatografik analizlerde metot optimizasyonu çalışmaları için gerekli bir parametre olan pK_a değerinin belirlenmesi, herhangi bir deneme yanılmaya ihtiyaç olmadan favipiravirin RPLC analizlerinde kromatografik koşullarının optimizasyonunu sağlamaktadır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Ü. A. Arzuoğlu: Araştırma, Metodoloji, Veri İyileştirme

İ. Konçe: Araştırma, Metodoloji, Kaynak/Materyal/Malzeme Temini, Veri İyileştirme

E. Çubuk Demiralay: Araştırma, Metodoloji, Doğrulama, Denetim/Gözlem/Tavsiye

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir destek ve teşekkür beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] K. Shiraki, T. Daikoku, "Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections", *Pharmacology & Therapeutics*, 209, 107512, 2020.
- [2] O. S. Reddy, W.-F. Lai, "Tackling COVID-19 Using Remdesivir and Favipiravir as Therapeutic Options". *ChemBioChem*, 22, 939–948, 2021.
- [3] H. M. Marzouk, M. R. Rezk, A. S. Gouda, A. M. Abdel-Megied, "A novel stability-indicating HPLC-DAD method for determination of favipiravir, a potential antiviral drug for COVID-19 treatment; application to degradation kinetic studies and in-vitro dissolution profiling", *Microchemical Journal*, 172, 106917, 2022.
- [4] S. M. Megahed, A. A. Habib, S. F. Hammad, A. H. Kamal, "Chemometric approach based on factorial and Box-Behnken designs for determination of anti-coronavirus drug; favipiravir in bulk and spiked human plasma by green HPLC method", *Turkish Journal of Analytical Chemistry*, 3(2), 70-78, 2021.
- [5] S. M. Megahed, A. A. Habib, S. F. Hammad, A. H. Kamal, "Experimental design approach for development of spectrofluorimetric method for determination of favipiravir; a potential therapeutic agent against COVID-19 virus: Application to spiked human plasma", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 249, 1192412, 2021.
- [6] S. Allahverdiyeva, O. Yunusoglu, Y. Yardım, Z. Sentürk, "First electrochemical evaluation of favipiravir used as an antiviral option in the treatment of COVID-19: A study of its enhanced voltammetric determination in cationic surfactant media using a boron-doped diamond electrode", *Analytica Chimica Acta*, 1159, 338418, 2021.
- [7] P. Talay Pınar, T. Tuluk, Z. Şentürk, "Determination of Pravastatin Drug Formulation by Squarewave Voltammetry on Glassy Carbon Elektrode", *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 22(64), 29-35, 2020.
- [8] M. Mehmandoust, Y. Khoshnavaz, M. Tuzen, N. Erk, "Voltammetric sensor based on bimetallic nanocomposite for determination of favipiravir as an antiviral drug", *Microchimica Acta*, 188, 434, 2021.
- [9] M. Hailat, I. Al-Ani, M. Hamad, Z. Zainab, W. A. Dayyih, "Development and Validation of a Method for Quantification of Favipiravir as COVID-19 Management in Spiked Human Plasma", *Molecules*, 26, 3789, 2021.
- [10] Y. Kazakevich, Y. Lohrutto, *HPLC for Pharmaceutical Scientists*, 1st ed. Wiley-Interscience, USA, 2007.
- [11] V. R. Meyer, *Practical High-Performance Liquid Chromatography*, 5th ed., John Wiley and Sons, United Kingdom, 2010.
- [12] R. Bergés, V. Sanz-Nebot, J. Barbosa, "Modelling Retention in Liquid Chromatography as a Function of Solvent Composition and pH of the Mobile Phase", *Journal of Chromatography A*, 869, 27-39, 2000.
- [13] M. Rosés, E. Bosch, "Influence of Mobile Phase Acid-Base Equilibria on The Chromatographic Behaviour of Protolytic Compounds", *Journal of Chromatography A*, 982, 1-30, 2002.
- [14] H. Seçilmiş, E. Çubuk Demiralay, K. Poturcu, "Determination of chromatographic protonation constants of some imidazole antimycotic drugs in acetonitrile-water binary mixtures", *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 46(2), 405-417, 2022.
- [15] İ. Konçe, S. Akkoç, Z. Üstün, E. Çubuk Demiralay, "Liquid Chromatographic Determination of pK_a Value of 1-(2-methylbenzimidazole)-3-benzylbenzimidazolium bromide as a Drug Candidate in Acetonitrile-Water Binary Mixtures", *Journal of Research in Pharmacy*, 26(3), 655-662, 2022.
- [16] N. Sun, A. Avdeef, "Biorelevant pK_a (37°C) Predicted from the 2D Structure of the Molecule and its pK_a at 25°C", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56, 173-182, 2011.
- [17] R. J. Tallarida, R. B. Murray, Henderson-Hasselbalch Equation, Editors: R. J. Tallarida, R. B. Murray, *Manual of Pharmacologic Calculations*, Springer, New York, 1987, pp. 74-75.
- [18] T. Mussini, A. K. Covington, P. Longhi, S. Rondinini, "Criteria for Standardization of pH Measurements in Organic Solvents and Water + Organic Solvent Mixtures of Moderate to High Permittivities", *Pure and Applied Chemistry*, 57(6), 865-876, 1985.
- [19] SwissADME program. <http://www.swissadme.ch/index.php>, Accessed: (ie. 25.09.2022).
- [20] NLREG Version 4.0. P.H. Sherrod. <http://www.sandh.com/Sherrod.1991>, Accessed: (ie. 27.09.2022).

- [21] E. M. Borges, D. A. Volmer, "Silica, Hybrid Silica, Hydride Silica and Non-Silica Stationary Phases for Liquid Chromatography. Part II: Chemical and Thermal Stability", *Journal of Chromatographic Science*, 53, 1107-1122, 2015.
- [22] A. Fanigliulo, D. Cabooter, G. Bellazzi, B. Allieri, A. Rottigni, G. Desmet, "Kinetic performance of reversed-phase C18 high-performance liquid chromatography columns compared by means of the Kinetic Plot Method in pharmaceutically relevant applications", *Journal of Chromatography A*, 1218(21), 3351-3355, 2011.
- [23] G. da Silva, "Protonation, Tautomerism and Base Pairing of the Antiviral Favipiravir (T-705)", *ChemRxiv*, 1-7, 2020.
- [24] L. Antonov, "Favipiravir tautomerism: A short theoretical report", *ChemRxiv*, 1-13, 12115620, 2020.
- [25] L. Antonov, "Favipiravir tautomerism: a theoretical insight", *Theoretical Chemistry Accounts*, 139, 1-7 2020.
- [26] Y. Umar, "Theoretical studies of the rotational and tautomeric states, electronic and spectroscopic properties of favipiravir and its structural analogues: a potential drug for the treatment of COVID-19", *Journal of Taibah University for Science*, 14(1), 1613-1625, 2020.
- [27] V. A. Babkin, D. S. Andreev, Y. A. Vashuta, A. V. Kozhukhova, V. S. Belousova, E. S. Titova, A. R. Titova, A. I. Rakhimov, A. K. Brel, R. O. Boldyrev, M. I. Artsis, G. E. Zaikov, "Theoretical Assessment of Acid Strength of Antiviral Favipiravir Medication", *Fluorine notes*, 5(132), 1-5, 2020.
- [28] A. Albert, J. N. Phillips, "Ionization constants of heterocyclic substances. Part II. Hydroxy-derivatives of nitrogenous six-membered ring-compounds", *Journal of the Chemical Society*, 1254-1304, 1956.
- [29] D. A. Keyworth, "Basicity and Ionization Constants of Some Pyrazine Derivatives", *The Journal of Organic Chemistry*, 1355-1356, 1959.
- [30] J. Barbosa, I. Toro, V. Sanz-Nebot, "Acid-Base Behaviour of Tripeptides in Solvents Used in Liquid Chromatography. Correlation Between pK Values and Solvatochromic Parameters of Acetonitrile-Water Mixtures", *Analytica Chimica Acta*, 347(3), 295-304, 1997.
- [31] Y. Motoo, "Dissociation Constants of Some Carboxylic Acids in Mixed Aqueous Solvents", 32(5), 429-432, 1959.

Derin Öğrenme Yardımıyla Aktif Termogramlar Üzerinden Meme Lezyonlarının Sınıflandırması

Soner Çivilibal¹, Kerim Kürşat Çevik^{2,*}, Ahmet Bozkurt³

¹Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, 07070, Antalya, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0003-2943-3101>

²Akdeniz Üniversitesi, Yönetim Bilişim Sistemleri Bölümü, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, 07070, Antalya, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-2921-506X>

*yazışılan yazar: kcevik@akdeniz.edu.tr

³Akdeniz Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, 07070, Antalya, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-3163-0131>

(Alınış / Received: 06.07.2022, Kabul / Accepted: 10.05.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Son yıllarda bilgisayar donanımları ile paralel olarak gelişim gösteren yapay zeka çalışmaları klinikte uzmanların erken teşhis ile olası metastazın önüne geçerek hasta sağ kalımını artırmaktadır. Literatürde klinikte kanser teşhisini gerçekleştiren çokça çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda, kanser sınıflandırmasının yapılması için makine öğrenmesi ve derin öğrenme uygulamaları sıklıkla uygulanmaktadır. Benzer şekilde çalışmada termal meme görüntüleri üzerinden derin öğrenme yöntemleri ile meme kanseri teşhisi ele alınmıştır. Çalışmada kullanılan görüntüler açık erişim olarak sunulan DMR-IR veri setinden alınmıştır. Veri setinden alınan görüntüler üzerinde bazı ön işlemler yapılmış, ardından meme bölgelerinin bölütlenmesi için manuel ve otomatik olmak üzere iki farklı bölütleme metodu uygulanmıştır. Manuel bölütleme işleminde, VIA ile lokalizasyon bilgisi kaydedilen meme bölgelerinin maskesi oluşturup orijinal görüntüden çıkarılarak bölütleme gerçekleştirilmiştir. Otomatik bölütleme işleminde ise Mask R-CNN ve U-NET ile bölütleme yapılmıştır. Bu iki metod için bölütleme performans analizi yapılmış ve 0.9896 doğruluk, 0.9413 Dice ve 0.8900 Jaccard değerini gerçekleştiren Mask R-CNN ile sınıflandırma işlemleri çalışılmıştır. Manuel ve Mask-RCNN metodu ile bölütlenen görüntülerden oluşan termogramlar ile ön eğitilmiş yedi farklı (InceptionV3, MobileNet, MobileNetV2, ResNet50, VGG16, VGG19 ve Xception) mimari kullanılarak meme kanseri sınıflandırması gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak test verilerinde %100 sınıflandırma başarısını doğruluk, kesinlik, duyarlılık ve F1 Skoru ile MobileNet ve InceptionV3 mimarileri sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Termal görüntüleme, Meme lezyonu, Sınıflandırma, Bölütleme, Mask R-CNN, U-Net, Transfer öğrenme

Classification of Breast Lesions via Active Thermograms with the Help of Deep Learning

Abstract: In recent years, artificial intelligence studies, which have developed in parallel with computer hardware, have helped increase patient survival by preventing possible metastasis with early diagnosis of clinicians. There are many studies in literature that carry out diagnosis of cancer in the clinic. In these studies, machine learning and deep learning applications are frequently applied for cancer classification. Similarly, in this study, diagnosis of breast cancer

over thermal images with the help of deep learning methods was discussed. The images used in the study were taken open access made available in the DMR-IR dataset. Some preprocessing was done on the images before manual and automatic segmentation methods were applied to segment the breast regions on images. In the manual segmentation process, the mask of the breast regions whose localization information was recorded with VIA was created and the segmentation was performed by subtracting the mask from the original image. In the automatic segmentation process, segmentation was done using Mask R-CNN and U-NET techniques. Segmentation performance analysis was performed for these two methods and classification operations were done with Mask R-CNN, which realized 0.9896 accuracy, 0.9413 Dice and 0.8900 Jaccard. Breast cancer classification was carried out using seven pre-trained architectures (InceptionV3, MobileNet, MobileNetV2, ResNet50, VGG16, VGG19 and Xception) with thermograms consisting of images segmented by manual and Mask-RCNN methods. As a result, MobileNet and InceptionV3 architectures provided the 100% classification success in test data accuracy, precision, sensitivity and F1 Score.

Keywords: Thermal imaging, Breast lesion, Classification, Segmentation, Mask R-CNN, U-Net, Transfer learning

1. Giriş

Akciğer ve kolon kanseriyle birlikte kadınlarda en sık görülen kanser türlerinden biri olan meme kanseri, kardiyovasküler kanserlerden sonra ölümü en fazla tetikleyen kanserdir [1]. Küresel Kanser Gözlemevi'nin (GLOBOCON) 2020 yılındaki verilerine göre meme kanserinden ölüm oranının %13.6 ve insidans oranının %11.7 olduğu raporlanmıştır [2]. Diğer kanser türlerinde olduğu gibi meme kanserinde de erken teşhis hasta sağ kalımını artıran oldukça önemli bir etkidir. Klinikte hasta tanısının konulabilmesi için öncelikle lezyonun görüntülenmesi çalışılır ve şüpheli bir durum görüldüğünde ise biyopsi yapılarak patoloji sonucuna göre kanser teşhisi tamamlanır. Ancak bu yöntem kanser teşhisinin konulmasında altın standart olarak gösterilse de biyopsinin uygulanan bölgede kanama, morarma ve enfeksiyon gibi riskler barındırdığı bilinen bir durumdur. Klinikte uygulanan görüntüleme yöntemleri arasında ise mamografi altın standart olarak kabul edilir. Bu yöntemin non-invaziv olması ve küçük boyutlu meme kitlelerini tespit edebilmesi gibi avantajları bulunurken hasta konforunu bozması, iyonlaştırıcı radyasyon içermesi ve yoğun dokularda görüntülemenin zorlaşması gibi dezavantajları da mevcuttur.

Mamografi ve klinikte kullanılan diğer görüntüleme yöntemlerinin (Ultrason, MRG vs.) dezavantajlarının önüne geçilebilen hasta konforunu bozmayan, iyonize radyasyon içermeyen ve uygun maliyetli yeni görüntüleme metotlarının klinikte kullanılması yaygınlaşmalıdır. Bu bağlamda son yıllarda literatürde termal kameraların meme lezyonu görüntüleme yöntemlerinde çalışmaları sıklıkla yer aldığı görülmektedir. Cisimlerden yayılan elektromanyetik radyasyonun elektrik sinyallerine çevrilmesiyle sıcaklık bilgisini tespit edebilen bu kameralar lezyonlu dokuların buldukları bölgedeki metabolizma hızı ve kan akış hızını artırması sebebiyle oluşan sıcaklığın haritalanmasını sağlar. Bu yöntemin girişimsiz olması, iyonize radyasyon içermemesi ve hasta konforunu bozmaması gibi avantajları vardır. Yine de lenf nodülleri gibi yoğun damar yapılarını lezyonlu yapılarla benzetmesi yanlış teşhise sebep olabilmektedir. Ancak görüntü işleme ve yapay sinir ağlarının kullanılması ile bu dezavantajın önüne geçilebilmektedir.

Termal görüntüleme yöntemi aktif ve pasif olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmaktadır. Pasif termografi doğrudan nesnelere üzerinden yayılan sıcaklık bilgisinin alınarak görüntünün oluşturulmasını sağlar. Aktif termografi ise görüntülenecek bölgenin bir dış uyaran (ısıtma-soğutma) etkisiyle sıcaklığının

değiştirilmesi ve ısınarak ilk sıcaklığa dönülürken belirli aralıklarda görüntülemenin yapılması şeklinde uygulanır [3]. Literatürde bu yöntemlerle toplanan termogramlar üzerinden kanser teşhisini yapay zeka uygulamaları yardımıyla gerçekleştiren birçok çalışma mevcuttur [4, 5].

Yapay zeka uygulamaları makine öğrenmesi ve derin öğrenme olmak üzere iki şekilde çalışılmaktadır [6, 7]. Makine öğrenmesi çalışmalarında da oldukça başarılı sınıflandırma işlemleri yapılabilir de alınan görüntüler üzerinde çeşitli özellik çıkarımı ve seçimi işlemlerinin manuel olarak yapıldığından görüntünün yapı ve bileşimi ihmal edilebildiği bilinmektedir [8]. Derin öğrenmede ise makine öğrenme algoritmalarının aksine görüntüden özellik çıkarımı işlemleri otomatik olarak yapıldığından daha yüksek doğrulukta sonuçlar elde edilebilmektedir [9]. Ancak bu yöntem ile yapılan çalışmalarda modellerin eğitiminin sağlıklı bir şekilde yapılabilmesi için büyük veriler ile eğitilmesi ve güçlü bilgisayarların kullanılması gerekmektedir. Biyomedikal alanda ise görüntü toplanması işlemleri genellikle sınırlı olduğundan önceden eğitilmiş ağlar kullanılarak az sayıda görüntü ile başarımın artırılmaya çalışıldığı transfer öğrenme çalışmaları sıklıkla tercih edilmektedir [5, 10].

Literatürde yer alan çalışmalara göre meme kanseri teşhisi için derin öğrenme çalışmalarının diğer geleneksel makine öğrenmesi çalışmalarına göre daha başarılı sonuçlar verdiği bilinmektedir. Bu çalışmalarda genellikle meme kanseri teşhisi için algılama, bölütleme ve sınıflandırma çalışmaları yapılmıştır [11-14].

Schaefer, et al. [15] meme kanseri teşhisini ortalama sıcaklık, iki memenin sıcaklık farkı, sıcaklığın standart sapması, medyan sıcaklık gibi istatistiksel özellikler üzerinde bulanık sınıflandırma yöntemi kullanarak çalışmışlardır. Sonuç olarak kanserli ve sağlıklı lezyon tespitini sınıflandırma başarımlarının %80 olduğunu raporlamışlardır.

Acharya, et al. [16] meme kanseri teşhisi için doku özelliklerinin çıkarılmasıyla elde edilen bilgileri Destek Vektör Makinesi (DVM) ile sınıflandırmış ve %88.1 doğruluk, %85.71 duyarlılık ve %90.48 özgüllük elde edildiğini belirtmişlerdir.

Mookiah, et al. [17] meme kanseri teşhisi için doku özellikleri ve Ayrık Dalgacık Dönüşümü (Discrete Wavelet Transform, DWT) ile birlikte makine öğrenmesi algoritmaları ile sınıflandırılmasını çalışmışlardır. Karar Ağacı ve Bulanık Sugeno algoritmalarında %93.3 doğruluk, %86.7 duyarlılık ve %100 özgüllük değerleri ile yüksek başarımlar elde etmişlerdir.

Golestani, et al. [18] termal meme görüntüleri üzerinden lezyonlu bölgelerin bölütlenmesini çalışmışlardır. Bölütleme işlemleri için k-ortalamlar, bulanık c-ortalamlar ve seviye belirleme algoritması kullanılmış ve bu yöntemler arasında en iyi bölütlemeyi seviye belirleme algoritmasının yaptığını nitel olarak ortaya koymuşlardır.

Milosevic, et al. [19] termogramlar üzerinden Gri Düzey Birlikte Oluşum Matrisi (Gray Level Co-Occurrence Matrix, GLCM) kullanarak özellik çıkarımı uygulamış ve SVM, K-NN ve Naive Bayes ile sınıflandırma yapmayı amaçlamış ve sonuç olarak K-NN algoritması ile %92.5 doğruluk başarımının elde edildiğini raporlamışlardır.

Pramanik, et al. [20] Dalgacık Dönüşümü ile özellik çıkarımı işlemleri uygulandıktan sonra İleri Beslemeli Çok Katmanlı Algılayıcı (Feed-Forward Multilayer Perceptron Network, MLP) algoritması ile sınıflandırılma konusunu çalışmışlar ve %90.48 doğruluk, %87.6 hassasiyet ve %89.73 özgüllük değerlerinin elde edildiğini raporlamışlardır.

Baffa and Lattari [3] statik ve dinamik termal görüntüleme ile elde edilen iki farklı veri seti kullanarak meme kanseri teşhisini amaçlamışlardır. Veri setinden alınan görüntüler Evrişimli Sinir Ağı (Convolutional Neural Network, CNN) ile sınıflandırılmış ve statik termal veri setinde %98 doğruluk ve dinamik veri setinde ise %95 doğruluk elde edilmiştir.

Karim, et al. [4] el yordamıyla yapılan bölütleme işlemlerinin ardından GLCM ile özellik çıkarımı ve DVM ile sınıflandırma yaparak termogramlar üzerinden meme kanseri teşhisi konusunu çalışmışlar ve %91.25 doğruluk, %93.3 duyarlılık ve %90 özgüllük değerlerinin elde edildiğini belirtmişlerdir.

Fernández-Ovies, et al. [21] ESA ile transfer öğrenme kullanarak termal meme görüntüleri üzerinden meme kanseri sınıflandırması yapmış ve transfer öğrenme çalışmasında ResNet18, ResNet34, ResNet50, ResNet152, VGG16 ve VGG19 mimarilerini kullanmışlardır. En yüksek sınıflandırma başarımını %100 doğruluk değeri ile ResNet34 ve ResNet50 mimarilerinin elde ettiği raporlanmıştır.

Tello-Mijares, et al. [22] Gradyan Vektör Akış Yılanları (Gradient Vector Flow Snakes, GVFS) ile bölütleme işlemlerini uyguladıktan sonra ESA, TRF, MLP ve Naive Bayes algoritmaları ile termogramlar üzerinden meme kanseri teşhisini çalışmışlardır. Sonuç olarak TRF ile %85.71, MLP ile %88.88 ve NV ile %80.95 sınıflandırma başarımı sağlarken ESA ile %100 doğruluk elde etmişlerdir.

Liang, et al. [23] ultrason görüntüleri üzerinden Mask R-CNN mimarisini kullanarak meme lezyonlarının bölütlenmesi ve sınıflandırılmasını çalışmışlardır. Konvansiyonel elastik (conventional elastic), yalnızca katı (rigit-only) ve çok ölçekli süper piksel elastik (multi-scale super-pixel elastic) olmak üzere üç farklı grupta çalışma yapılmış ve sonuç olarak yalnızca katı grubunda %77.62, konvansiyonel elastik grupta %78.50 ve çok ölçekli süper piksel elastik grubunda %80.42 sınıflandırma başarımlarının elde edildiği bildirmişlerdir.

Chiao, et al. [24] ultrason görüntüleri üzerinden meme kanseri teşhisi için Mask R-CNN mimarisini kullanmışlar ve lezyon bölgesinin tanımlanmasının 0.75 mAP ve sınıflandırma başarımının %85 olduğunu raporlamışlardır.

Farooq and Corcoran [25] termogramlar üzerinden meme kanseri teşhisi için Kontrast Sınırlı Uyum Histogram Eşitleme (Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization, CLAHE) ve normalizasyon işlemleri ile ön işlemler gerçekleştirmiş ve ardından önceden eğitilmiş Inception V3 mimarisi ile transfer öğrenme uygulamışlardır. Sonuç olarak test verilerinde %80 doğruluk, %83.33 hassasiyet ve %77.77 özgüllük değerleri elde etmişlerdir.

Zuluaga-Gomez, et al. [5] meme kanseri teşhisi için ön işlem ve bölütleme işlemlerinin ardından önceden eğitilmiş ResNet, SeResNet, InceptionV3, VGG16, InceptionResNetV2 ve Xception mimarileri ile transfer öğrenme ve kendi geliştirdikleri CNN mimarisi ile sınıflandırma konusunu çalışmışlardır. Sonuç olarak kendi mimarileri ile %92 doğruluk, %94 kesinlik ve %91 duyarlılık değerlerinin önceden eğitilmiş mimarilerden daha yüksek olduğunu raporlamışlardır.

Ghayoumi Zadeh, et al. [26] meme bölgelerinin bölütlenmesinde yarı otomatik ve yapay sinir ağları kullanılarak bölütleme işlemleri uygulanmıştır. Uygulanan bölütleme işlemlerinin ardından ortalama, standart sapma, enerji, entropi ve homojenite ile elde edilen özellikler kullanılarak oto kodlayıcı ile sınıflandırma çalışılmıştır. Sonuç olarak test verilerinde %94.87 doğruluk, %87.5 hassasiyet ve %96.77 özgüllük değerleri elde etmişlerdir.

Çivilibal ve arkadaşları 2023 yılında yaptıkları çalışmada termogramlar üzerinden meme lezyonlarının otomatik tespiti, segmentasyonu ve sınıflandırılması için Mask R-CNN kullanarak Res-Net50 mimarisi ile %97.1 Doğruluk, 0.921 Ortalama Hassasiyet (Mean Average Precision, mAP) ve 0.868 Örtüşme Puanı başarımını elde etmişlerdir [27].

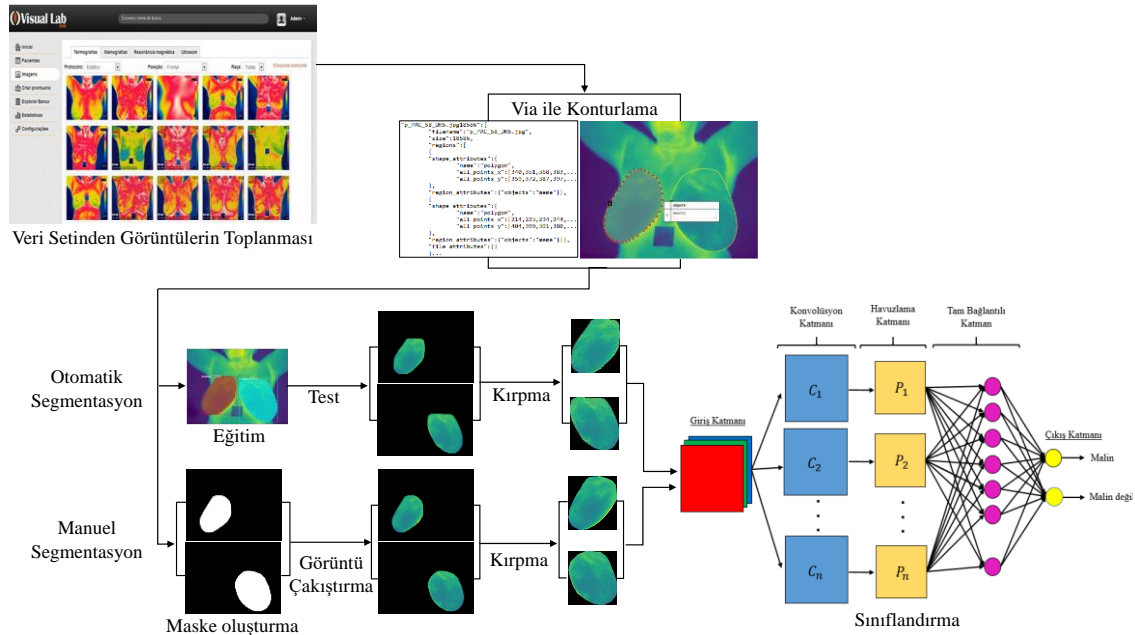
Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, meme kanseri teşhisi için mamogram, ultrason ve termal görüntüleme yöntemlerinin kullanıldığı, elde edilen görüntülerin makine öğrenmesi ve derin öğrenme yöntemleri ile sınıflandırma ve bölütleme çalışmalarında

sıklıkla yer aldığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda genellikle hasta bazında bir sınıflandırma veya termogramlar üzerinde yer alan en sıcak bölgelerin bölütlenmesiyle elde edilen görüntülerin sınıflandırılması çalışılmıştır. Bu çalışmada hasta bazında değil meme bazında çalışılmış ve termogram üzerinde en sıcak bölgenin değil meme bölgesinin bölütlenmesi amaçlanmıştır. Böylece hastanın kanserli birey olduğu bilgisinin yanı sıra hangi memesinin kanserli olduğu tanısı da yapılabilmektedir. Meme bölgesinin bölütlenmesinin ardından termogram üzerinde sadece meme bölgesinde yer alan sıcak bölgeye odaklanılması hedeflenmiş ve ardından elde edilen görüntüler ile transfer öğrenme uygulanarak sınıflandırılması çalışılmıştır. Bu şekilde yapılan kanser teşhisinin girişimsiz olması, hasta konforunu etkilememesi ve zararlı radyasyon içermemesi ile beraber olabildiğince hızlı yapılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada, meme kanseri teşhisi için termogramlar üzerinden derin öğrenme kullanılarak meme bölgelerinin bölütlenmesi ve sınıflandırılması yapılmıştır. Çalışmada kullanılan veriler erişime açık bir kaynakta sunulan [28] veri setinden alınmıştır. Veri setinden alınan görüntüler bölütleme işlemlerinden önce VIA web programı kullanılarak meme bölgeleri işaretlenip “.json” uzantısıyla kaydedilmiştir. Kaydedilen dosya kullanılarak hem manuel hem de otomatik bölütleme işlemleri yapılmıştır. Manuel bölütleme için işaretlenmiş meme bölgeleri kullanılarak meme maskeleri oluşturulmuş ve görüntünün geri kalanından çıkarılarak bölütlenmiştir. Otomatik bölütlemeye ise elde edilen lokalizasyon bilgileri kullanılarak Mask-RCNN ve U-Net ile otomatik bölütleme test edilmiştir. Bölütleme işlemlerinin ardından önceden eğitilmiş evrimsel sinir ağları ile transfer öğrenme uygulanarak sınıflandırma yapılmıştır. Sınıflandırma işlemlerinde manuel ve Mask-RCNN ile elde edilen bölütlenmiş görüntüler ayrı ayrı test edilmiştir. Çalışma sonunda ise kullanılan yöntemlerin sınıflandırma performansları değerlendirilmiştir.

2. Materyal ve Metot

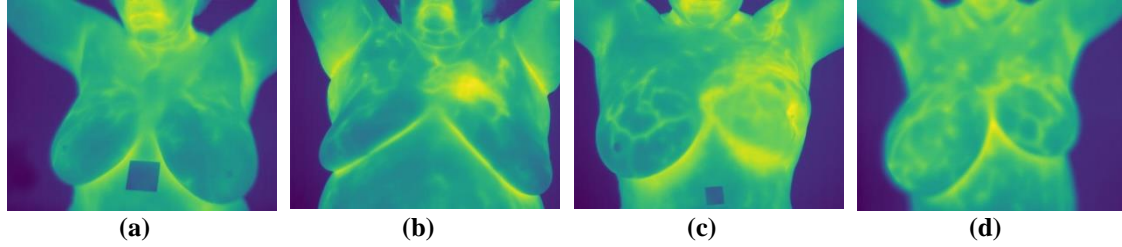
Bu çalışmada termal meme görüntüleri üzerinden meme kanseri teşhisi ele alınmıştır. Çalışma kapsamında tasarlanan sistemin akış şeması Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Çalışma kapsamında tasarlanan sistemin akış şeması

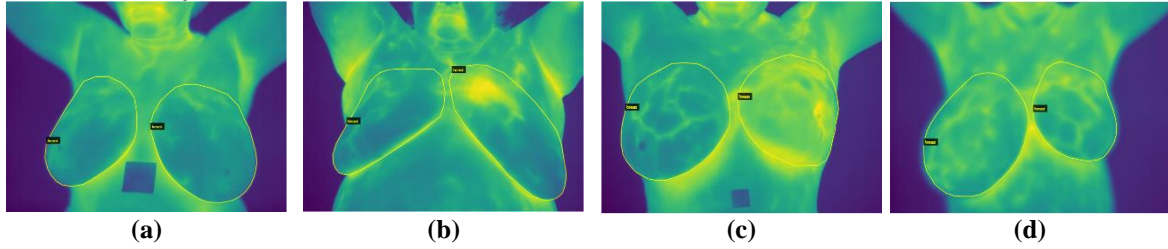
Çalışma kapsamında Silva ve ark. (2014) tarafından paylaşılan termal meme görüntüleri kullanılmıştır. Bu veri seti meme kanseri hastalarından ve sağlıklı hastalardan alınan

termogramlar ve mamogramlardan oluşmaktadır. Veri tabanından alınan termal meme görüntüleri FLIR SC-620 termal kamera kullanılarak 19 sağlıklı ve 37 meme kanseri hastadan alınmıştır. Toplanan meme görüntüleri 640*480 piksel çözünürlükte ve hasta başına 20 adet “.txt” dosyasından oluşmaktadır. Şekil 2’de veri setini temsilen dört hastanın örnek termogram görüntüleri verilmiştir. Hastalardan meme termogramlarının alımı statik ve dinamik termografi olmak üzere iki farklı prosedürde alınmıştır. Statik görüntüleme hastalar belirli bir süre oda sıcaklığında bekledikten sonra kameraya eşit mesafede önden, 45 derece sağ, 90 derece sağ, 45 derece sol ve 90 derece sol olmak üzere farklı pozisyonlarda görüntüler toplanmıştır. Dinamik termografide ise meme bölgeleri soğutucu fan yardımıyla belirli süre soğutulduktan sonra 5 dakika boyunca her 15 saniyede görüntüsü toplanmıştır.



Şekil 2. Veri setinden alınan örnek termogramlar (a) sağlıklı, (b) lezyonlu, (c) mastektomili ve (d) asimetrik meme dokusu [28].

Meme bölgelerinin bölütlenmesi işlemleri için öncelikle görüntüler VGG Image Annotator (VIA) [29] kullanılarak meme dokusunun lokalizasyon bilgileri “.json” dosyası biçiminde kaydedilmiştir. Şekil 3’te verilen görüntülerin VIA ile konturlanmış halleri verilmiştir.



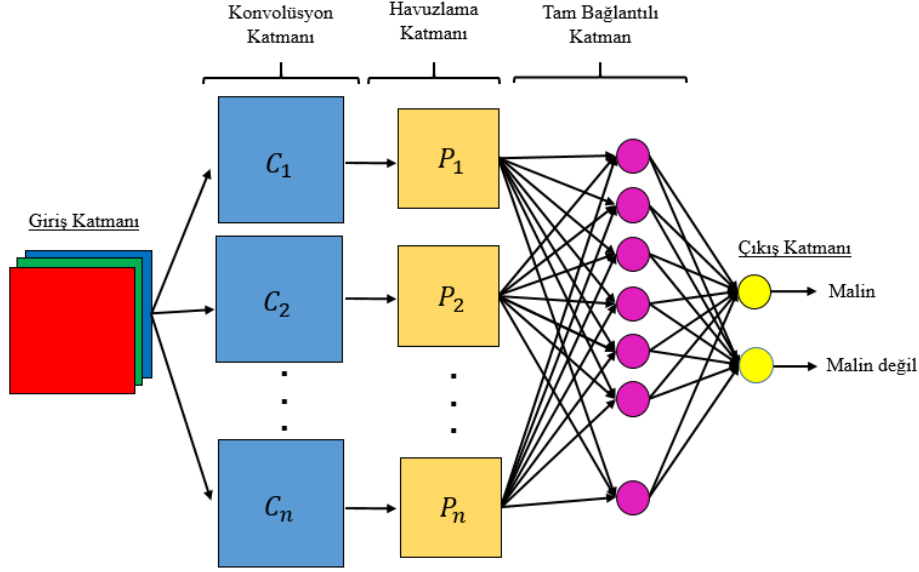
Şekil 3. VIA ile konturlanan termogramlar (a) sağlıklı, (b) lezyonlu, (c) mastektomili ve (d) asimetrik meme dokusu [28].

İşaretlenen meme bölgeleri ile manuel ve otomatik olmak üzere iki farklı bölütleme yöntemi denenmiştir. İlk denemede işaretlenen meme bölgeleri kullanılarak meme maskeleri oluşturulmuş ve orijinal görüntü ile karşılaştırılarak bölütleme yapılmıştır. İkinci denemede ise Mask-RCNN ve U-Net metotları ile otomatik bölütleme çalışılmıştır. Bölütleme işlemlerinin ardından önceden eğitilmiş evrimsel sinir ağları ile transfer öğrenme uygulanarak sınıflandırma yapılmıştır. Sınıflandırma işlemlerinde manuel ve Mask-RCNN ile elde edilen bölütlenmiş görüntüler ayrı ayrı test edilmiştir. Çalışma sonunda ise kullanılan yöntemlerin sınıflandırma performansı değerlendirilmiştir.

2.1 Ağ mimarisi

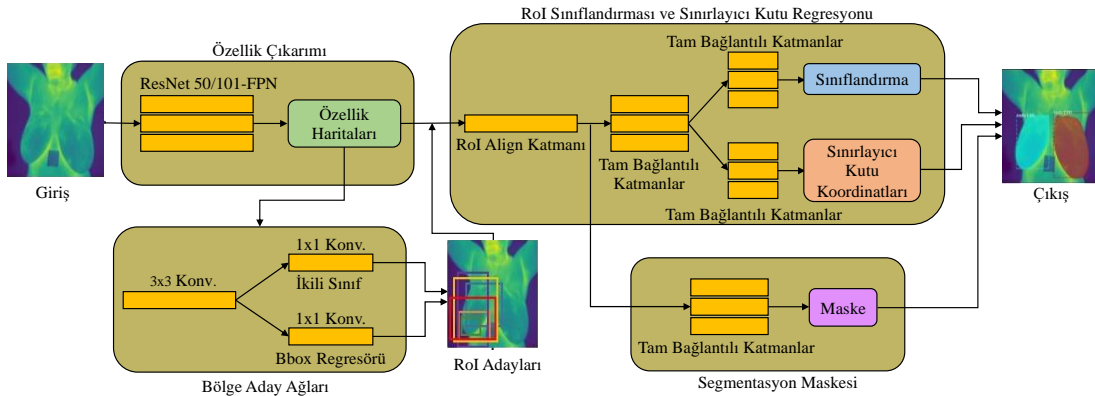
Bu çalışmada sınıflandırma işlemleri için literatürde bir çok çalışmada da kullanılan ve kanser sınıflandırmasında başarılı sonuçlar verdiği raporlanan Evrimsel Sinir Ağları kullanılmıştır. Evrimsel sinir ağları tıbbi görüntüler üzerinde algılama, bölütleme ve sınıflandırma çalışmalarında sıklıkla kullanılan derin öğrenme mimarileridir [30]. Bu mimarilerde giriş katmanı ile alınan görüntülerin boyutlandırılması yapıldıktan sonra evrim ve havuzlama katmanları ile özellik çıkarımları yapılır. Çıkarılan özellikler tam bağlantılı katmanda sınıflandırılarak çıkış katmanına iletilerek sınıflandırma işlemi tamamlanır [31]. Şekil 4’te ESA mimarisinin genel şeması verilmiştir. $C_1..C_n$ tasarlanan

modelde kullanılan konvolüsyon katmanı sayısını, $P_1..P_n$ ise modelde kullanılan havuzlama katmanı sayısını belirtmektedir.



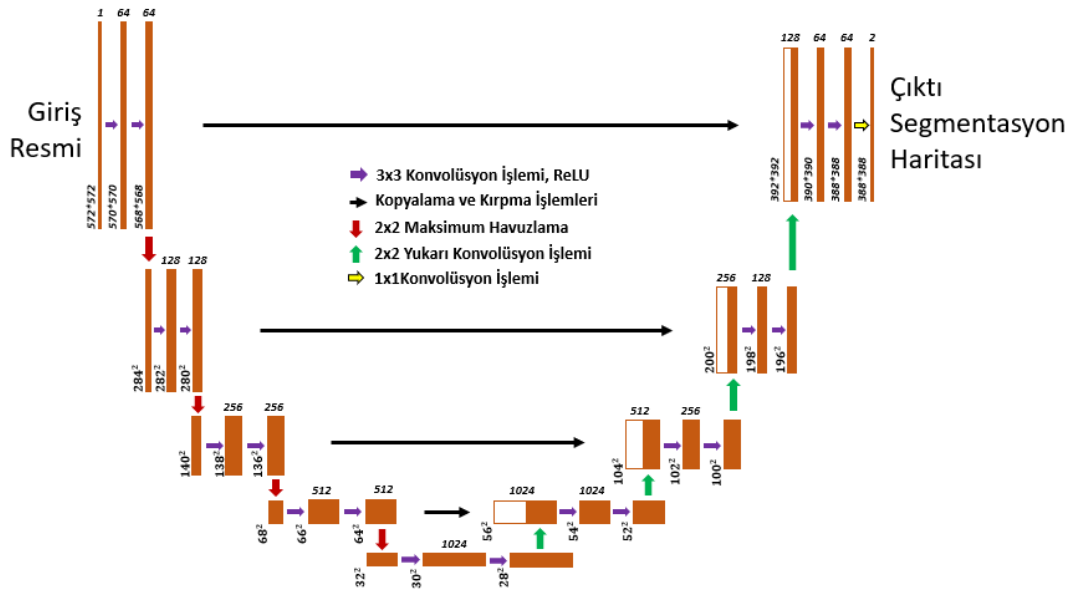
Şekil 4. Evrişimsel sinir ağı

Bu çalışmada meme bölgelerinin otomatik olarak bölütlenmesi için ESA mimarisinin bir alt ağı olan Mask R-CNN ve biyomedikal görüntülerin bölütlenmesinde sıklıkla tercih edilen U-NET mimarileri ele alınmıştır. Mask R-CNN mimarisi genellikle sınırlı sayıda veri içeren ve bölütleme işlemlerinin zor olduğu çalışmalarda tıbbi görüntülerde maskeleme ve sınıflandırma işlemlerinde kullanılır [23, 24]. Bu mimari üç basamaktan oluşan ve ilk basamağında görüntü üzerinde bir kez çalıştırılacak olan ResNet, VGG ve Inception gibi mimarileri omurga olarak alıp bölge önerisi verilerek sınırlayıcı kutular oluşturulmasını içerir. İkinci basamakta bölge önerisi verilen sınırlayıcı kutular içerisinde yer alan nesnenin sınıflandırılması yapılır. Üçüncü ve son bölümde ise sınırlandırılmış kutu içine alınmış nesnenin bölütlenmesi yapılır [32]. Şekil 5'te Mask R-CNN mimarisinin çalışma şeması verilmiştir.



Şekil 5. Mask R-CNN mimarisi [33]

U-Net ise sınırlı sayıda veri toplanabilen biyomedikal görüntülerin piksel bazlı bölütlenmesi işlemlerinde sıklıkla kullanılan ve yüksek başarımlar elde edilen bir mimaridir [34]. Şekil 6'da gösterildiği gibi "U" harfine benzeyen iki ayaklı çalışan bir mimari olup "Encoder" olarak adlandırılan ilk ayağında görüntü boyutu sürekli azaltılarak görüntünün ne olduğu öğrenilirken, "Decoder" denen ikinci ayağında görüntü boyutu artırılarak görüntünün nerede olduğu bilgisi öğrenilmeye çalışılır. Mimari ilk katmandan son katmana kadar sadece evrişim katmanlarından oluşur ve çıkış katmanında yüksek çözünürlüklü bölütlenmiş görüntü haritası ile bölütlemeyi çalışır [35].



Şekil 6. U-Net mimarisi [34]

Sınırlı sayıda veri bulunan çalışmalarda model başarımının artırılması için kullanılan transfer öğrenme ile önceden eğitilmiş modellerin nesne tanıyabilme kabiliyetlerinin yeni problemler üzerinde kullanılması sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu şekilde modellerin sıfırdan nesne tanımakla uğraşmadan önceden öğrenilmiş bilgiler üzerinden sınıflandırma için kullanılmasıyla çalışma hızlanmış olur [36, 37].

2.2 Bölütleme başarımlı değerlendirme yöntemi

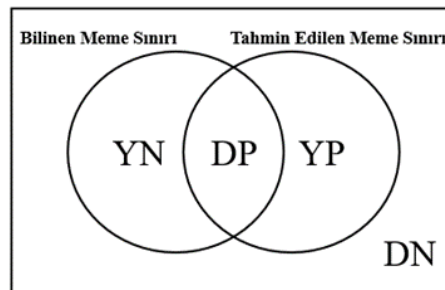
Çalışmada bilinen ve bölütlenmiş görüntüler kullanılarak eğitilen modellerin bölütleme performansları Doğruluk, Duyarlılık, Özgüllük, F1 skoru, Kesinlik, MCC, Dice ve Jaccard indeksleri ile değerlendirilmiştir. Şekil 7'de gösterilen iki farklı küme, tespit edilen ve bilinen meme görüntüsü içeresine denk gelen her bir pikselin tek tek sayılması ile kümelenmesini temsil etmektedir

Doğru Pozitif (DP): Referans görüntüde maskelenmiş bir bölgede yer alan bir pikselin bölütlenmiş sonuç görüntüsünde de maskelenmiş bölge içerisinde bulunduğu durum.

Doğru Negatif (DN): Referans görüntüde maskelenmiş bir bölgede yer almayan bir pikselin bölütlenmiş görüntüde maskelenmiş bölge içinde yer almadığı durum.

Yanlış Pozitif (YP): Referans görüntüsünde maskelenmiş bölge içerisinde yer almayan bir pikselin bölütlenmiş görüntüde maskelenmiş bölge içerisinde yer aldığı durum.

Yanlış Negatif (YN): Referans görüntüsünde maskelenmiş bir bölge içerisinde bulunan bir pikselin bölütlenmiş görüntüde maskelenmiş bölge içerisinde yer almadığı durum [38].



Şekil 7. Bölütleme performansının değerlendirilmesi

Bilinen ve bölütlenmiş görüntü içerisinde yer alan tüm piksellerin konum bilgilerinin tespitinin ardından DP, DN, YP ve YN sayıları hesaplanır ve bu değerler yardımı ile bölütleme başarımları aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanır [38].

$$\text{Doğruluk} = \frac{DP + DN}{DP + DN + YP + YN} \quad (1)$$

$$\text{Duyarluluk} = \frac{DP}{DP + YN} \quad (2)$$

$$\text{Özgüllük} = \frac{DN}{DN + YP} \quad (3)$$

$$\text{Kesinlik (Precision)} = \frac{DP}{DP + YP} \quad (4)$$

$$\text{MCC} = \frac{DP * DN - YP * YN}{\sqrt{(DP + YP) * (DP + YN) * (DN + YP) * (DN + YN)}} \quad (5)$$

$$\text{Dice} = \frac{2 * DP}{2 * DP + YP + YN} \quad (6)$$

$$\text{Jaccard İndeksi} = \frac{DP}{DP + YP + YN} \quad (7)$$

2.3 sınıflandırma başarımı değerlendirme yöntemleri

Çalışmada sınıflandırma performansının değerlendirilmesi için literatürde sıklıkla rastlanan Karmaşıklık Matrisi (Confusion Matrix) yöntemi kullanılmıştır. Bu matrislerde bilinen gerçek sonuçlar ile tahmin edilen yanıtlar yer alınır [30]. Şekil 8’de karmaşıklık matrisinin tanımı verilmiştir.

Doğru Pozitif (DP): Tümörlü memenin “tümör var” olarak tahmin edilmesi.

Yanlış Negatif (YN): Tümörlü memenin “tümör yok” olarak tahmin edilmesi.

Yanlış Pozitif (YP): Tümörlü olmayan memenin “tümör var” olarak tahmin edilmesi.

Doğru Negatif (DN): Tümörlü olmayan memenin “tümör yok” olarak tahmin edilmesi.

		Tahmin (Prediction)	
		Var	Yok
Bilinen Gerçek (Actual)	Var	Doğru Pozitif (True Positive, TP)	Yanlış Negatif (False Negative, FN)
	Yok	Yanlış Pozitif (False Positive, FP)	Doğru Negatif (True Negative, TN)

Şekil 8. Karmaşıklık matrisi [39]

Karmaşıklık matrisi ile elde edilen bilgiler kullanılarak modelin doğruluğu, hassasiyeti ve özgüllük değerleri aşağıdaki formüller yardımıyla hesaplanmıştır [22].

$$\text{Doğruluk (Accuracy)} = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \quad (8)$$

$$\text{Kesinlik (Precision)} = \frac{TP}{TP + FP} \quad (9)$$

$$\text{Duyarlılık (Recall)} = \frac{TP}{TP + FN} \quad (10)$$

$$\text{F1 Skor (F1 Score)} = 2 * \frac{\text{Kesinlik} * \text{Duyarlılık}}{\text{Kesinlik} + \text{Duyarlılık}} \quad (11)$$

3. Bulgular

Bu çalışmada kullanılan veri setinde 56 hastadan (19 sağlıklı ve 37 hasta) alınan, kişi başı 20 örnekten oluşan, toplamda 1120 adet termal meme görüntüsü yer almaktadır. Her görüntüde yer alan meme bölgelerinin lokalizasyon bilgileri VIA web yazılımı kullanılarak etiketlenmiş ve “.json” uzantısıyla kaydedilmiştir. Elde edilen görüntülerin rastgele %80’i (896 adet görüntü) eğitim seti, geriye kalan %20’si (224 adet görüntü) test seti olarak belirlenmiştir. Toplamda 1182 sağlıklı meme ve 610 kanserli meme görüntüleri ile eğitilip, 298 sağlıklı meme ve 150 kanserli meme görüntüsü ile test

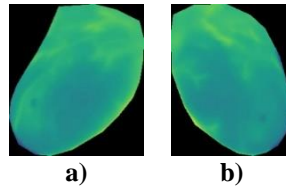
edilmiştir. Meme bölgelerinin bölütlenmesi için iki farklı yöntem önerilmiştir. İlk yöntemde elde edilen lokalizasyon bilgileri yardımıyla meme bölgelerinin maskeleri Şekil 9’da görüldüğü gibi oluşturulmuş ve her maske orijinal görüntüsünden çıkarılarak bölütleme yapılmıştır. İkinci yöntemde ise Mask R-CNN ve U-NET ile otomatik bölütleme çalışılmıştır.

Manuel bölütlenmiş görüntüler ile eğitimi yapılan mimarilerin test işlemlerinde hem manuel bölütlenmiş hem de otomatik bölütlenmiş görüntülerin testi yapılmıştır. Buradaki amaç bir uzman görüşü ile bölütlenmiş meme görüntüleri ile eğitimi yapılan mimarinin tekrardan bölütlenme işleminin olmaması için otomatik bölütlenerek işlem yükünün azaltılması hedeflenmiştir. Bu şekilde yeni görüntülerin sisteme eklenmesi halinde model otomatik bölütleme yapıp ardından test işlemlerini gerçekleştirmektedir. Sonuçlarda hem manuel bölütleme hem de otomatik bölütleme sonuçlarının verilmesi eğitilen bölütleme mimarilerinde uzman gibi bölütleme yapıp sonuçlarının oldukça yakın olduğunu göstermek için verilmiştir.



Şekil 9. Bir hastanın a) meme dokusunun VIA ile bölütlenmiş hali, b) sağ ve sol memenin ikili (binary) maskeleri ve c) sağ ve sol memenin bölütlenmiş halleri

Şekil 9.c’de görüldüğü gibi siyah arka plan meme bölgesine oranla görüntü üzerinde daha fazla yer kaplamaktadır. ESA mimarilerinin eğitiminde giriş katmanlarına görüntüler verilirken yapılan boyut azaltması işleminde siyah bölgenin sınıflandırma açısından herhangi bir önemi olmadığından meme dokusu dışında kalan alan Şekil 10’da gösterildiği gibi kırılmıştır.



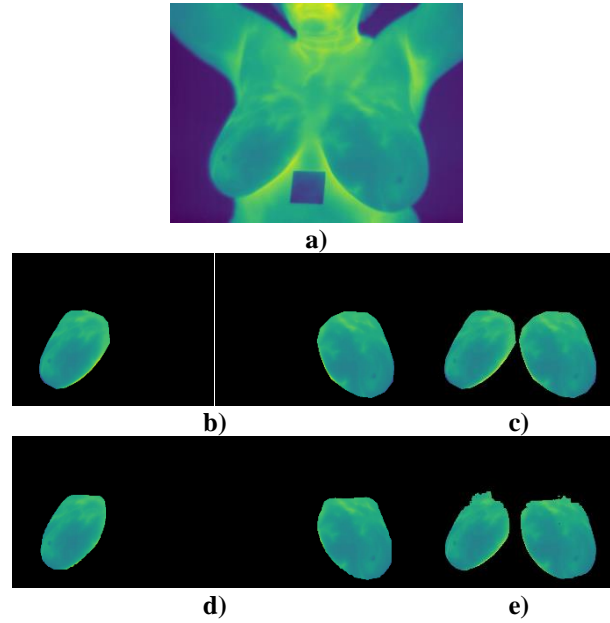
Şekil 10. Bir hastanın kırılan (a) sol ve (b) sağ meme görüntüleri

Otomatik bölütleme için U-Net ile yapılan bölütleme işlemlerinde her görüntüdeki konturlanmış meme bölgelerinin x ve y koordinatları kullanılarak oluşturulan maskeler yardımı ile orijinal görüntünün eğitimleri yapılmış ve test verilerinin bölütlenmesi ele alınmıştır. Otomatik bölütleme için uygulanan bir diğer yöntem olan Mask R-CNN mimarisinde ise önceden eğitilmiş ResNet101 mimarisi omurga alınarak “.json” dosyası ile model eğitimi ve sonra test verilerinde bölütleme yapılmıştır.

Bölütleme performanslarının değerlendirilmesi için her iki bölütleme metodu ile elde edilen görüntüler orijinal kırılmış görüntülerle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma işlemleri iki farklı yöntemle elde edilmiş görüntülerdeki pikseller tek tek kontrol edilerek gerçekleştirilmiştir. Kullanılan her iki metodun sonuçları görsel olarak Şekil 11’de ve sayısal olarak Tablo 1’de verilmiştir.

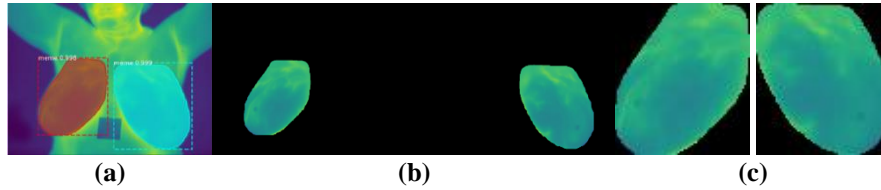
Tablo 1. Otomatik bölütleme için kullanılan metotların başarımları

	Doğruluk	Duyarlılık	Özgüllük	Kesinlik	MCC	Dice	Jaccard
Mask R-CNN	0.9896	0.9253	0.9962	0.9605	0.9366	0.9413	0.8900
U-Net	0.9718	0.8701	0.9917	0.9555	0.8946	0.9086	0.8365



Şekil 11. Otomatik bölütleme için kullanılan metotların sonuç görüntüleri, a) orijinal görüntü, b) VIA ile etiketlenmiş referans sağ ve sol meme görüntüleri, c) VIA ile etiketlenmiş U-Net için kullanılan referans sağ ve sol meme görüntüleri, d) Mask R-CNN bölütlemesinin sonucu ve e) U-Net bölütlemesinin sonucu

Şekil 11 ve Tablo 1 incelendiğinde Mask R-CNN mimarisinin U-Net mimarisine göre daha başarılı bölütleme gerçekleştirdiği görülmektedir. Bu sebeple otomatik sınıflandırma çalışmasında Mask R-CNN ile bölütlenen ve Şekil 12’de görüldüğü gibi meme hacmi ilk yöntemde olduğu gibi siyah arka plandan kırılan meme görüntüleri kullanılmıştır.



Şekil 12. Bir hastanın meme görüntüsünün Mask R-CNN ile otomatik bölütleme sonucu elde edilmiş a) maskeli hali, b) sol ve sağ memenin bölütlenmiş hali ve c) bölütlenmiş bölgelerin kırılmış hali

Çalışmanın bu aşamasından sonra sınıflandırma işlemi için iki farklı yaklaşım paralel olarak test edilmiştir. İlk yaklaşım elle bölütlenmiş meme görüntüleri, ikinci yaklaşım ise Mask RCNN ile bölütlenmiş meme görüntülerinin kullanıldığı veri setini içermektedir. Çalışmada her iki yaklaşım için transfer öğrenme modelleri aynı eğitim görüntüleri ($896 \times 2 = 1792$ kırılmış termal meme görüntüsü) ile 100 devir sayısı ve 32 yığın boyutu kullanılarak eğitilmiştir. Eğitim sırasında kullanılan hiperparametreler Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Transfer öğrenme modellerinin eğitiminde kullanılan hiperparametre ve değerleri

Hiperparametreler	Değerler
Optimizasyon Algoritması	Adam
Aktivasyon Fonksiyonu	Softmax
Öğrenme Hızı	0.001
Devir Sayısı	100
Yığın Boyutu	32

Manuel ve otomatik bölütleme ile kırılma işlemlerinin sonucunda elde edilen görüntülerin sınıflandırılması için transfer öğrenmede kullanılan ön eğitilmiş ESA’lar (InceptionV3, MobileNet, MobileNetV2, ResNet50, VGG-16, VGG-19 ve Xception) ele alınmıştır. Tablo 3’de bu modellerin eğitim ve test işlemlerinin süreleri karşılaştırılmıştır.

Tablo 3. Transfer öğrenmede kullanılan transfer öğrenme modellerinin eğitim ve test süreleri

Eğitilmiş Ağlar	Toplam Çalışma Süreleri (sn)		
	Eğitim	Test	
		1. Yaklaşım	2. Yaklaşım
InceptionV3	3200	41	40
MobileNet	3300	25	20
MobileNetV2	3700	21	20
ResNet50	3500	64	62
VGG16	3400	138	141
VGG19	3600	167	171
Xception	4065	72	74

Eğitim ve test işlemlerinin ardından modellerin sınıflandırma performanslarının değerlendirilmesi için karmaşıklık matrisleri kullanılmıştır. Tablo 4’de gösterildiği gibi her model için eğitim, ilk yöntem ve ikinci yöntem olmak üzere üç farklı karmaşıklık matrisi oluşturulmuştur.

Tablo 4. Transfer öğrenmede kullanılan transfer öğrenme modellerinin eğitim ve test süreleri

		TP	FN	FP	TN	Süre (sn)
		Eğitim	InceptionV3	610	0	1
	MobileNet	610	0	3	1179	1.84
	MobileNetV2	608	2	6	1176	2.06
	ResNet50	610	0	2	1180	1.95
	VGG16	589	21	3	1179	1.90
	VGG19	594	16	8	1174	2.01
	Xception	610	0	0	1182	2.27
1. Yaklaşım	InceptionV3	150	0	0	298	0.09
	MobileNet	150	0	0	298	0.06
	MobileNetV2	148	2	1	297	0.05
	ResNet50	147	3	1	297	0.14
	VGG16	145	5	2	296	0.31
	VGG19	148	2	4	294	0.37
	Xception	149	1	0	298	0.16
2. Yaklaşım	InceptionV3	150	0	0	298	0.09
	MobileNet	150	0	0	298	0.05
	MobileNetV2	149	1	3	295	0.05
	ResNet50	150	0	1	297	0.05
	VGG16	147	3	4	294	0.32
	VGG19	146	4	4	294	0.38
	Xception	149	1	0	298	0.17

Tablo 4’de verilen karmaşıklık matrisleri incelendiğinde kanserli meme tespitini en yüksek başarımla gerçekleştiren mimarilerin InceptionV3, MobileNet, MobileNetV2 ve ResNet50 olduğu görülürken sağlıklı memelerin tespitini ise en yüksek başarımla Xception, VGG16 ve VGG19 mimarilerinin yaptığı görülmüştür. VGG16 ve VGG19 mimarileri sağlıklı memeleri tespit etmekte gösterdiği başarımın aksine diğer mimarilere göre en düşük kanserli meme tespitini gerçekleştiren mimariler olmuştur. Eğitim başarımları incelendiğinde kanserli meme teşhisinde %100 başarımla en yüksek başarımla gösteren mimariler Xception, InceptionV3, MobileNet ve ResNet50 mimarileri olmuştur. Sağlıklı memelerin tespitini en yüksek özgüllük değeri ile gerçekleştiren mimariler ise Xception ve InceptionV3 olmuştur.

Çalışmanın sonucunda elde edilen karmaşıklık matrisleri kullanılarak Doğruluk, Kesinlik, Duyarlılık ve F1 Skor değerleri hesaplanmış ve elde edilen değerler yardımıyla modellerin sınıflandırma performansları Tablo 5’de verilmiştir.

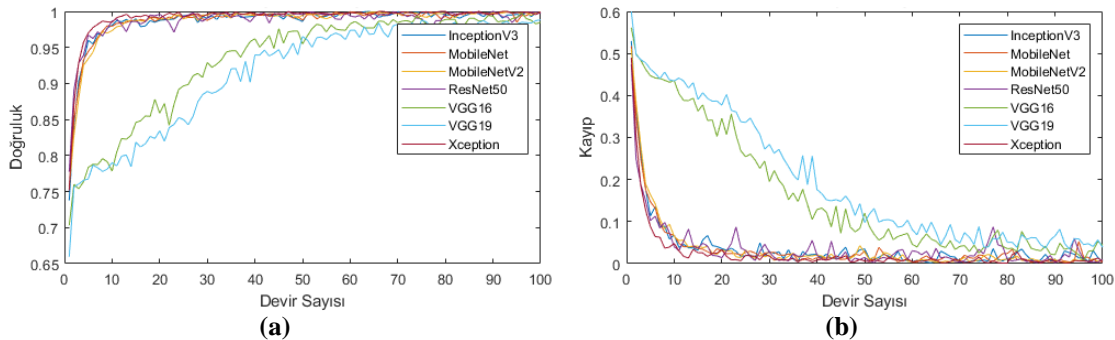
Tablo 5. Transfer öğrenme modellerinin başarımları (E: eğitim; T: birinci yöntem için test; M: ikinci yöntem için test)

Modeller	Doğruluk			Kesinlik			Duyarlılık			F1 Skoru		
	E	T	M	E	T	M	E	T	M	E	T	M
InceptionV3	0.999	1.0	1.0	0.998	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.999	1.0	1.0

MobileNet	0.998	1.0	1.0	0.995	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.998	1.0	1.0
MobileNetV2	0.996	0.993	0.991	0.990	0.993	0.980	0.997	0.987	0.993	0.993	0.989	0.987
ResNet50	0.999	0.991	0.998	0.997	0.993	0.993	1.0	0.981	1.0	0.998	0.986	0.996
VGG16	0.987	0.984	0.984	0.995	0.986	0.974	0.966	0.967	0.983	0.980	0.976	0.976
VGG19	0.987	0.987	0.982	0.987	0.974	0.973	0.974	0.987	0.973	0.980	0.980	0.973
Xception	1.0	0.998	0.998	1.0	1.0	1.0	1.0	0.993	0.993	1.0	0.996	0.996

Tablo 4 incelendiğinde, eğitim sonuçları içerisinde hasta ve sağlıklı sınıflandırmasını en yüksek başarıyla doğrulukla gerçekleştiren mimariler Xception, InceptionV3, ResNet50 ve MobileNet olurken, test verilerinde ise InceptionV3 ile MobileNet mimarileri olmuştur. İncelenen sonuçlardan görüldüğü üzere en yüksek kesinliği gösteren mimarilerin Xception, InceptionV3 ve MobileNet, en yüksek duyarlılığa sahip mimarilerin ise InceptionV3, MobileNet ve ResNet50 olduğu görülmektedir. Duyarlılık ve kesinlik değerlerinin harmonik ortalaması olan ve az sayıda veri içeren çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir metrik olan F1 skor değerinde ise en yüksek değeri yine Xception, InceptionV3 ve MobileNet mimarileri göstermiştir.

Sınıflandırma başarımlarının değerlendirilmesinde tek başına karmaşıklık matrisinin kullanılması mimarilerin performanslarını değerlendirmekte yetersiz kalabilmektedir. Çünkü karmaşıklık matrisleri son devir sayısındaki bilinen gerçek sonuçlar ile tahmin edilen yanıtları göstermektedir. Mimarilerin eğitimleri hakkında daha fazla bilgi sahibi olabilmek için mimarilerin ilk devir sayısından itibaren her devir sayısındaki doğruluk ve kayıp değerlerinin incelenebildiği doğruluk ve kayıp grafikleri oluşturulmalıdır [5]. Çalışmada kullanılan mimarilerin doğruluk grafiği Şekil 13(a)'da ve kayıp grafiği de Şekil 13(b)'de verilmiştir.



Şekil 13. Transfer öğrenme modellerinin (a) doğruluk ve (b) kayıp oranlarının devir sayısına göre değişimi

Bir mimarinin eğitiminin tamamlanmasına doğruluk grafiğindeki yükselme eğiliminin ve kayıp grafiğindeki alçalma eğiliminin durmasına göre karar verilir [5]. Bu bilgi ışığında Şekil 13 incelendiğinde Xception, ResNet50, InceptionV3, MobileNet ve MobileNetV2 mimarilerinin birbirlerine oldukça yakın eğriler göstererek eğitimlerini tamamladıkları görülmektedir. Bu mimarilerin aksine VGG16 ve VGG19 mimarilerinin eğitimlerini çok daha geç tamamladıkları görülmüştür.

Bu çalışmada konu alınan termal görüntüler üzerinden meme kanserinin teşhisini çalışan literatürde farklı çalışmalar mevcuttur [4, 26]. Bu çalışmalara bakıldığında sınıflandırma için makine öğrenmesi kullanan araştırmaların görüntünün yapı ve bileşimini ihmal edebildiği, derin öğrenme çalışmalarında ise otomatik özellik çıkarımı yapıldığı için bu sorunun ortadan kalktığı ve görece daha yüksek başarımlara ulaşılabilirdiği görülmektedir [9]. Ayrıca genellikle hasta bazında sınıflandırmalar yapıldığından görüntünün alındığı kişinin kanser olup olmadığı bilgisine erişilebilir ancak tümörün hangi memede yer aldığı bilgisi elde edilemez. Bu çalışmada ise hasta bazında değil, meme bazında yapılarak bu problemin önüne geçilmiştir. Meme bölgesinin bölütlenmesinde birçok yöntem kullanılabilirken Mask R-CNN veya U-Net ile yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Kullanılan farklı bölütleme çalışmalarında da görüntülerdeki en sıcak bölgelerin

bölütlenmesinin çalışıldığı görülmüştür. Her ne kadar bu yöntemin avantajları olsa da meme bölgesi dışındaki sıcak bölgelerin yanlış sınıflandırmaya sebep olabileceği bilinmektedir [28]. Bu sorunun önüne geçilmesi için bu çalışmada tüm görüntü üzerinden değil bölütlenen meme bölgesinde lezyon taraması yapılmıştır.

Bu çalışmada tercih edilen DMR-IR veri setini [28] baz alan literatür çalışmaları incelendiğinde makine öğrenmesi ve derin öğrenme tekniğinin kullanıldığı çalışmalara rastlanmıştır. Pramanik, et al. [20], %90.48 doğruluk, %87.6 hassasiyet ve %89.73 özgüllük değerlerini elde etmişlerdir. Baffa and Lattari [3], statik görüntülerde %98 ve dinamik görüntülerde %95 doğruluk değerleri rapor etmişlerdir. Karim, et al. [4], %91.25 doğruluk, %93.3 duyarlılık ve %90 özgüllük sonuçlarına ulaşmışlardır. Ghayoumi Zadeh, et al. [26], %94.87 doğruluk, %87.5 hassasiyet ve %96.77 özgüllük değerleri elde etmiştir. Tello-Mijares, et al. [22], kendi geliştirdikleri ESA mimarisinin %100 doğrulukla diğer makine öğrenmesi algoritmalarından daha yüksek başarımlar gösterdiğini raporlamışlardır. Zuluaga-Gomez, et al. [5], kendi geliştirdikleri ESA ile %92 doğruluk, %94 kesinlik, %91 duyarlılık ve %92 F1 skoru değerlerini elde etmişlerdir.

Bu çalışmada ise Xception mimarisi %100 eğitim doğruluk, kesinlik ve duyarlılık ile sınıflandırma başarımı göstermiştir. Ancak bu değer çalışmada kullanılan diğer mimarilere göre yüksek olsa da en yavaş (4065 sn. eğitim süresi ve 74 sn. test süresi) çalışan mimarilerden biri olmuştur. En hızlı çalışan (3300 sn. eğitim süresi ve 20 sn. test süresi) mimari ise MobileNet olmuştur. Çalışmadan elde edilen sonuçlar ile literatürdeki sonuçlar karşılaştırıldığında bu çalışmanın yüksek başarımlar göstermesinin sebebi olarak yüksek bölütleme başarımına sahip olması, rastgele dağıtılan eğitim ve test verilerinin veri setini uygun biçimde temsil etmiş olması, hasta bazında değil, meme bazında çalışılması, önceden eğitilmiş ağlar arasından termal meme görüntülerin sınıflandırılmasına uygun olan mimarilerin seçilmiş olması ve uygun devir sayısında eğitilmiş olmalarının önemli rol oynadığı söylenebilir.

4. Sonuç ve Yorum

Meme bölgelerinin termal meme görüntüleri üzerinden algılanması, bölütlenmesi ve sınıflandırılmasının amaçlandığı bu çalışmada açık erişim olarak paylaşılan DMR-IR [28] veri setinden alınan termogramlar üzerinde öncelikle VIA web yazılımı ile meme bölgeleri konturlanıp “meme” olarak tek sınıfta etiketlendikten sonra “.json” formatında kaydedilmiştir. Kaydedilen “.json” dosyası kullanılarak meme bölgelerinin maskeleri oluşturulmuştur. Oluşturulan her maske ile orijinal görüntüsünün üst üste bindirilmesi ile meme bölgeleri bölütlenmiş ve daha sonra yalnızca meme bölgesi kalacak şekilde bölütlenen görüntülerde otomatik kırpma işlemi yapılmıştır. Kırpılan görüntüler ile önceden eğitilmiş ağlar kullanılarak derin öğrenme modellerinin eğitimi gerçekleştirilmiştir. Bu modellerin test işlemlerinde ise manuel ve otomatik bölütleme olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. Otomatik bölütleme için Mask R-CNN ve U-Net metotları kullanılmıştır. Her iki bölütleme metotları da aynı veriler üzerinden test edilmiştir. Kullanılan iki farklı bölütleme yöntemi arasından 0.9896 doğruluk, 0.9413 Dice ve 0.8900 Jaccard değeri ile Mask R-CNN metodunun daha başarılı olduğu sonucuna varılmış ve sınıflandırma işlemleri Mask R-CNN ile bölütlenmiş görüntüler ile yapılmıştır.

Bu çalışmada meme kanseri teşhisi için literatürdeki rastlanan çalışmaların aksine termogram üzerindeki en sıcak bölgelerin bölütlenmesi değil, yalnızca meme bölgesinin bölütlenmesi ve hasta bazında değil, meme bazında sınıflandırma yolu izlenmiştir. Bu şekilde meme bölgesi dışında bulunan sıcak bölgelerin oluşturacağı yanlış sınıflandırmanın önüne geçilmiş ve kanserli lezyonun hangi memede bulunduğu öngörülebilmiştir. Çalışmada kullanılan yedi farklı önceden eğitilmiş ESA mimarileri

içerisinde en yüksek başarıyı Xception, ResNet50, InceptionV3 ve MobileNet mimarileri vermiştir. Bu dört mimari arasında Xception mimarisi diğer mimarilerine göre daha yüksek sınıflandırma başarıyı gösterse de eğitim ve test aşamaları daha uzun sürmüştür. MobileNet ve Inception mimarileri test verilerinde %100 doğruluk, kesinlik ve duyarlılık başarıyı ile Xception mimarisini geride bırakmıştır. MobileNet mimarisinin eğitim ve test sürecinin kısa zamanda sonuçlandırması ile yüksek sınıflandırma başarımının yanında bir de mobil cihazlara entegre edilebilir olması bu mimariyi diğer mimarilerden ayıran en önemli özellik olarak ön plana çıkmıştır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

S. Çivilibal: modeli kurdu, deneyleri gerçekleştirdi.

K. K. Çevik: fikri kavramsallaştırdı ve sonuçları yorumladı.

A. Bozkurt: çalışmayı denetledi, sonuçları yorumladı ve makaleyi yazdı.

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir destek ve teşekkür beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

References

- [1] N. Harbeck and M. Gnant, "Early breast cancer: treatment concepts and biology," *J. Breast Cancer*, vol. 18, no. 4, pp. 303-312, 2016.
- [2] H. Sung *et al.*, "Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *CA: a cancer journal for clinicians*, vol. 71, no. 3, pp. 209-249, 2021.
- [3] M. d. F. O. Baffa and L. G. Lattari, "Convolutional neural networks for static and dynamic breast infrared imaging classification," in *2018 31st SIBGRAPI Conference on Graphics, Patterns and Images (SIBGRAPI)*, 2018: IEEE, pp. 174-181.
- [4] C. N. Karim, O. Mohamed, and T. Ryad, "A new approach for breast abnormality detection based on thermography," *Medical Technologies Journal*, vol. 2, no. 3, pp. 245-254, 2018.
- [5] J. Zuluaga-Gomez, Z. Al Masry, K. Benaggoune, S. Meraghni, and N. Zerhouni, "A CNN-based methodology for breast cancer diagnosis using thermal images," *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering: Imaging & Visualization*, vol. 9, no. 2, pp. 131-145, 2021.
- [6] B. Alafi, "Artificial Intelligence and Deep Learning," *THE JOURNAL OF COGNITIVE SYSTEMS*, vol. 4, no. 2, pp. 57-61, 2019. [Online]. Available: https://leonardoaraujosantos.gitbooks.io/artificial-intelligence/content/neural_networks.html.
- [7] M. Goyal, T. Knackstedt, S. Yan, and S. Hassanpour, "Artificial intelligence-based image classification methods for diagnosis of skin cancer: Challenges and opportunities," *Comput Biol Med*, vol. 127, p. 104065, Dec 2020, doi: 10.1016/j.compbimed.2020.104065.
- [8] H. Benbrahim, H. Hachimi, and A. Amine, "Deep convolutional neural network with tensorflow and keras to classify skin cancer images," *Scalable Computing*, vol. 21, no. 3, pp. 379-389, 2020, doi: 10.12694:/scpe.v21i3.1725.
- [9] D. A. Shoieb, S. M. Youssef, and W. M. Aly, "Computer-Aided Model for Skin Diagnosis Using Deep Learning," *Journal of Image and Graphics*, pp. 122-129, 2016, doi: 10.18178/joig.4.2.122-129.
- [10] R. Roslidar *et al.*, "A review on recent progress in thermal imaging and deep learning approaches for breast cancer detection," *IEEE Access*, vol. 8, pp. 116176-116194, 2020.
- [11] H. Dhahri, E. Al Maghayreh, A. Mahmood, W. Elkilani, and M. Faisal Nagi, "Automated breast cancer diagnosis based on machine learning algorithms," *Journal of healthcare engineering*, vol. 2019, 2019.

- [12] N. I. Yassin, S. Omran, E. M. El Houby, and H. Allam, "Machine learning techniques for breast cancer computer aided diagnosis using different image modalities: A systematic review," *Computer methods and programs in biomedicine*, vol. 156, pp. 25-45, 2018.
- [13] Y. Jiménez-Gaona, M. J. Rodríguez-Álvarez, and V. Lakshminarayanan, "Deep-learning-based computer-aided systems for breast cancer imaging: a critical review," *Applied Sciences*, vol. 10, no. 22, p. 8298, 2020.
- [14] L. Abdelrahman, M. Al Ghamdi, F. Collado-Mesa, and M. Abdel-Mottaleb, "Convolutional neural networks for breast cancer detection in mammography: A survey," *Computers in Biology and Medicine*, p. 104248, 2021, doi: 10.1016/j.compbimed.2021.104248.
- [15] G. Schaefer, M. Závisek, and T. Nakashima, "Thermography based breast cancer analysis using statistical features and fuzzy classification," *Pattern recognition*, vol. 42, no. 6, pp. 1133-1137, 2009.
- [16] U. R. Acharya, E. Y.-K. Ng, J.-H. Tan, and S. V. Sree, "Thermography based breast cancer detection using texture features and support vector machine," *Journal of medical systems*, vol. 36, no. 3, pp. 1503-1510, 2012.
- [17] M. R. K. Mookiah, U. R. Acharya, and E. Ng, "Data mining technique for breast cancer detection in thermograms using hybrid feature extraction strategy," *Quantitative InfraRed Thermography Journal*, vol. 9, no. 2, pp. 151-165, 2012.
- [18] N. Golestani, M. EtehadTavakol, and E. Ng, "Level set method for segmentation of infrared breast thermograms," *EXCLI journal*, vol. 13, p. 241, 2014.
- [19] M. Milosevic, D. Jankovic, and A. Peulic, "Thermography based breast cancer detection using texture features and minimum variance quantization," *EXCLI journal*, vol. 13, p. 1204, 2014.
- [20] S. Pramanik, D. Bhattacharjee, and M. Nasipuri, "Wavelet based thermogram analysis for breast cancer detection," in *2015 international symposium on advanced computing and communication (ISACC)*, 2015: IEEE, pp. 205-212.
- [21] F. J. Fernández-Ovies, E. S. Alférez-Baquero, E. J. de Andrés-Galiana, A. Cernea, Z. Fernández-Muñiz, and J. L. Fernández-Martínez, "Detection of breast cancer using infrared thermography and deep neural networks," in *International Work-Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 2019: Springer, pp. 514-523.
- [22] S. Tello-Mijares, F. Woo, and F. Flores, "Breast cancer identification via thermography image segmentation with a gradient vector flow and a convolutional neural network," *Journal of healthcare engineering*, vol. 2019, 2019.
- [23] Y. Liang, R. He, Y. Li, and Z. Wang, "Simultaneous segmentation and classification of breast lesions from ultrasound images using mask R-CNN," in *2019 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)*, 2019: IEEE, pp. 1470-1472.
- [24] J.-Y. Chiao, K.-Y. Chen, K. Y.-K. Liao, P.-H. Hsieh, G. Zhang, and T.-C. Huang, "Detection and classification the breast tumors using mask R-CNN on sonograms," *Medicine*, vol. 98, no. 19, 2019.
- [25] M. A. Farooq and P. Corcoran, "Infrared Imaging for Human Thermography and Breast Tumor Classification using Thermal Images," Letterkenny, Ireland, 11-12 June 2020 2020: IEEE, doi: 10.1109/ISSC49989.2020.9180164.
- [26] H. Ghayoumi Zadeh, A. Fayazi, B. Binazir, and M. Yargholi, "Breast Cancer Diagnosis Based on Feature Extraction Using Dynamic Models of Thermal Imaging and Deep Autoencoder Neural Networks," *Journal of Testing and Evaluation*, vol. 49, no. 3, 2021, doi: 10.1520/jte20200044.
- [27] S. Civilibal, K. K. Cevik, and A. Bozkurt, "A deep learning approach for automatic detection, segmentation and classification of breast lesions from thermal images," *Expert Systems with Applications*, vol. 212, p. 118774, 2023.
- [28] L. Silva *et al.*, "A new database for breast research with infrared image," *Journal of Medical Imaging and Health Informatics*, vol. 4, no. 1, pp. 92-100, 2014.
- [29] A. Dutta and A. Zisserman, "The VIA annotation software for images, audio and video," in *Proceedings of the 27th ACM international conference on multimedia*, 2019, pp. 2276-2279.
- [30] Y. LeCun, Y. Bengio, and G. Hinton, "Deep learning," *nature*, vol. 521, no. 7553, pp. 436-444, 2015.
- [31] K. O'Shea and R. Nash, "An introduction to convolutional neural networks," *arXiv preprint arXiv:1511.08458*, 2015.
- [32] S. Ren, K. He, R. Girshick, and J. Sun, "Faster R-CNN: towards real-time object detection with region proposal networks," *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*, vol. 39, no. 6, pp. 1137-1149, 2016.
- [33] K. He, G. Gkioxari, P. Dollár, and R. Girshick, "Mask r-cnn," in *Proceedings of the IEEE international conference on computer vision*, 2017, pp. 2961-2969.
- [34] Y. Weng, T. Zhou, Y. Li, and X. Qiu, "Nas-unet: Neural architecture search for medical image segmentation," *IEEE Access*, vol. 7, pp. 44247-44257, 2019.
- [35] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, "U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation," in *International Conference on Medical image computing and computer-assisted intervention*, 2015: Springer, pp. 234-241.

- [36] U. Snehalatha and K. Sangamithirai, "Computer aided diagnosis of obesity based on thermal imaging using various convolutional neural networks," *Biomedical Signal Processing and Control*, vol. 63, p. 102233, 2021.
- [37] M. B. Lopez, C. R. del-Blanco, and N. Garcia, "Detecting exercise-induced fatigue using thermal imaging and deep learning," in *2017 Seventh International Conference on Image Processing Theory, Tools and Applications (IPTA)*, 2017: IEEE, pp. 1-6.
- [38] M. Aslanyürek and A. Mesut, "Kümeleme Performansını Ölçmek için Yeni Bir Yöntem ve Metin Kümeleme için Değerlendirmesi," *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, no. 27, pp. 53-65, 2021.
- [39] O. Bilginer, B. Tunga, and R. M. Demirer, "Classification of skin lesions using convolutional neural networks," *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg*, vol. 28, no. 2, pp. 208-214, 2022, doi: 10.5505/pajes.2021.68700.

Kimyasal Modifiye Nar Kabuğu ile Anyonik Boyanın Biyosorpsiyonu: Modifikasyonun Uzaklaştırma Verimliliği Üzerine Etkisi

Çiğdem Ay^{1,*}

¹Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 43100, Kütahya, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-8283-0678>

*yazışılan yazar: cigdem.ay@dpu.edu.tr

(Alınış / Received: 20.09.2022, Kabul / Accepted: 10.05.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Su kirliliğinin kontrolü son yıllarda artan bir önem kazanmıştır. Boyaların çevreye salınması su kirliliğinin sadece küçük bir bölümünü oluşturur. Bu çalışmada, sulu ortamdan Reaktif Siyah 5 (RS5) boyasının giderimi için tarımsal atık olan nar kabukları (*Punica granatum* L., PGL) biyosorban olarak kullanılmış ve biyosorpsiyon kapasitesini arttırmak amacıyla heksametilendiamin (HMDA) ile kimyasal olarak modifiye edilmiştir. RS5 biyosorpsiyonu pH, etkileşim zamanı ve sıcaklığa bağlı olarak incelenmiş; bunun yanı sıra, deneysel veriler kullanılarak biyosorpsiyonun kinetik ve izoterm verileri çıkartılmıştır. Biyosorpsiyonun kinetik ve izoterm modellemesiyle deneysel verilerin yalancı-ikinci-derece kinetik ve Langmuir izotermine modellerine uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Sıcaklık artışı ile biyosorpsiyon kapasitesi artmış ve 40 °C'de PGL için 54,64 mg/g, HMDA@PGL için 161,3 mg/g olarak bulunmuştur. Biyosorbanların potansiyel performansını değerlendirmek için hazırlanan sentetik atık su ile yapılan çalışmalarda biyosorpsiyonda önemli bir matris etkisinin gözlemlenmediğini tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre RS5 giderimi için HMDA@PGL biyosorbanının PGL'ye göre daha etkin bir biyosorban olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Biyosorpsiyon, Hekzametildiamin, Modifikasyon, Tarımsal atık.

Biosorption of an Anionic Dye onto Chemically Modified Pomegranate Peel: Effect of Modification on Removal Efficiency

Abstract: Control of water pollution has gained increasing importance in recent years. Released dyes into the environment account for only a small part of water pollution. In this study, agricultural waste pomegranate peels (*Punica granatum* L., PGL) were used as biosorbent for the removal of Reactive Black 5 (RS5) dye from aqueous media, and hexamethylenediamine (HMDA) was chemically modified to increase its biosorption capacity. Reactive Black 5 (RS5) biosorption was investigated depending on pH, interaction time, and temperature; kinetic and isotherm biosorption data were extracted using experimental data. The biosorption kinetic and isotherm modeling determined that the experimental data conformed to the pseudo-second-order kinetic and Langmuir isotherm models. The biosorption capacity increased with the increase in temperature, and it was found to be 54.64 mg/g for PGL and 161.3 mg/g for HMDA@PGL. In studies with synthetic wastewater prepared to evaluate the potential performance of biosorbents, it was determined that no significant matrix effect was observed in biosorption. According to the results, HMDA@PGL biosorbent was a more effective biosorbent than PGL for RS5 removal.

Keywords: Biosorption, Hexamethylenediamine, Modification, Agricultural waste.

1. Giriş

Sanayileşme ve modernleşme, çevre/su kirliliğini küresel bir sorun haline getirmektedir. Su, dünyadaki tüm canlıların hayatta kalması için vazgeçilmez öneme sahiptir [1]. Sınırlı doğal kaynaklardan biri olduğu için kalitesini korumak, günümüzün en önemli sorumluluklarından biridir. Birçok insan faaliyetleri, kullanılabilir suyun özelliklerinde ve kalitesinde düşüşe neden olmaktadır [2]. Su kaynaklarının tekstil, kimya, ilaç, matbaacılık vb. gibi sanayilerde kullanılan endüstriyel boya ile kirlenmesi yeterli ısı ve ışık alımını azaltarak aerobik çürümeye, fotosentetik aktivitenin azalmasına ve oksijen eksikliğine yol açmaktadır [3–5]. Ayrıca sudaki boya molekülleri, insanlarda kanserojenik, mutajenik, böbrek, beyin, karaciğer ve üreme sisteminin işlev bozukluğu oluşturmaktadır [5–8]. Yapılan araştırmalarda, yılda 700 bin ton/yıl üretime sahip 10 binden fazla farklı ticari boya çeşidinin herhangi bir uygun işleme tabi tutulmadan su akıntularına deşarj edildiği tespit edilmiştir [5,9]. Büyük ve karmaşık yapılara sahip olan boya molekülleri, rengin üretilmesinden sorumlu olan kromoforlar ve boyanın liflere olan afinitesini artıran oksokromlardan oluşmaktadır [10]. Genel olarak boyalar üç gruba ayrılır; (1) (SO_3^-) grubu nedeniyle negatif yüklü anyonik (asit, reaktif ve direkt boyalar), (2) protonlanmış amin grubu nedeniyle katyonik (bazik boyalar) ve (3) sulu çözeltilerdeki ayrışma davranışlarına göre noniyonik (dispers boyalar) [11]. Reaktif boyalar anyonik yapıya sahip, suda çözünürlüğü yüksek olması dolayısıyla tekstil sektöründe sık tercih edilen en büyük boya sınıfını oluşturmaktadır [12]. En az bir reaktif grup içeren reaktif boyaların çoğu pamuk, yün gibi yüzeylere kovalent bağlarla bağlanır. Ancak su fazındaki reaktif grupların hidrolizi nedeniyle sabitlenme derecesi düşük olduğundan çevreye salınımı yüksek oranda olmaktadır [12]. Bu nedenle atık suların çevreye bırakılmadan önce kirliliklerin ortadan kaldırılması ve etkisinin azaltılması gerekmektedir. Biyolojik ve kimyasal olarak parçalanmaya karşı dirençli olan reaktif boyalar, atık ortamında kalıcılığa neden olmaktadır. Kovalent bağlarla bağlanmaları bakımından diğer tüm boya sınıflarından farklıdır ve bu nedenle, geleneksel atık su arıtma işlemlerine oldukça dirençlidir [13]. Boyaları atık suların uzaklaştırılması için pıhtılaştırma, kimyasal oksidasyon, membran ayırma işlemi, elektrokimyasal, aerobik ve anaerobik mikrobiyal bozunma gibi birçok teknik bulunmasına rağmen; bu yöntemler pahalı, etkisiz yada zaman alıcı olmalarından dolayı çok başarılı olamamaktadır [14–16]. Geleneksel yöntemlere umut verici bir alternatif olan biyosorpsiyon, atık suların organik [17–19] ve inorganik [20,21] kirliliklerin giderimi için en etkili yöntemlerden biridir [22]. Ayrıca çevre dostu, ekonomik ve verimli bir teknik olarak kabul edilmektedir.

Biyolojik kökenli malzemeler (biyosorban) kullanılarak gerçekleştirilen biyosorpsiyon, hem biyosorbanın hem biyosorbatın (kirlilendirici) fiziksel ve kimyasal özelliklerinin de etkili olduğu bir süreçtir. Genel olarak, biyosorban yüzeyinde bulunan çok sayıda fonksiyonel grubun varlığı, boyaların biyosorpsiyon sürecini kolaylaştırır. Biyosorbanları üç sınıfta toplamak mümkündür. Bunlar; ağaç kabukları, mısır koçanı, zeytin çekirdeği gibi cansız biyosorbanlar; algler ve bakteri, mantar ve maya gibi mikrobiyal biyosorbanlardır [23]. Son yıllarda araştırmacılar, algler ve mantarlar gibi canlı biyosorbanların büyüme ortamlarının yüksek maliyetli olması ve endüstriyel atık sularındaki toksik düzeyde bulunan bileşenlerin, aktif mikrobiyal üremeyi olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle cansız biyosorbanlara yönelmişlerdir [24]. Cansız biyosorbanlar; ölü alg, fungus, bakteri gibi cansız mikroorganizmaların yanı sıra mısır koçanı, yer fıstığı kabuğu, soya fasulyesi kabuğu, pamuk sapı gibi tarımsal atıkları da içermektedir. Tarımsal atıklar; kolay bulunabilmeleri, özel olarak üretimine ihtiyaç duyulmaması ve düşük maliyetli olmalarından dolayı atık suların boyası gideriminde sık tercih edilmektedirler [25]. Boyası gideriminde biyosorban olarak çok verimli olabilecek bir diğer tarım atığı ise nar kabuğudur. Ülkemiz nar üretiminde dünyada Hindistan, İran ve Çin'den sonra dördüncü sırada yer almaktadır [26,27]. Ayrıca birçok gıda endüstrisinde (sirke, meyve suyu, şarap, reçel vb.), kimya, kozmetik ve ilaç sanayinde kullanılmaktadır. TÜİK bitkisel üretim

istatistikleri verilerine göre 2021 yılında üretilen nar miktarı 647 676 ton iken 2022 yılında bu miktar 681 460 ton olarak açıklanmıştır [28]. Ülkemizde bol miktarda üretilen ve geniş endüstriyel kullanım alanına sahip olan nar meyvesi önemli ve değerlendirilmesi gereken bir tarım atığıdır.

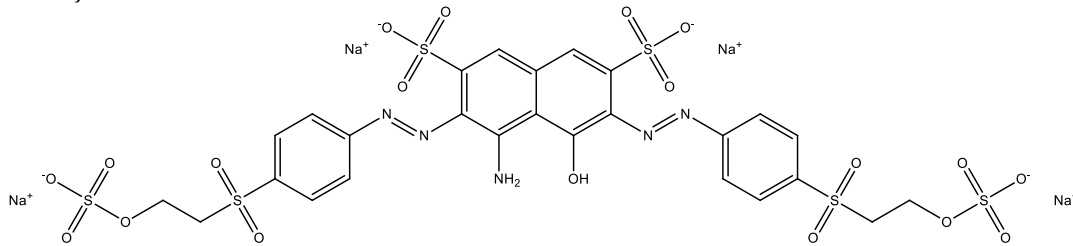
Biyosorbanlar kirleticilerin yüzeylerine çekilmesine ve bağlanması yardımcı olan –COOH, –OH, –NH, –OCH gibi çeşitli fonksiyonel gruplara sahiptir. Biyosorbanlara fiziksel ve kimyasal modifikasyonlar uygulanarak fonksiyonel grupların aktifliği/sayısı artırılarak biyosorpsiyon kapasiteleri iyileştirilebilir. Modifikasyon ajanlarına örnek olarak; baz çözeltileri (NaOH, Ca(OH)₂, Na₂CO₃ vb.), mineral ve organik asit çözeltileri (HCl, HNO₃, H₂SO₄, tartarik asit, sitrik asit, tiyoglikolik asit vb.), organik bileşikler (etilendiamin, formaldehit, epiklorohidrin, metanol vb.) ve yükseltgen maddeler (H₂O₂ vb.) verilebilir.

Bu çalışmada, reaktif siyahı 5 (RS5) gideriminde, düşük maliyetli, kolay bulanabilir bir tarım atığı olan nar kabuğu (*PGL*, *Punica granatum L.*) biyosorban olarak kullanılmıştır. Ayrıca PGL yüzeyindeki fonksiyonel gruplarının artırılması biyosorpsiyon kapasitesinin iyileştirilmesi amaçlanmış ve heksametilendiamin (HMDA) ile kimyasal modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan biyosorbanların biyosorpsiyon süreçleri farklı parametreler (pH, sıcaklık, temas süresi) ile incelenerek kinetik ve izoterm verileri çıkartılmış ve biyosorpsiyon kapasiteleri karşılaştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1 Biyosorban ve Boyanın Temini

Deneylerde kullanılan biyosorban, *P. granatum L.* kabuğu (*PGL*), nar kabuğu, yerel marketlerden temin edilmiştir. Reaktif Siyah 5 (RS5, C₂₆H₂₁N₅Na₄O₁₉S₆, 991,8 g/mol, λ_{max} = 595 nm,) boyarmaddesi Dystar firmasından temin edilmiş ve biyosorpsiyon deneylerinde herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmadan kullanılmıştır. 1000 mg/L' lik stok boya çözeltisi RS5'in deiyonize su içerisinde çözünmesiyle hazırlanmış ve kinetik (200 mg/L), izoterm (100-300 mg/L) çalışmaları için istenen derişimlerde boyarmadde çözeltileri stoktan seyreltilmiştir. RS5 boyarmaddesinin molekül yapısı Şekil 1' de verilmiştir.



Şekil 1. RS5 nin molekül yapısı

2.2 Biyosorbanın Hazırlanması ve Modifikasyonu

Çekirdeklerinden ayrılan *PGL*, deiyonize su ile yıkanarak, oda koşullarında kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutulan biyosorban öğütüldükten sonra çözünen safsızlıkları uzaklaştırmak için tekrar deiyonize su ile yıkanmış ve 80°C'deki etüvde (Binder) 48 saat kurutulmuştur. Daha sonra 150 µm elekten (Fritsch) elenerek etüvde tekrar kurutulmuş ve deneylere hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan biyosorbanın bir kısmı modifikasyon öncesi biyosorpsiyon çalışmaları için kullanılmış, diğer kısmı ise modifiye biyosorban hazırlanması için ayrılmıştır. Hekzametildiamin (HMDA) kullanılarak gerçekleştirilen modifikasyon işleminde 0,1 M 600 mL'lik HMDA çözeltisi ile 20 g *PGL* 24 saat karıştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir [29]. Hazırlanan biyosorban (*HMDA@PGL*)

süzülmüş, birkaç kez deiyonize su ile yıkanmış ve 80°C’de 24 saat kurutularak 150 µm’lik elekten geçirilmiştir.

2.3 Karakterizasyon yöntemleri

PGL ve *HMDA-PGL* elementel analiz (Vario EL III, Almanya), SEM-EDX (Zeiss Ultra Plus Model), FT-IR (Bruker Alpha, Almanya), termogravimetrik (TGA; Setaram) analiz ve zeta potansiyel (ZEN 3600 Model Zetasizer Nano-ZS, Malvern, UK ölçüm teknikleri kullanılarak karakterize edilmiş ve modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiği belirtilmiştir [29]. Bu çalışmada ise RS5 biyosorpsiyonu sonrası *PGL* ve *HMDA@PGL* yüzey karakterizasyonu FT-IR ve FE-SEM-EDX (QUANTA 400F Field Emission Scanning Electron Microscope, ABD) ile incelenmiştir.

2.4 Biyosorpsiyon deneyleri

Biyosorpsiyon deneylerinde sistem koşullarının optimizasyonu, boya giderim verimliliği açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle çalışmada uygun giderim koşulları belirlendikten sonra kinetik ve izoterm çalışmaları yapılmıştır.

Biyosorpsiyon deneyleri için uygun pH aralığı belirlemek için 200 mg/L RS5 içeren çözeltilere 0,1 g *PGL* ve 0,05 g *HMDA@PGL* eklenerek 20 °C sıcaklıkta ve 60 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karışımın pH değerleri pH metre (Mettler Toledo S20) yardımıyla ölçülmüş ve pH ayarlamalarında farklı derişimlerdeki HCl/NaOH çözeltileri kullanılmış ve deneyler 1,5–5,0 pH aralığında gerçekleştirilmiştir. Daha sonra karışımlar kaba süzgeç kâğıdından süzülerek süzüntülerin absorbans değerleri UV-Visible spektrofotometresinde (Shimadzu UV-2550) RS5 için belirlenen maksimum dalga boyunda (595,0 nm) ölçülmüştür.

Uygun pH değerleri belirlendikten sonra RS5 çözeltilerinin *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine biyosorpsiyonuna zaman ve sıcaklığın etkisi incelenerek, kinetik ve izoterm çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Kinetik çalışmalarda; 200 mg/L RS5 içeren çözeltilere belirli miktarlarda biyosorban eklenmiş, çözeltiler her iki biyosorban için uygun pH’lara ayarlanmış ve 120 dk boyunca sabit sıcaklıktaki su banyosunda karıştırılmıştır. Bu süre içerisinde belirli zaman aralıklarında karışımdan alınan örnekler süzülerek, süzüntüler UV-Vis spektrofotometresi ile analiz edilmiştir. Kinetik çalışmalar *PGL* ve *HMDA@PGL* için 20, 30 ve 40°C sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. Aynı sıcaklıklarda gerçekleştirilen izoterm deneyleri için RS5 derişimleri 100-300 mg/L alınmıştır. Deneylerden elde edilen sonuçlardan hesaplanan parametreler ile biyosorbanların RS5 giderimindeki etkileri karşılaştırılmıştır.

PGL ve *HMDA@PGL* üzerine RS5’nin biyosorpsiyonu için denge biyosorpsiyon kapasiteleri (q_d) ve biyosorpsiyon verimleri Denklem 1 ve Denklem 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$q_d = \frac{(C_0 - C_d) V}{m} \quad (1)$$

$$\% \text{Biyosorpsiyon} = \frac{C_0 - C_d}{C_0} \times 100 \quad (2)$$

Burada C_0 ve C_d (mg/L), sırasıyla RS5 çözeltilisinin başlangıç ve denge derişimini göstermektedir. V (L) çözelti hacmini ve m (g) ise biyosorban miktarını ifade etmektedir.

2.5 Sentetik atık su

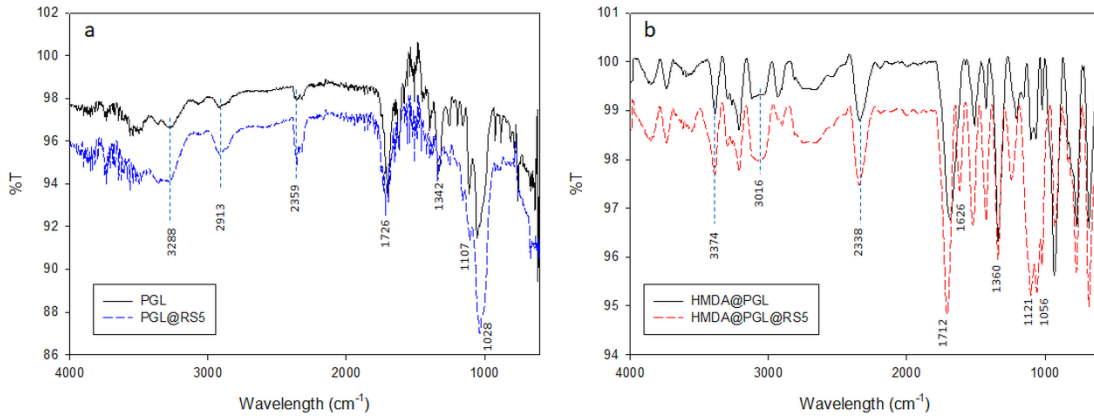
Atık suları bileşenlerinin RS5 biyosorpsiyonuna etkilerinin incelenmesi için sentetik atık su ortamı oluşturulmuştur [30]. Bunun için 0,50 g glikoz; 0,30 g KH_2PO_4 ; 0,02 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,10 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,10 g Na_2SO_4 , 0,20 g Na_2CO_3 ; 0,04 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;

0,02 g $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,006 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,004 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,03 g ZnCl_2 ile 200 mg/L RS5 içeren sentetik atık su örneği hazırlanmıştır. 50,0 mL sentetik atık suya biyosorbanlardan 0,01 g eklenmiş uygun pH ortamında, 20 °C’ de bir saat süreyle karıştırılmış ve RS5 biyosorpsiyonunun verimi incelenmiştir.

3. Bulgular

3.1 Karakterizasyon Çalışmaları

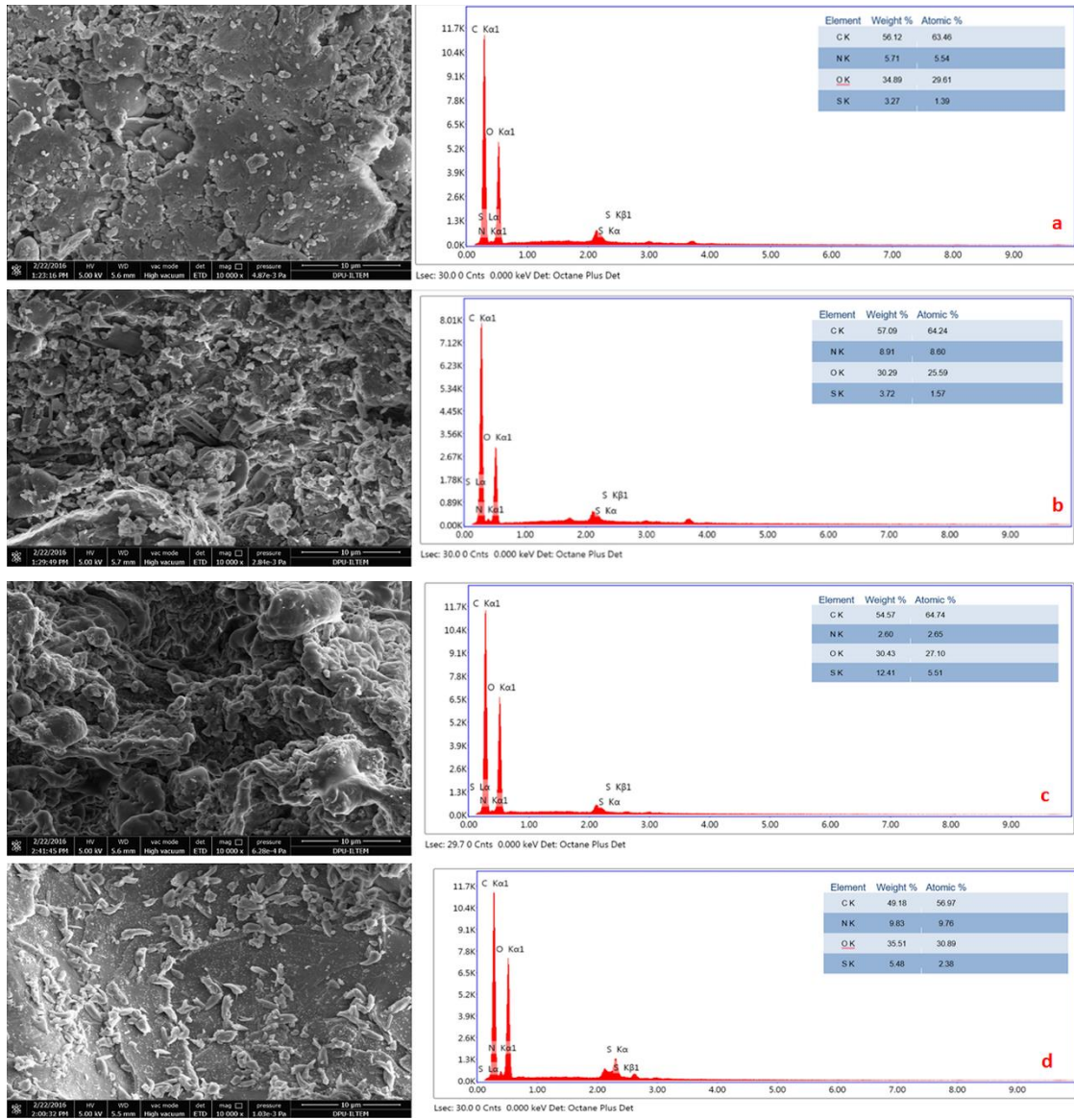
PGL ve HMDA@PGL karakterizasyon çalışmaları daha önce gerçekleştirilen çalışmada detaylı bir şekilde açıklanmış ve PGL üzerine modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiği rapor edilmiştir [29]. RS5 biyosorpsiyonu sonrası gerçekleştirilen FT-IR analizleri Şekil 2 verilmiştir.



Şekil 2. (a) PGL ve PGL@RS5; (b) HMDA@PGL ve HMDA@PGL@RS5 'e ait FT-IR Spektrumları

PGL yüzeyindeki $-\text{NH}$ ve $-\text{OH}$ gruplarından kaynaklanan 3288 cm^{-1} 'deki bant modifikasyonla 3374 cm^{-1} 'e kaymış ve anyonik boyanın yüzeye bağlanmasıyla pik şiddetlerinde artış gözlenmiştir [13]. $2913\text{-}1342 \text{ cm}^{-1}$ 'deki $-\text{CH}_3$ veya $-\text{CH}_2$ gruplarının gerilme ve eğilme titreşimleri modifikasyon ile $3016\text{-}1360 \text{ cm}^{-1}$ 'e kaymıştır [29]. Bu kayma RB5'in biyosorbanlar üzerine yerleşmesi sonucu oluşan aromatik halka birikiminden kaynaklanmaktadır. Ayrıca aromatik yapıların biyosorban yüzeyine eklenmesiyle $3000\text{-}3050 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki aromatik C-H esnemelerinin artması beklenen bir durumdur. $1107\text{-}1028 \text{ cm}^{-1}$ arasında bulunan pikler, PGL ve HMDA@PGL'nin C-C ve C-N gerilme titreşimine atanabilir. Ayrıca $1726\text{-}1712 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülen karboksil gerilme bantları, biyosorbanların yüzeyine RS5 yerleşmesiyle $1676\text{-}1651 \text{ cm}^{-1}$ 'e kaymıştır. Bu da aminlerin N-H gruplarının, amid $-\text{CHO}$ gruplarının ve karboksilik grupların biyosorpsiyon işlemine dahil olduğunu göstermiştir [29,31].

Biyosorbanların yüzey morfolojisini belirlemek için kurutulan numuneler ($60 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 s) 200 \AA kalınlığındaki karbon bant üzerine alınmış ve noktasal odaklamalar yapılarak SEM görüntüleri ve EDX analizleri alınmıştır.



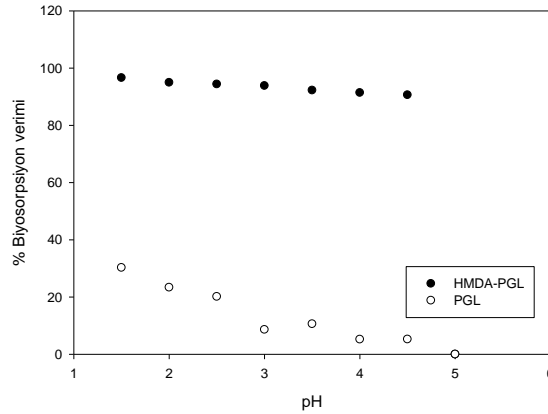
Şekil 3. SEM görüntüleri ve EDX analizleri (a) PGL (b) HMDA@PGL (c) RS5 yüklü PGL (d) RS5 yüklü HMDA@PGL

PGL'nin SEM görüntüsü incelendiğinde (Şekil 3a) yüzeyin homojen olmadığı ve yapının büyük partiküllerden oluştuğu görülmektedir. PGL'nin HMDA ile modifikasyonu sonrasında elde edilen SEM görüntüsünde (Şekil 3b) ise modifikasyon ile yüzeyde yeni oluşumların meydana geldiği ve yüzeyin nispeten daha homojen bir hale geldiği görülmektedir. Bu durum biyosorban yüzeyinin, biyosorpsiyon açısından daha uygun hale gelmesi şeklinde yorumlanabilir. RS5 biyosorpsiyonundan elde edilen SEM görüntüleri incelendiğinde (Şekil 3c ve Şekil 3d) RS5 boyarmaddesinin HMDA@PGL yüzeyini büyük kitleler halinde kapladığı ve biyosorpsiyondan sonra PGL yüzeyindeki gözeneklerin büyük oranda tıkandığı görülmektedir.

3.2 RS5 biyosorpsiyonu üzerine pH etkisi

Biyosorpsiyon ortamının pH'sı biyosorbanın yüzey yükünü, farklı kirleticilerin iyonlaşma derecesini, biyosorbanın aktif bölgelerindeki fonksiyonel grupların ayrışmasını ve boyarmaddenin moleküler yapısını etkileyebileceği bilinmektedir. Bu nedenle çözelti pH'sı, biyosorbanın hem sulu kimyasını hem de yüzey bağlanma bölgelerini etkilediğinden biyosorpsiyonda önemli bir parametredir [32]. PGL ve HMDA@PGL üzerine RS5'in biyosorpsiyonu pH 1-5 aralığında incelenmiş ve biyosorpsiyonun pH artışıyla azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4). PGL'nin HMDA ile

modifikasyonu sonucunda *PGL* yüzeyinde bulunan (–) yüklü grupların (karboksil, hidroksil vb.) etkisi azalmış ve *PGL* yüzeyi daha pozitif yüklü hale gelmiştir. Böylece düşük pH değerlerinde *HMDA@PGL*, reaktif boyarmadde gibi anyonik yapıdaki bileşiklerin biyosorpsiyonu için cazip hale gelmiştir. Bunun doğal bir sonucu olarak da pH 1,50’de en yüksek biyosorpsiyon verimine ulaşılmış ve *PGL* için % 30,3 ve *HMDA@PGL* için %96,6 olarak bulunmuştur. Tersine pH değeri arttığında ortamda bulunan OH^- iyon derişimleri artar ve dolayısıyla anyonik boyarmadde yapısındaki (–) yüklü gruplar ile ortamın bazik olmasından kaynaklanan OH^- grupları yarışır hale gelir. Negatif yüklü gruplar arasındaki itme kuvveti artar ve biyosorpsiyon kapasitesi düşer. Sonuç olarak, RS5’in *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine biyosorpsiyonu için en uygun pH değerinin 1,50 olduğu bulunmuş ve deneyler bu pH değerinde gerçekleştirilmiştir. Reaktif boyaların tarımsal atıklar üzerine biyosorpsiyon çalışmaları incelendiğinde asidik pH değerlerinde biyosorpsiyon kapasitelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir [12,33].

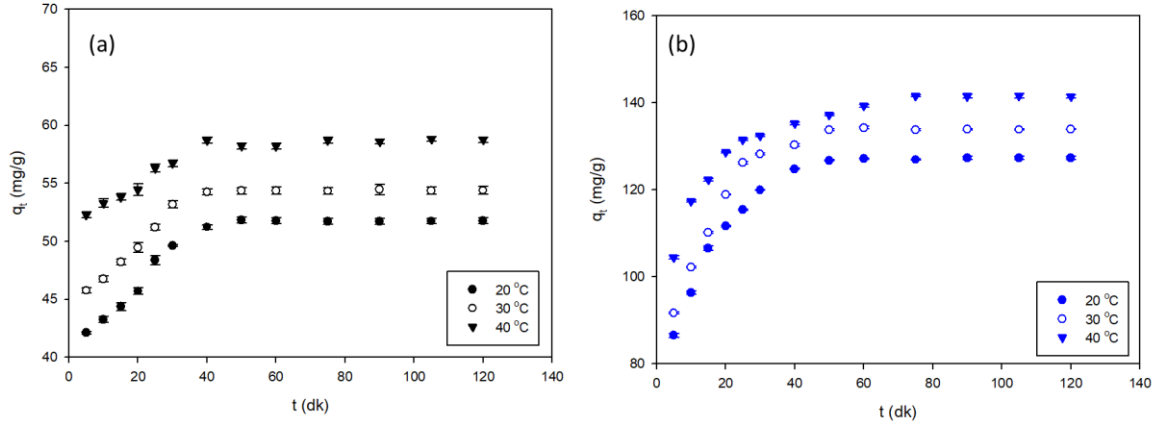


Şekil 4. *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine RS5’in biyosorpsiyonununun pH ile değişimi

Tunç ve akd. [34] RS5 boyasının atık sulardan giderimi için pamuk bitkisinin sap ve kabuklarını kullanmışlardır. pH=1,0’de 100 mg/L başlangıç boya derişiminde maksimum denge miktarın pamuk kabuk ve sapsarı için sırasıyla 43,3 ve 27,5 mg/g olarak bildirilmiştir. Pamuk tohumu kabuğu üzerine RS5 biyosorpsiyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada [35] maksimum biyosorpsiyon miktarına (12,19 mg/g) pH 2,0’ da ulaşılmıştır.

3.3 RS5 biyosorpsiyonu üzerine sıcaklık ve temas süresinin etkisi

Şekil 5a ve 5b’den de görüldüğü gibi *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonunun başlangıçta hızlı gerçekleştiği ve tüm sıcaklıklar için yaklaşık 50 dk’ da dengeye ulaştığı görülmektedir. *PGL* üzerine RS5’ in biyosorpsiyon kapasitesi sıcaklığın artması ile $51,69 \pm 0,26$ g/mg değerinden $58,55 \pm 0,74$ g/mg değerine yükselmiştir. Ayrıca *HMDA@PGL* üzerine RS5’ in biyosorpsiyon kapasitesi 20, 30, 40 °C sıcaklıklarda sırasıyla $127,21 \pm 0,18$; $133,79 \pm 0,17$ ve $141,94 \pm 1,98$ g/mg olarak bulunmuştur. Bu durum biyosorpsiyonun, endotermik süreçle denetlenen kemisorpsiyon olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca *HMDA@PGL* için elde edilen RS5 biyosorpsiyon miktarlarının, *PGL* için elde edilen miktarlardan daha fazla olması *HMDA* modifikasyonu ile *PGL* aktif merkezlerinin sayısının artmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 5. Farklı sıcaklıklarda *PGL* (a) ve *HMDA@PGL* (b) üzerine biyosorplanan RS5 miktarının zamana bağlı değişimi

3.4 Kinetik çalışmalar

Biyosorpsiyon sürecinin zamana bağlı olarak değişimi gösteren biyosorpsiyon kinetiği mekanizmanın aydınlatılmasında önemli bir parametredir. Biyosorpsiyon kinetiğini açıklamak amacı ile birçok kinetik model türetilmiştir. Yalancı birinci dereceden kinetik model, yalancı ikinci dereceden kinetik model bunlardan en yaygın olarak kullanılanlardır [36]. Modellere ait denklemler aşağıda verilmiştir;

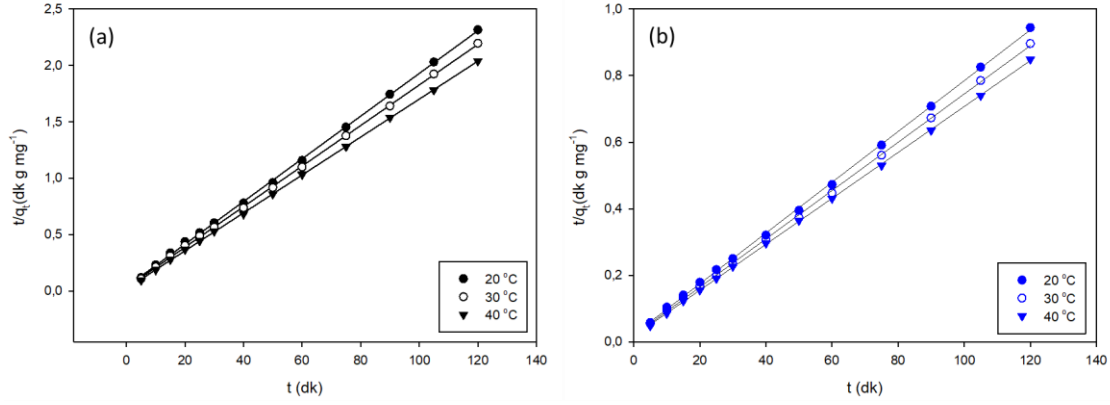
Yalancı birinci dereceden kinetik model [37]

$$\ln(q_d - q_t) = \ln q_d - k_1 t \quad (3)$$

Yalancı ikinci dereceden kinetik model [38]

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{q_d^2 k_2} + \frac{1}{q_d} t \quad (4)$$

Burada k_1 (1/dk) ve k_2 (g/mg dk) sırasıyla yalancı-birinci-dereceden ve yalancı-ikinci-dereceden hız sabitleridir. q_t (mg/g) t anında biyosorbat miktarı, q_d (mg/g) denge zamanında biyosorplanan maksimum biyosorbat miktarıdır. Farklı sıcaklıklarda *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyona ait yalancı-ikinci-dereceden kinetik model için hesaplanan değerlere göre çizilen t/q_t grafikleri Şekil 6a ve Şekil 6b de, grafiklerden elde edilen doğruların eğim ve kesimlerinden hesaplanan kinetik parametreler ise Tablo 1’de verilmiştir. Her iki biyosorban için yalancı-birinci-dereceden kinetik modelden elde edilen korelasyon katsayısı (r_1^2) değerinin düşük olduğu, yalancı-ikinci-dereceden kinetik model için elde edilen korelasyon katsayısı (r_2^2) değerlerinin ise oldukça yüksek ve bütün durumlar için 0,999 olduğu görülmektedir. Bununla birlikte her iki biyosorban için hesaplanan k_2 değerlerinin sıcaklık artışı ile çok fazla değişmediği ve biyosorpsiyon hızının sıcaklık değişiminden etkilenmediği gözlenmiştir. Ayrıca *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonu için çalışılan bütün sıcaklıklarda hesaplanan q_d değerlerinin deneysel olarak bulunan dengedeki q değerleri ile uyumlu olması biyosorpsiyon kinetiğinin yalancı-ikinci-dereceden olduğunu desteklemektedir.



Şekil 6. Farklı sıcaklıklarda (a) *PGL* ve (b) *HMDA@PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonu için yalancı-ikinci-dereceden kinetik grafikleri

Tablo 1 *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonu için hesaplanan kinetik parametreler

	Yalancı-birinci-derece					Yalancı-ikinci-derece		
	q (mg/g) deneysel	t (°C)	k_1 (dk ⁻¹)	q_1 (mg/g)	r_1^2	k_2 (g/mg dk)	q_d (mg/g)	r_2^2
<i>PGL</i>	51,69±0,26	20	3,89x10 ⁻²	8,61	0,824	9,46x10 ⁻³	52,87	0,999
	54,23±1,04	30	3,49x10 ⁻²	6,66	0,763	1,07x10 ⁻²	55,64	0,999
	58,55±0,74	40	3,75x10 ⁻²	6,72	0,867	1,30x10 ⁻²	59,54	0,999
<i>HMDA@PGL</i>	127,1±0,2	20	7,30x10 ⁻²	48,10	0,925	2,67x10 ⁻³	131,1	0,999
	133,8±0,2	30	6,08x10 ⁻²	45,98	0,944	2,74x10 ⁻³	137,8	0,999
	142,0±1,9	40	4,42x10 ⁻²	34,24	0,874	2,77x10 ⁻³	145,0	0,999

3.5 İzoterm çalışmaları

Biyosorpsiyon sırasında yüzeyde biriken biyosorbat ile çözeltide kalan biyosorbat arasındaki dinamik denge biyosorpsiyon izotermi ile incelenmektedir [39]. İzoterm geneli olarak belirli miktardaki biyosorban ile farklı derişimlerde biyosorbat çözeltilerinin dengeye ulaşmasıyla elde edilir. Biyosorpsiyon sürecinin açıklanmasında önemli bir yere sahip olan izoterm matematiksel olarak denklemlerle ifade edilir. Bu çalışmada boyarmadde biyosorpsiyonu en bilinen izoterm yaklaşımları olan Langmuir [40] ve Freundlich [41] izoterm modelleri ile incelenmiştir.

$$q_d = \left(\frac{q_m K_L C_d}{1 + K_L C_d} \right) \quad (5)$$

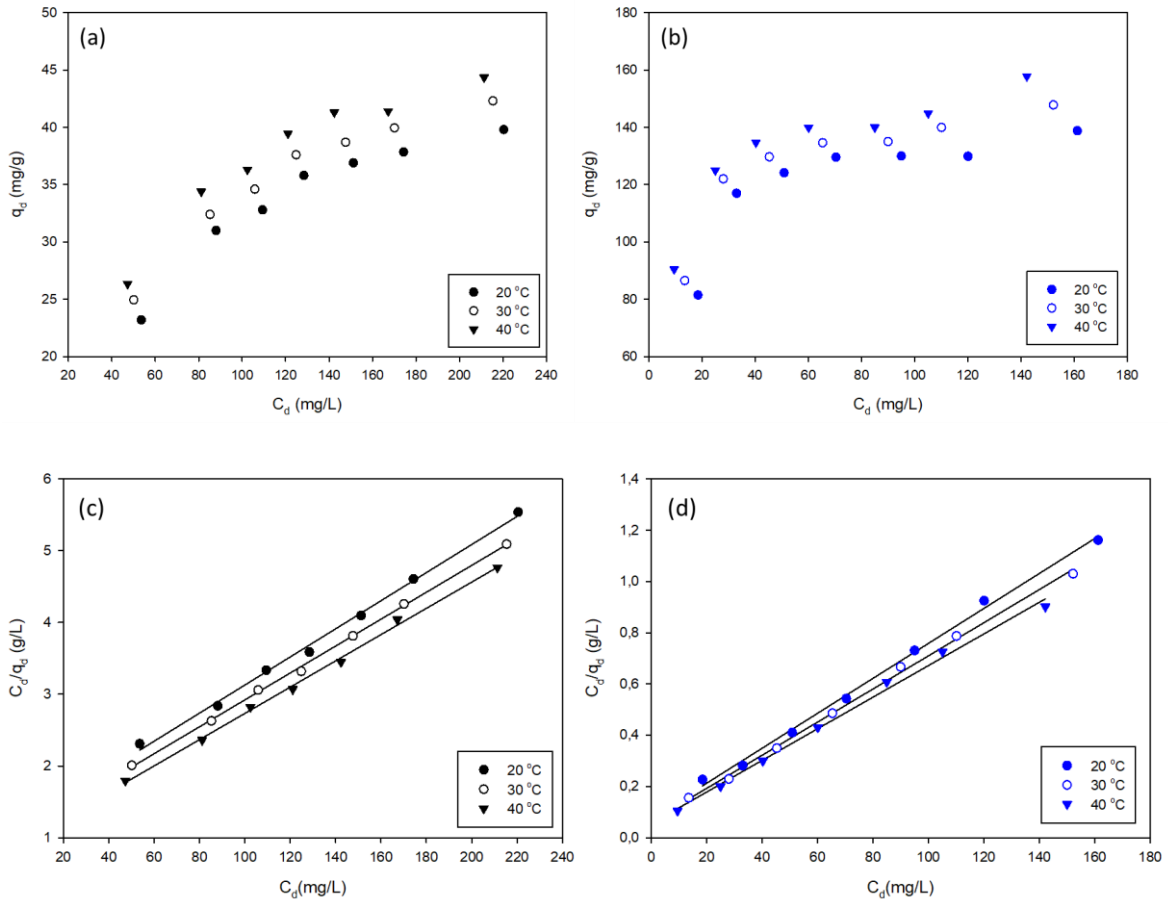
$$R_L = \left(\frac{1}{1 + K_L C_0} \right) \quad (6)$$

$$q_d = K_F \cdot C_d^{1/n} \quad (7)$$

Burada C_0 ve C_d (mg/L) RS5'nin başlangıç ve denge derişimleri, q_d ve q_m (mg/g) dengedeki ve maksimum biyosorpsiyon kapasitesidir. K_L (L/mg) sıcaklık ve biyosorpsiyon entalpisine bağlı Langmuir sabiti, R_L (birimsiz) ayırma faktörü ya da denge parametresi olarak adlandırılır [42]. K_F (L/g) ve n (birimsiz) Freundlich izoterm sabitleridir.

100-300 mg/L derişimleri aralığında boyarmadde derişimleri ile çalışılarak elde edilen biyosorpsiyon izotermi Şekil 7’de verilmiştir. Ayrıca uygulanan izoterm için hesaplanan sabitler Tablo 2’de listelenmiştir.

Şekil 7 ve Tablo 2 incelendiğinde, *PGL* ve *HMDA–PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonu için çalışılan tüm sıcaklıklardaki Langmuir izotermi için hesaplanan korelasyon katsayısı (r_L^2) değerlerinin Freundlich izotermine r_F^2 değerlerinden oldukça yüksek olması, biyosorpsiyonun Langmuir izotermine uyduğunu göstermektedir. Sıcaklık artışı ile biyosorplanan madde miktarının (q_m) artması ise biyosorpsiyonun yüksek sıcaklıklarda daha etkili olduğunu ve sürecin endotermik olarak ilerlediğini desteklemektedir. Ayrıca her iki biyosorban için de tüm sıcaklıklardaki R_L ($0 < R_L < 1$) değerlerinin sıfıra çok yakın olması biyosorpsiyon sürecinin Langmuir izoterm modeline uygun olduğunu, biyosorpsiyonun tek tabakalı ve homojen bir şekilde gerçekleştiğinin kanıtıdır. *PGL* ve *HMDA–PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonu için Freundlich izotermine ait grafiklerin eğiminden hesaplanan n değerlerinin 1’den büyük olması biyosorpsiyonun istemli gerçekleştiğini ve *PGL* ve *HMDA–PGL* biyosorbanlarının RS5 gideriminde oldukça etkili olduklarını göstermektedir.



Şekil 7. Farklı sıcaklıklarda (a) *PGL* ve (b) *HMDA@PGL* üzerine RS5 boyarmaddeşinin biyosorpsiyon izotermi, (c) *PGL* ve (d) *HMDA@PGL* Langmuir izotermi

Tablo 2 *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonu için hesaplanan izoterm parametreleri

	Langmuir				Freundlich			
	t (°C)	K_L (L/mg)	q_m (mg/g)	R_L	r_L^2	n	K_F (L/g)	r_F^2
<i>PGL</i>	20	$1,63 \times 10^{-2}$	52,36	$1,70 \times 10^{-1}$	0,996	2,64	5,45	0,945
	30	$1,80 \times 10^{-2}$	53,19	$1,56 \times 10^{-1}$	0,999	2,77	6,33	0,968

	40	$2,03 \times 10^{-2}$	54,64	$1,41 \times 10^{-1}$	0,997	2,91	7,32	0,959
	20	$8,92 \times 10^{-2}$	147,1	$3,60 \times 10^{-2}$	0,998	4,83	50,9	0,771
HMDA@PGL	30	$1,02 \times 10^{-1}$	153,8	$3,15 \times 10^{-2}$	0,996	5,16	57,9	0,846
	40	$1,12 \times 10^{-1}$	161,3	$2,88 \times 10^{-2}$	0,998	5,48	64,5	0,906

3.6 Sentetik atık su çalışmaları

RS5 boyarmaddesinin sentetik atık su örneklerinden uzaklaştırılması için uygun biyosorpsiyon koşullarında deneyler gerçekleştirildi. *PGL* (0,10 g) ve *HMDA@PGL* (0,050 g) ile 20°C’de pH 1,50’de yapılan deneylerde biyosorpsiyon verimi sırasıyla % 28,4 ve %95,2 olarak bulunmuştur. Sonuçlar, RS5'in atık sudan etkin bir şekilde uzaklaştırılması da önemli bir matris etkisinin gözlemlenmediğini ve yüksek biyosorpsiyon performansı ile reaktif boya içeren atık suların saflaştırılması için *PGL* ve *HMDA@PGL* kullanılabileceğini açıkça göstermiştir.

4. Sonuç ve Yorum

Çalışmada, dünya üretiminde dördüncü sırada yer aldığımız nar meyvesinin kabukları (*PGL*; *Punica granatum* L.) organik yapıları biyosorplama yeteneği ve biyosorpsiyon kapasitesinin iyileştirilmesi amaçlanmıştır. *PGL*'nin biyosorpsiyon çalışmalarındaki en önemli avantajları yüksek aktif fonksiyonel gruplara sahip olması ve birçok endüstriyel alanda kullanılmasından dolayı ekonomik ve kolay ulaşılabilir bir tarımsal atık olmasıdır. Bu çalışmada *PGL* biyosorban olarak kullanılmış ve biyosorpsiyon kapasitesi kimyasal modifikasyon (*HMDA@PGL*) ile artırılmıştır. Atık sulardan Reaktif Siyah 5 (RS5) giderimi için maksimum biyosorpsiyon kapasitesine pH 1,50’ de ulaşılmış ve *PGL* için %30,3 olan biyosorpsiyon verimi modifikasyonla %96,6’ ya çıkmıştır. Biyosorpsiyon süreci her iki biyosorban için sıcaklık artışı ile biyosorplanan RS5 miktarının arttığı ve sürecin endotermik olarak ilerlediği bulunmuştur. Ayrıca yalancı ikinci derece kinetik model için hesaplanan k_2 değerlerinin sıcaklıkla değişmemesi, biyosorpsiyon hızının sıcaklığa bağlı olmadığını göstermektedir. Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri uygulandığında *PGL* ve *HMDA@PGL* üzerine RS5 biyosorpsiyonunun Langmuir tek tabakalı izoterm modeline uyduğu bulunmuştur. *PGL* ve *HMDA@PGL* için 40 °C’de maksimum biyosorpsiyon kapasitesi (q_m) sırasıyla 54,64 ve 161,3 mg/g olarak bulunmuştur. Özetle, kolay bulunabilen ve düşük maliyetli bir tarımsal atık olan *PGL*’nin biyosorpsiyon verimi modifikasyonla artırılmış ve anyonik boyaların atık sudan giderimi için umut verici bir biyosorban olduğu gözlenmiştir. *PGL*'nin atık suda bulunan diğer kirleticiler için alternatif bir biyosorban olarak potansiyelini keşfetmek ve farklı yöntemlerle (fiziksel/kimyasal aktivasyon, kompozit vb.) biyosorpsiyon kapasitesinin artırılması için daha fazla araştırma yapılabilir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

Ç. Ay: Araştırma, Orijinal Taslak Yazımı, İnceleme ve Düzenleme

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Destek ve Teşekkür Beyanı

Bu çalışma Dumlupınar Üniversitesi BAP birimi tarafından 2014/13 Nolu proje olarak desteklenmiştir. Bu çalışmanın FT-IR spektrumları Ankara Üniversitesi Kimya Bölümü’nde gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden dolayı Prof. Dr. Orhan ATAKOL’a çok teşekkür ederim.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] N. Mikosch, R. Becker, L. Schelter, M. Berger, M. Usman, and M. Finkbeiner, "High resolution water scarcity analysis for cotton cultivation areas in Punjab, Pakistan," *Ecol. Indic.* 109, 105852, 2020.
- [2] A. R. C. Richa, "Synthesis of a novel gellan-pullulan nanogel and its application in adsorption of cationic dye from aqueous medium," *Carbohydr. Polym.* 227, 115291, 2020.
- [3] V. K. Gupta, R. Jain, S. Varshney, and V. K. Saini, "Removal of Reactofix Navy Blue 2 GFN from aqueous solutions using adsorption techniques," *J. Colloid Interface Sci.* 307, 326–332, 2007.
- [4] C. I. Pearce, J. R. Lloyd, and J. T. Guthrie, "The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review," *Dye. Pigment.* 58, 179–196, 2003.
- [5] R. Bushra, S. Mohamad, Y. Alias, Y. Jin, and M. Ahmad, "Current approaches and methodologies to explore the perceptive adsorption mechanism of dyes on low-cost agricultural waste: A review," *Microporous Mesoporous Mater.* 319, 111040, 2021.
- [6] M. Jain, V. K. Garg, and K. Kadirvelu, "Equilibrium and kinetic studies for sequestration of Cr(VI) from simulated wastewater using sunflower waste biomass," *J. Hazard. Mater.* 171, 328–334, 2009.
- [7] D. Shen, J. Fan, W. Zhou, B. Gao, Q. Yue, and Q. Kang, "Adsorption kinetics and isotherm of anionic dyes onto organo-bentonite from single and multisolute systems," *J. Hazard. Mater.* 172, 99–107, 2009.
- [8] A. Azari, M. Noorisepehr, E. Dehganifard, K. Karimyan, S. Y. Hashemi, E. M. Kalhori, R. Norouzi, S. Agarwal, and V. K. Gupta, "Experimental design, modeling and mechanism of cationic dyes biosorption on to magnetic chitosan-lutaraldehyde composite," *Int. J. Biol. Macromol.* 131, 633–645, 2019.
- [9] R. Vinu and G. Madras, "Kinetics of Sonophotocatalytic Degradation of Anionic Dyes with Nano-TiO₂," *Environ. Sci. Technol.* 43, 473–479, 2009.
- [10] V. K. Gupta and Suhas, "Application of low-cost adsorbents for dye removal - A review," *J. Environ. Manage.* 90, 2313–2342, 2009.
- [11] O. Sakin Omer, M. A. Hussein, B. H. M. Hussein, and A. Mgaidi, "Adsorption thermodynamics of cationic dyes (methylene blue and crystal violet) to a natural clay mineral from aqueous solution between 293.15 and 323.15 K," *Arab. J. Chem.* 11, 615–623, 2018.
- [12] M. A. M. Salleh, D. K. Mahmoud, W. A. W. A. Karim, and A. Idris, "Cationic and anionic dye adsorption by agricultural solid wastes: A comprehensive review," *Desalination* 280, 1–13, 2011.
- [13] K. Vijayaraghavan and Y. S. Yun, "Biosorption of C.I. Reactive Black 5 from aqueous solution using acid-treated biomass of brown seaweed *Laminaria* sp.," *Dye. Pigment.* 76, 726–732, 2008.
- [14] T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, and P. Nigam, "Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative," *Bioresour. Technol.* 77, 247–255, 2001.
- [15] A. H. Jawad, A. M. Kadhum, and Y. S. Ngoh, "Applicability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels as low-cost biosorbent for adsorption of methylene blue from aqueous solution: kinetics, equilibrium and thermodynamics studies," *Desalin. WATER Treat.* 109, 231–240, 2018.
- [16] M. T. Sulak, E. Demirbas, and M. Kobya, "Removal of Astrazon Yellow 7GL from aqueous solutions by adsorption onto wheat bran," *Bioresour. Technol.* 98, 2590–2598, 2007.
- [17] M. A. Ahmad, M. A. Eusoff, P. O. Oladoye, K. A. Adegoke, and O. S. Bello, "Statistical optimization of Remazol Brilliant Blue R dye adsorption onto activated carbon prepared from pomegranate fruit peel," *Chem. Data Collect.* 28, 100426, 2020.
- [18] A. Machrouhi, H. Alilou, M. Farnane, S. El Hamidi, M. Sadiq, M. Abdennouri, H. Tounsadi, and N. Barka, "Statistical optimization of activated carbon from *Thapsia transtagana* stems and dyes removal efficiency using central composite design," *J. Sci. Adv. Mater. Devices* 4, 544–553, 2019.
- [19] K. Samal, N. Raj, and K. Mohanty, "Saponin extracted waste biomass of *Sapindus mukorossi* for adsorption of methyl violet dye in aqueous system," *Surfaces and Interfaces* 14, 166–174, 2019.
- [20] M. Ngabura, S. A. Hussain, W. A. W. A. Ghani, M. S. Jami, and Y. P. Tan, "Utilization of renewable durian peels for biosorption of zinc from wastewater," *J. Environ. Chem. Eng.* 6, 2528–2539, 2018.
- [21] G. Ungureanu, S. C. R. Santos, I. Volf, R. A. R. Boaventura, and C. M. S. Botelho, "Biosorption of antimony oxyanions by brown seaweeds: Batch and column studies," *J. Environ. Chem. Eng.* 5, 3463–3471, 2017.
- [22] A. M. Elgarahy, K. Z. Elwakeel, S. H. Mohammad, and G. A. Elshoubaky, "A critical review of biosorption of dyes, heavy metals and metalloids from wastewater as an efficient and green process," *Clean. Eng. Technol.* 4, 100209, 2021.
- [23] F. Fu and Q. Wang, "Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review," *J. Environ. Manage.* 92, 407–418, 2011.
- [24] P. M. Fernández, S. C. Viñarta, A. R. Bernal, E. L. Cruz, and L. I. C. Figueroa, "Bioremediation strategies for chromium removal: Current research, scale-up approach and future perspectives," *Chemosphere* 208, 139–148, 2018.
- [25] S. T. Akar, A. S. Özcan, T. Akar, A. Özcan, and Z. Kaynak, "Biosorption of a reactive textile dye from

- aqueous solutions utilizing an agro-waste,” *Desalination* 249, 757–761, 2009.
- [26] H. Kurt and G. Şahin, “Bir ziraat coğrafyası çalışması: Türkiye’de nar (*Punica granatum* L.) tarımı,” *Marmara Coğrafya Dergisi*, 27,551–574, 2013.
- [27] A. İkinci, İ. Bolat, and M. Şimşek, “International Pomegranate Trade and Pomegranate Standard,” *I. International GAP Agriculture Livestock Congr.* 607-613,2018.
- [28] “TÜİK 2022,” <<https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2022-45504>>. Erişim tarihi: 18.04.2023
- [29] Ç. Ay, A. S. Özcan, Y. Erdoğan, and A. Özcan, “Characterization and lead(II) ions removal of modified *Punica granatum* L. peels,” *Int. J. Phytoremediation* 19, 327–339, 2017.
- [30] Ç. Ömeroğlu Ay, A. S. Özcan, Y. Erdoğan, and A. Özcan, “Characterization of *Punica granatum* L. peels and quantitatively determination of its biosorption behavior towards lead(II) ions and Acid Blue 40,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 100, 197–204, 2012.
- [31] K. C. Lai, L. Y. Lee, B. Y. Z. Hiew, T. C. K. Yang, G. T. Pan, S. Thangalazhy-Gopakumar, and S. Gan, “Utilisation of eco-friendly and low cost 3D graphene-based composite for treatment of aqueous Reactive Black 5 dye: Characterisation, adsorption mechanism and recyclability studies,” *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 114, 57–66, 2020.
- [32] L. Ai, C. Zhang, F. Liao, Y. Wang, M. Li, L. Meng, and J. Jiang, “Removal of methylene blue from aqueous solution with magnetite loaded multi-wall carbon nanotube: Kinetic, isotherm and mechanism analysis,” *J. Hazard. Mater.* 198, 282–290, 2011.
- [33] J. F. Osmá, V. Saravia, J. L. Toca-Herrera, and S. R. Couto, “Sunflower seed shells: A novel and effective low-cost adsorbent for the removal of the diazo dye Reactive Black 5 from aqueous solutions,” *J. Hazard. Mater.* 147, 900–905, 2007.
- [34] Ö. Tunç, H. Tanacı, and Z. Aksu, “Potential use of cotton plant wastes for the removal of Remazol Black B reactive dye,” *J. Hazard. Mater.* 163, 187–198, 2009.
- [35] D. Uçar and B. Armağan, “The Removal of Reactive Black 5 from Aqueous Solutions by Cotton Seed Shell,” *Water Environ. Res.* 84, 323–327, 2012.
- [36] S. Tunalı Akar, F. Sayin, I. Ozdemir, and D. Tunc, “A Natural Montmorillonite-Based Magsorbent as an Effective Scavenger for Cadmium Contamination,” *Water. Air. Soil Pollut.* 231 Water, Air, & Soil Pollution, 2020.
- [37] S. Lagergren, “Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe,” *K. Sven. Vetenskapsakademiens, Handl.* 24, 1–39, 1898.
- [38] Y. . Ho and G. McKay, “Pseudo-second order model for sorption processes,” *Process Biochem.* 34, 451–465, 1999.
- [39] W. j. Weber, “Physicochemical Processes: For Water Quality Control,” *WILEY Intersci.* 9, 261–304, 1972.
- [40] I. Langmuir, “The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum,” *J. Am. Chem. Soc.* 40, 1361–1403, 1918.
- [41] H. Freundlich, “Über die absorption in lösungen.,” *Über Die Adsorpt. Lösungen*, 385–470, 1906.
- [42] K. R. Hall, L. C. Eagleton, A. Acrivos, and T. Vermeulen, “Pore- and Solid-Diffusion Kinetics in Fixed-Bed Adsorption under Constant-Pattern Conditions,” *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 5, 212–223, 1966.

FMS-TTP-SPE Ön Hazırlık Sistemi Kullanılarak Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Analizi için Yöntem Geliştirilmesi: Yöntemin Göl Suyu Numunelerine Uygulanması

Murat Kılıç^{1,*}, Ömer Dilek¹

¹Isparta University of Applied Sciences, Central Research Laboratory Application and Research Center, 32200, Isparta, Turkey

<https://orcid.org/0000-0003-1174-0197>

*yazışılan yazar: muratkilic@isparta.edu.tr

<https://orcid.org/0000-0002-4907-0865>

(Alınış / Received: 13.12.2022, Kabul / Accepted: 10.05.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Öz: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) bileşiklerinin kanserojen etkilerinin yüksek olduğu bilinmektedir. PAH'ların sulardaki çözünürlük değerlerinin düşük (nanogram/litre) olması nedeni ile PAH tayini ön hazırlık işlemlerinin doğru yapılması ve farklı analitik cihazlar ile düşük konsantrasyonlardaki tespitlerinin belirlenmesi için hassas analitik teknikler gereklidir. Bu tekniklerden bir tanesi de Akışkan Yönetim Sistemleri- Turbo Trace Paralel-Katı Faz Ekstraksiyonu (Fluid Management Systems - Turbo Trace Parallel - Solid Phase Extraction, FMS-TTP-SPE) ön hazırlık sistemi kullanılarak çevresel su numunelerinden PAH'ların ekstraksiyonudur. Bu çalışmada, FMS-TTP-SPE ön hazırlık sistemi kullanarak su numunelerinde bulunan 11 adet PAH bileşiğinin ekstraksiyonu ve sonrasında konsantrasyonlarının gaz kromatografi cihazında (GC-FID) belirlenmesi için kromatografik analiz ve ekstraksiyon metodu valide edilmiştir. Gaz kromatografisi ile konsantrasyon belirleme çalışmalarının doğrulama parametreleri için elde edilen sonuçlardan LOD değerleri 6,48 ile 13,69 arasında, LOQ değerleri ise 21,60 ile 45,62 µg L-1 arasında hesaplanmıştır. Geri kazanım (GK) testleri ise %85,0 ile %97,0 arasında tespit edilmiştir. Önerilen yöntem ile, geleneksel yaklaşımlara kıyasla tek bir ekstraksiyon prosedüründe çok düşük PAH konsantrasyonlarının tespit edilebildiği gösterilmiştir. Geliştirilen metot kullanılarak; 2022 yılı Nisan ayı içerisinde, volkanik göl olan Gölcük gölünden on iki adet göl suyu örneği toplanmış ve PAH'ların konsantrasyon tespit çalışmaları yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: PAH, FMS Turbo Trace Paralel SPE Sistem, GC-FID, Metot Validasyon

Development of a Method for the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using FMS-TTP-SPE Pretreatment System: Application of the Method to Lake Water Samples

Abstract: It is known that the carcinogenic effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) compounds are high. Therefore, accurate determination of PAH concentrations in water is an important research topic. Since PAHs have low solubility values in water (nanogram/liter), sensitive analytical techniques and sample pretreatment systems are required in order to determine the low levels of PAH compounds in water samples. One of these techniques is the extraction of PAHs from environmental water samples using the Fluid Management Systems-Turbo Trace Parallel-Solid Phase Extraction (FMS-TTP-SPE) pretreatment system. In this study, a chromatographic analysis and extraction method was validated and adopted for the extraction of 11 PAH compounds in water samples using the FMS-TTP-SPE pretreatment system and a gas chromatography equipped with a flame ionization detector (GC-FID). From

the results, the LOD values were calculated between 6.5 and 13.7, and the LOQ values between 21.6 and 45.6 $\mu\text{g L}^{-1}$. Recovery (R) results were changed between 85.0% and 97.0%. Concerning the proposed method, it has been shown that high concentrations of PAHs can be obtained in a single extraction procedure compared to conventional approaches. Using the developed method, twelve surface lake water samples were collected in April 2022 from Gölçük lake which is a volcanic lake. Eleven PAH compounds were investigated in the lake water samples using the proposed method.

Keywords: PAH, FMS Turbo Trace Paralel SPE System, GC-FID, Method Validation

1. Giriş

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), çok çeşitli organik su kirleticileri arasında özel bir öneme sahiptir. PAH'lar; yaygın, kalıcı ve toksik kirletici maddelerdir. Mutajenik ve kanserojen özellikleri nedeniyle, Avrupa Birliği (AB) [1] ve ABD Çevre Koruma Ajansı (US EPA), PAH'ları öncelikli kirleticiler olarak listelemişlerdir [2]. Ayrıca, PAH'ın endokrin bozucu özelliklere sahip olduğu petrol ve dizelin eksik yanması, organik atıkların yakılması, odun ve kömürün yakılması, kömür katranı ile ham petrol içeren endüstriyel işlemler dahil olmak üzere çeşitli antropojenik olaylardan kaynaklandığı belirtilmektedir [3]. Volkanik patlamalar, orman ve bozkır yangınları PAH'ın başlıca doğal kaynakları arasındadır [4]. PAH'lar atmosfere salındıktan sonra yağ ve kuru çökeltmeler yoluyla diğer alıcı ortamlara taşınmaktadır. Kentsel alanlarda çeşitli su kaynaklarına ulaşabilmektedirler [5]. Akarsular, nehirler, göller ve kaynaklar içme suyu kaynağı olarak sıklıkla kullanıldığından, su kaynaklarının kirlenmesi potansiyel bir insan sağlığı riski taşımaktadır [6].

PAH karbonlu malzemelerin yüksek sıcaklıkta yanma işleminden oluşan, iki veya daha fazla yoğunlaşmış aromatik benzen halkasına sahip organik bir grup çevresel kirleticidir [7-9]. Sularda bulunan PAH konsantrasyonları, PAH'ların lipofilik özellik göstermelerinden dolayı çok düşüktür (ng mL^{-1} (ppb) seviyelerinde veya daha düşük) [10,11]. Kalıcı, toksik, mutajenik ve kanserojen özelliklerinden dolayı çevredeki PAH riski ile başa çıkmak önemlidir [12]. Yaygın olan PAH'lardan on altı tanesi, asenaften, asenaftilen, antrasen, benz[a]antrasen, benzo[a]piren, benzo[b]floranten, benzo[ghi]perilen, benzo[k]floranten, krizen, dibenz[a,h]antrasen, floranten, floren, indeno[1,2,3-cd]piren, naftalin, fenantren ve piren US EPA tarafından öncelikli kirleticiler olarak listelenmişlerdir.

PAH'ın belirlenmesi sırasında çevresel numunelerin karmaşık matrisleri, PAH'ın düşük konsantrasyon seviyeleri, düşük su çözünürlüğü, benzer fiziksel ve kimyasal özellikler gibi birçok problemle karşı karşıya kalınmaktadır. Bu nedenle, farklı matrislerde PAH'ın nicelleştirilmesi için hassas ve seçici bir analitik yöntem kullanılarak (örneğin sıvı kromatografisi (LC) ve/veya gaz kromatografisi (GC)) ekstraksiyon tekniğinin kombinasyonu gerekli olduğu bildirilmiştir [13-16]. PAH'ların su kaynaklarından ekstraksiyonunu ve analizini içeren çalışmalar literatürde bildirilmektedirler [17, 18, 19].

Numune hazırlama, su numunelerindeki PAH'ın analizinde önemli bir adımdır. Klasik yöntemler, katı faz ekstraksiyonu (SPE) ve sıvı-sıvı ekstraksiyonu içerir. Bu teknikler, çok adımlı, yüksek maliyetli ve zaman alıcı prosedürlerle karakterize edilir. Ayrıca, büyük miktarlarda tehlikeli çözücüler tüketerek, çalışanların ve çevrenin güvenliği ile ilgili endişeleri arttırmaktadır. [Son zamanlarda solvent hacimlerinin, sorbent](#) miktarının ve numune boyutunun azaltılmasına odaklanan birçok yeni teknik geliştirilmiştir [20]. Bu bağlamda, katı-faz mikro ekstraksiyonun ve sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonun farklı versiyonlarından söz edilebilir [21-24].

Akışkan Yönetim Sistemleri- Turbo Trace Paralel- Katı Faz Ekstraksiyonu (Fluid Management Systems - Turbo Trace Parallel - Solid Phase Extraction, FMS-TTP-SPE) ön hazırlık sistemi kullanılarak çevresel su numunelerinden PAH'ların ekstraksiyonu geleneksel yaklaşımlara göre birçok avantaj sağlamaktadır. FMS-TTP-SPE sisteminde tek bir adımda örneklerde düşük konsantrasyonlarda bulunan PAH bileşiklerinin adsorpsiyonu PAH kartuşu tarafından tutulmakta, adsorbe edilen PAH bileşenlerinin desorpsiyonu ise minimum organik çözücü kullanılarak gerçekleştirilmekte, FMS-TTP-SPE sistemi ile entegre olarak çalışan azot altında uçurma cihazında ise desorpsiyon sonucu çözünen numunelerde bulunan organik çözücü azot yardımıyla ısıtılarak uzaklaştırılmaktadır. FMS-TTP-SPE ön hazırlık cihazı, kapalı bir sistem içermektedir. Bu sebeple minimum düzeyde kontaminasyon riski taşımaktadır. Numune hazırlama esnasında standart yöntem olan ekstraksiyon metoduna göre daha az çözücü kullanıldığı için ise çevre ve analist dostu bir cihazdır. Bu çalışmada PAH'ın ön hazırlığında kullanılan FMS-TTP-SPE cihazı ile yeşil kimya olarak adlandırılan ön hazırlık işlemleri ve daha verimli analitik protokollere yönelik artan taleplerin bir örneği sunulmuştur. Genel olarak numune hazırlama eğilimi minyatürleştirme ve otomasyona doğru kaymaktadır [25]. Bir prosedürün otomatikleştirilmesi, genellikle, gözetimsiz işlemlerle çalışma saatleri dışında bile devam edilebildiğinden, genel numune veriminde bir artışla sonuçlanır. Aynı zamanda uygulama süresini önemli ölçüde azaltır ve analistin tehlikeli kimyasallara maruz kalmasını minimuma indirir. Arttırılmış hassasiyet ve tekrar üretilebilirlik, minimum manuel işlemlerden kaynaklanan otomasyonun faydaları arasındadır [26]. Bu nedenle özellikle büyük numune partileri söz konusu olduğunda otomasyon sistemleri avantajlıdır. FMS-TTP-SPE ön hazırlık cihazı kullanılarak sularda çok düşük konsantrasyonlarda tespit edilebilen PAH'ın analiz çalışmalarında kullanılan manuel sistemlerde karşılaşılan hataların ve kayıpların önüne geçilerek daha yüksek konsantrasyonlarda (yüksek ön-deriştirme katsayısı nedeni ile), el değmeden tamamen kapalı bir sistem içerisinde ön hazırlık işlemlerinin yapılabilmesi ve tekrarlanabilirlik çalışmaları için daha güvenilir sonuçlar elde edilmesi hedeflenmiştir.

The text should be written justified and single-spaced. Please see the end of this template file for bibliography format. Use numbers in square brackets [X] to indicate bibliography in the text. Please use high-quality and high-resolution materials to add visuals such as photographs, graphics, pictures, etc. Such materials should be placed centered. Do the numbering (ie. 1, 2 etc.) and naming (ie. Figure, Graph etc.) under the material, Times New Roman-10 point, as shown in the example. Please use a clear notation as "Figure 1" in the text. Please do not use the "Space before/after paragraph" feature before and after the visual material but use a blank line before and after the visual material. Please review the given example.

2. Materyal ve Metot

2.1 Çalışma Alanı

Isparta ili şehir merkezinin 8 km kadar güneybatısındaki volkanik göl olan Gölcük gölünden 2022 yılı Nisan ayı içerisinde tüm göl çevresini kapsayacak şekilde on iki adet yüzeysel su örneği toplanmıştır (**Şekil 1**). Bölgede yaz aylarında araç trafiği yoğunluğu oluşmaktadır. Piknik alanı olarak kullanılması, trafik kaynaklı yakıt ve mangal dumanı kirlilik kaynağı olarak değerlendirildiğinden su örneklerinde PAH bileşiklerine rastlanılabileceği düşünülmüştür.



Şekil 1. Örnekleme alanı Enlem: 37°43'49.11"K ve Boylam: 30°29'40.33"D (Google Earth)

2.2 Göl Suyu Örneklerinin Analize Hazırlanması

Cam örnekleme şişeleri ilk önce sabun ve deiyonize suyla yıkandı daha sonra 40 °C sıcaklığa set edilen etüv de kurutuldu, üç kez yüksek saflıkta hekzan, aseton ve son olarak deiyonize su ile durulandı. Yeni polietilen torbalara alınarak numune alma alanlarına taşındı. Gölcük gölünün tüm alanı on iki noktaya bölündü ve çevresinden 12 adet 1000 mL olacak şekilde örnek analiz için toplandı.

Tablo 1. Kullanılan kimyasal ve cihazlar

Kimyasal/Sarf adı	Saflık Derecesi	Markası
Diklorometan	GC Saflığında	ISOLAB chemicals for GC chromatography (Almanya)
Metanol	GC Saflığında	Sigma Aldrich, puriss, meets analytical specification %99,7 GC (Almanya)
Asetonitril	HPLC Saflığında	for HPLC Loba Chemie)
C18 PAH Kartuşu		FMS Inc PAH 1 g C18 PAH kartuşu
Sodyum Sülfat Kartuş		FMS Fisher Anhydrous Sodyum Sülfat kartuş
Cihaz Adı	Kullanıldığı Analiz	Markası
GC-FID	PAH tayininde kullanılmıştır	Shimadzu GC 2010 Plus
FMS-TTP-SPE	Örneklerin hazırlanmasında kullanılmıştır.	FMS
Etüv	Kurutma işlemi	Nüve NC500 (Ankara, Türkiye)
Ultra saf su cihazı	Analizlerde kullanılmak üzere ihtiyaç duyulan saf su temininde kullanılmıştır.	Millipore Milli-Q (Bedford, MA, ABD)

Göl sularında PAH'ların ekstraksiyonu için FMS-TTP-SPE cihazı kullanılmıştır (Şekil 2). Bu cihaz, paralel bağlı bir sisteme sahip olan aynı anda üç paralel örneğin beraber çalışabilme yeteneğine sahip yeni teknolojik, tamamı kapalı sistemden oluşan bir ön hazırlık sistemidir. FMS cihazı kullanılarak göl sularında PAH'ların konsantrasyonlarının belirlenmesi için geliştirilen ön hazırlık çalışmaları ise şu şekildedir: FMS-TTP-SPE cihazının tüm hatları önce 10 mL metanol ile yıkandı, FMS Inc PAH 1 g C18 PAH kartuşu 10 mL metanol kullanılarak şartlandırıldı. Sistemde kalan metanolü uzaklaştırmak için 10 dakika (dk) boyunca azot gazı kullanıldı ve sonrasında azot gaz valfleri kapatıldı. Gölcük gölünden 1000 mL olarak toplanan her bir örnek 500 mL iki paralel olacak şekilde ayrıldı ve bu şekilde her bir örnek iki paralelli olarak çalışıldı. Her bir paralel örnek, metanol ile şartlandırılan C18 kartuş üzerinden vakum altında 15 mL/dk akış hızı ile

yaklaşık 33 dk olacak şekilde geçirildi. Örnek geçişinden sonra hatlarda kalan numuneyi de temizleyip kartuşa göndermek için hatlar 10 mL saf su ile yıkandı, hatlarda ve kartuş üzerinde kalan su azot gazı ile 10 dk boyunca uzaklaştırıldı ve bu şekilde hem hatların hem de kartuşun kuruması sağlandı. C18 kartuşları hariç tutularak ön hazırlık cihazı sırasıyla 10 mL metanol ve 10 mL diklorometan ile yıkandı, daha sonra C18 PAH kartuşlarından 20 mL diklorometan 2,5 mL dk⁻¹ 'da geçirildi ve sonrasında azot gazı ile sistem ve kartuşlar temizlendi. Tablo 2'de cihaza ait on dört basamaklı metot parametreleri verilmiştir. FMS-TTP-SPE cihazına bağlı olan SuperVap örnekleyici sistemi üzerinde takılı olan Fisher Anhydrous Sodyum Sülfat kartuşlarından Diklorometan içerisinde çözülmüş olarak geçen numuneler cam numune kaplarına toplandı. Diklorometan, azot altında 40 °C sıcaklıkta yaklaşık 50 dk sürede tam kuruluğa kadar uçuruldu (US EPA, 1990). Cam numune kabı içerisine 2 mL asetonitril eklenerek çözünen numuneler viallere alınarak GC-FID cihazında analiz edilmek üzere -18 °C'de saklandı. Örneklerin son hacimleri ACN ile 5 mL olacak şekilde hazırlanmış ve 100 kat konsantre edilmişlerdir [27].

Tablo 2. FMS-TTP-SPE Cihaz metot parametreleri

Numara	Akış (mL/dk)	Hacim (mL)	Zaman (dk)	Komutlar/Yıkama
1	10	10	1	MeOH hatlar
2	5	10	2	MeOH kartuş
3	-	-	10	N ₂ açık
4	-	-	1	N ₂ kapalı
5	15	500	33,3	Vakum pompası açık
6	-	-	1	Vakum pompası kapalı
7	5	10	2	Su hatlar
8	-	-	10	N ₂ açık
9	-	-	1	N ₂ kapalı
10	10	10	1	MeOH hatlar
11	10	10	1	DCM hatlar
12	2,5	20	8	DCM kartuş
13	-	-	10	N ₂ açık
14	-	-	1	N ₂ kapalı



Şekil 2. FMS-TTP-SPE Ön Hazırlık Sistemi

2.3 Kalibrasyon Prosedürleri

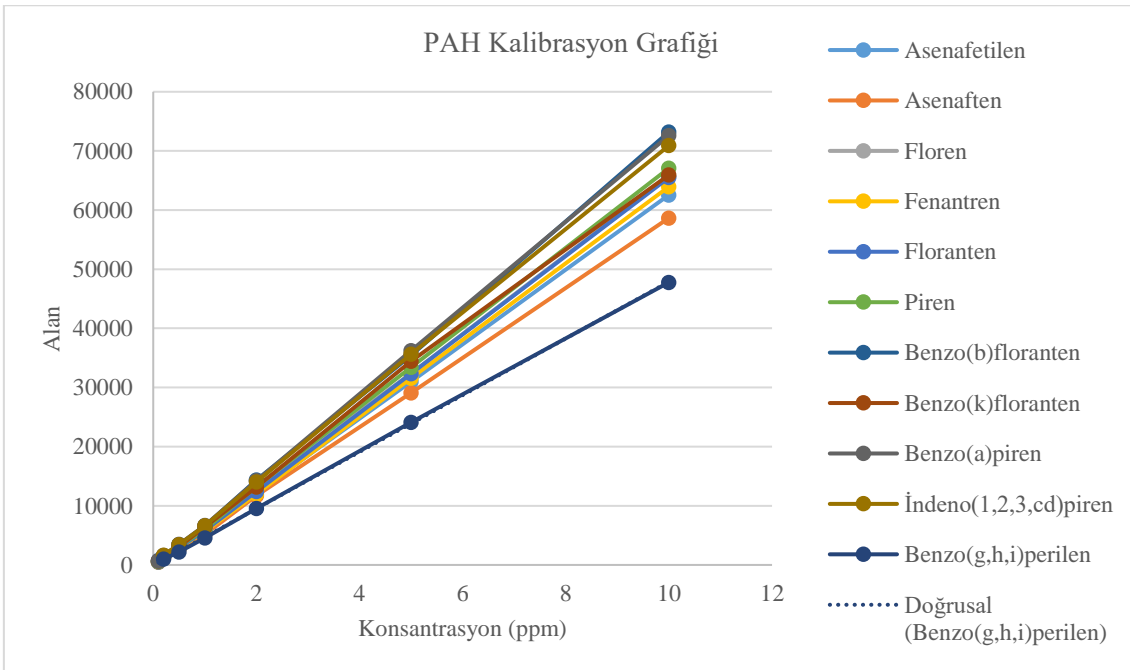
Sertifikalı standart madde olarak temin edilen PAH standartlarından her biri için stok standartlar hazırlandı ve **Tablo 3**'te standartlara ait konsantrasyon değerleri verilmiştir. Hazırlanan stok standart çözeltilerinden 10 mL, 10 mg/L mix (11 adet PAH içeren) standart çözeltisi hazırlandı. 10 mg/L mix standart çözeltisi kullanılarak kalibrasyon grafiği ve GC çalışmaları için 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 5 ve 10 mg/L olacak şekilde 7 farklı konsantrasyonda standart hazırlandı. Elde edilen kalibrasyon grafikleri **Şekil 3**'te gösterilmiştir. Örneklerde düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların bulunma ihtimali göz önünde tutularak üç farklı konsantrasyonda (1, 2 ve 5 mg/L) GC çalışmaları yapılmıştır.

Tablo 3. Stok standart değerleri

Sıra No	Standart adı	Konsantrasyon(mg/L)
1	Asenafetilen	227,70
2	Floranten	320,76
3	Benzo(a)piren	224,73
4	Benzo(k)floranten	269,28
5	Piren	444,50
6	Benzo(b)floranten	305,91
7	Benzo(g,h,i)perilen	270,64
8	Floren	232,65
9	Asenaften	979,08
10	İndeno(1,2,3,cd)piren	212,93
11	Fenantren	308,45

2.3.1 Elde edilen kalibrasyon grafikleri

Hazırlanan stok standartlardan elde edilen 10 mg/L mix kalibrasyon standart çözeltisinden 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 5 ve 10 mg/L olacak şekilde hazırlanan kalibrasyon standartlarının GC-FID ile elde edilen grafik sonuçlarında R^2 değerleri 0,9995 ile 0,9999 aralığında bulunmuştur. Elde edilen veriler **Şekil 3**'de gösterilmiştir.

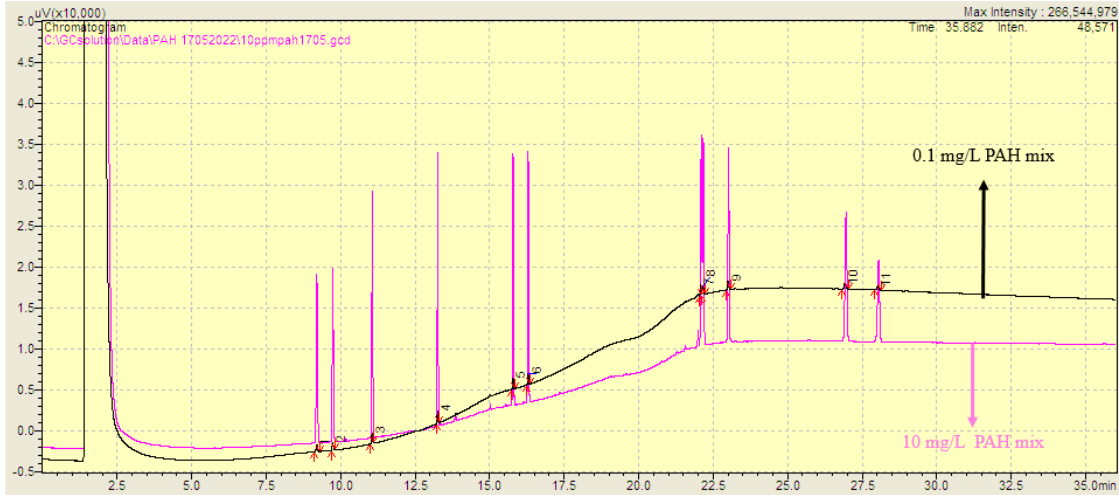


Şekil 3. Kalibrasyon grafikleri

2.4 GC-FID Metodu

Çalışma sırasında kullanılan GC metodu parametreleri şu şekildedir. Cihaz: Shimadzu GC 2010 Plus, Otomatik örnekleyici; AOC-20i / AOC-20s, Kolon; Restek RTX-5ms GC

kapiler kolon (30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm film kalınlığı), Enjeksiyon hacmi; 1 µL, İnlet: 285 °C (split modu, split oranı:2), Dedektör (FID); 330 °C, Kolon akışı: He, 2.0 mL/dk (sabit akış modu), Kolon sıcaklığı: 120 °C, Kolon programı; 120 °C (5 dk), 15 °C/dk ile 170 °C (1 dk), 15 °C/dk ile 250 °C (1 dk), 10 °C/dk ile 280 °C (1 dk), 15 °C/dk ile 300 °C (15 dk), Toplam Analiz süresi: 36 dk olarak belirlenmiştir. Kalibrasyonda kullanılan 0,1 mg/L ve 10 mg/L standart PAH karışımına ait GC kromatogramı Şekil 4'te, kromatogram üzerinde yer alan 11 adet PAH bileşiğine ait alıkonma süreleri ise Tablo 4'te gösterilmiştir. Her bir PAH bileşeninin kromatogramdaki alıkonma süreleri, bileşenlerin her birinin ayrı ayrı analizi sonucunda belirlenmiştir.



Şekil 4. 0.1 ve 10 mg/L derişimlerde 11 adet PAH bileşenine ait örnek GC-FID kromatogramı

Tablo 4. 11 adet PAH bileşenine ait alıkonma süreleri

Pik sırası	Bileşik İsmi	Alıkonma Süresi (dk)
1	Asenafetilen	9,199
2	Asenaften	9,736
3	Floren	11,060
4	Fenantren	13,256
5	Floranten	15,784
6	Piren	16,292
7	Benzo(b)floranten	22,102
8	Benzo(k)floranten	22,168
9	Benzo(a)piren	23,016
10	İndeno(1,2,3,cd)piren	26,959
11	Benzo(g,h,i)perilen	28,049

2.5 Metot Validasyonu

LOD veya Yöntem Algılama Limiti (MDL), "en düşük belirli bir güven düzeyinde metotla tespit edilebilen analitin konsantrasyonu" LOQ veya Kantitatif Limit, "yöntem performansının test edildiği ve veri kalitesinin amaçlanan kullanımı için kabul edilebilir olduğu en düşük konsantrasyon" anlamına gelmektedir. LOD, test numuneleriyle aynı denklemle hesaplanan sonuçlar kullanılarak tüm ölçüm prosedürü boyunca alınmış numunelerin analizine dayanmalıdır. LOD ve LOQ hesaplamaları, kalibrasyon standartlarından en düşük konsantrasyona sahip olan 0,1 mg/L çözeltisinin 7 tekrarlı olarak çalışılması ile elde edilmiştir. Cihaz yanıtının standart sapması ve her çalıştırmada, her PAH'ın kalibrasyon eğrisinin eğimi hesaplanmıştır. LOD ve LOQ daha sonra aşağıdaki denklemler kullanılarak her çalışma için hesaplanmış ve sonuçları Tablo 5'te gösterilmiştir [28].

$$\text{LOD} = 3 \times \sigma \quad (1)$$

$$LOQ = 10 \times \sigma \quad (2)$$

LOD = Tespit Limiti, LOQ = Miktar Tayini Limiti

σ = Standart sapma ($\mu\text{g/L}$); (Std. Sapma)

2.5.1 Geri Kazanım Çalışmaları

Üç farklı göl noktasından 1000 mL olarak alınan üç su örneği birbirleri ile karıştırılarak 3000 ml matriks hazırlandı. Örneklerde PAH konsantrasyonlarının bulunma ihtimali olan düşük, orta ve yüksek konsantrasyonları temsil etmesi amacı ile üç farklı konsantrasyonda geri kazanım çalışmaları hazırlanmıştır. Her bir geri kazanım konsantrasyonu için 7 x 100 mL örnekler alındı, üzerlerine 10 ppm mix PAH standart kullanılarak 200, 400 ve 1000 mikrolitre spike yapıldı. 100 mL örnekler PAH kartuşundan geçirilip, kartuşta biriken PAH 40 mL DCM ile alındıktan sonra 40 °C’de kuruluğa kadar uçuruldu ve son hacimleri ACN ile 2 mL’ye tamamlanmıştır. Son hacimleri 2 ml olacak şekilde asetonitril ile tamamlanan geri kazanım çalışmalarının seyreltme katsayısı sonucuna göre cihaz okuma konsantrasyonları (kons.) 1, 2 ve 5 mg/L olarak hesaplanmıştır. Geri Kazanım (GK) çözeltileri her bir konsantrasyon için yedi tekrarlı olacak şekilde hazırlanmış ve elde edilen veriler **Tablo 6**’ da gösterilmiştir.

Tablo 5. Metot performans parametreleri

PAH	Regrasyon denklemi	R ² değerleri	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Asenafetilen	$y = 6271,6x - 263,72$	0,9999	11,60	38,67
Asenaften	$y = 5883,3x - 224,03$	0,9999	8,46	28,20
Floren	$y = 6574,4x - 211,51$	0,9998	10,52	35,05
Fenantren	$y = 6412,0x - 357,38$	0,9998	9,44	31,47
Floranten	$y = 6571,6x - 381,61$	0,9998	10,37	34,57
Piren	$y = 6726,6x - 214,89$	0,9999	13,69	45,62
Benzo(b)floranten	$y = 7306,0x - 286,02$	0,9997	10,39	34,64
Benzo(k)floranten	$y = 6635,5x + 88,494$	0,9995	11,71	39,04
Benzo(a)piren	$y = 7271,3x - 170,01$	0,9999	10,21	34,02
İndeno(1,2,3,cd)piren	$y = 7105,8x - 94,212$	0,9999	10,60	35,32
Benzo(g,h,i)perilen	$y = 4795,9x - 83,484$	0,9999	6,48	21,60

Tablo 6. GK değerleri (%) ve ortalama kesinlik değerleri (% RSD)

PAH Standart	1 (mg/L) Spike kons / Ölçülen kons	GK±Std. Sapma (N=7)	2 mg/L) Spike kons / Ölçülen kons	GK±Std. Sapma (N=7)	5(mg/L) Spike kons / Ölçülen kons.	GK±Std. Sapma (N=7)	%RSD 2 (mg/L)
Asenafetilen	0,90	89,91±0,02	1,81	90,61±0,05	4,50	90,07±0,11	3,00
Asenaften	0,85	84,87±0,02	1,80	90,24±0,03	4,85	96,96±0,08	1,64
Floren	0,86	85,50±0,01	1,75	87,31±0,10	4,52	90,41±0,14	5,51
Fenantren	0,87	87,12±0,01	1,70	84,85±0,08	4,49	89,77±0,10	4,96
Floranten	0,91	90,61±0,01	1,83	91,48±0,09	4,68	93,59±0,05	5,03
Piren	0,96	96,45±0,04	1,87	93,62±0,15	4,83	96,53±0,16	7,76
Benzo(b)floranten	0,90	89,58±0,01	1,88	94,02±0,06	4,53	90,55±0,16	2,97
Benzo(k)floranten	0,96	95,88±0,01	1,90	94,95±0,10	4,66	93,28±0,13	5,30
Benzo(a)piren	0,89	89,42±0,01	1,85	92,50±0,09	4,63	92,51±0,22	4,98
İndeno(1,2,3,cd)piren	0,90	89,89±0,01	1,73	86,62±0,14	4,51	90,24±0,11	7,97
Benzo(g,h,i)perilen	0,90	89,51±0,01	1,89	94,26±0,04	4,77	95,45±0,09	2,01

3. Bulgular

Gölcük gölünün tüm alanını kapsayacak şekilde toplanan göl suyu örneklerinde yeni bir teknik olan ön hazırlık sistemi kullanılarak Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların konsantrasyon belirleme çalışmaları yapıldı. Örnek hazırlama tekniği ise Geri Kazanım çalışmaları ile desteklendi. Çalışılmasına karar verilen kromatografik ve ön hazırlık metotları örneklere uygulandı, ancak on iki adet göl suyu örneğinde de PAH konsantrasyonları tayin limit sınırının altında tespit edildi. Daha önceden de bahsedildiği üzere, tayin edilebilir seviyelerde PAH bileşiklerine rastlanılamamasının en önemli nedenini PAH bileşiklerinin suda çok az düzeylerde çözünmelerinden kaynaklanmıştır. Bu sonuca göre, Gölcük gölü sularının, potansiyel kaynaklar olarak gösterilen trafik ve mangallı piknik aktiviteleri nedenleri ile PAH'lar bakımından kirletilmediğidir. Ancak, lipofilik özellikleri nedeni ile su örneklerinde tespit edilemeyen PAH bileşiklerinin göl dip çamurlarında birikmiş olacağı tahmin edilmektedir.

4. Sonuç ve Yorum

PAH bileşikleri inorganik kirleticilerin aksine genellikle gruplar şeklinde atmosfere salınmaktadırlar ve herhangi bir kaynaktan tek başına veya birkaç tane PAH bileşiği salınmamaktadır. Kaynak çalışmaları yapıldığında, çalışma alanı içerisinde hiçbir zaman yalnızca tek PAH bileşiğine rastlanılamaz, genelde PAH bileşik gruplarına rastlanılabilir. Standart ve gerçek çözümlerde ikinci dereceden kalibrasyon stratejisi ile 11 PAH'ın eş zamanlı tespiti yapıldı. PAH'ın belirlenmesi için çok değişkenli çözünürlük yöntemleri olarak FMS-TTP-SPE cihazı kullanıldı. PAH'ın standart karışım numuneleri 0,1–10,00 mg/L konsantrasyon aralığında hazırlandı ve ardından numuneler GC-FID cihazı ile analiz edildi. İlk harici kalibrasyon eğrileri, standart karışım kullanılarak oluşturuldu. Kör olarak hazırlanan çözeltilerden elde edilen pik alanları örnek sonuçlarından elde edilen konsantrasyon değerlerinden (pik alanları) çıkartılmıştır. Daha sonra önerilen yöntem göl suyu örneğinde 11 adet PAH bileşeninin eş zamanlı olarak ölçümü için uygulandı. Numune hazırlama yöntemi olarak analitlerin ekstraksiyonunda ve su numunelerinde PAH'ın belirlenmesinde FMS-TTP-SPE cihazının kullanılması, etkileşimi ortadan kaldırmak/azaltmak için ideal bir yaklaşım olduğu belirlendi. Geri kazanım çalışmaları ile elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu kullanılan ön hazırlık tekniğinin validasyon çalışmaları sırasında başarılı sonuçlar ortaya koyduğu gözlemlendi. Klasik yöntemlere nazaran daha az solvent kullanılması, tekrarlanabilirlik sonuçlarının doğruluğu ile sulara çok düşük seviyelerde çözünen PAH konsantrasyonlarının tespit edilmesinde başarılı bir yöntem olabileceği gözlemlendi. Benzer çalışmalarda en az 250 veya 500 mL örneğin analize hazırlanması ile uyum içerisinde bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Ön hazırlık sisteminin kapalı bir yapıda olması ve her bir numuneye aynı standartlarda işlem uygulaması ile aynı anda üç numune çalışılabilmesi diğer yöntemlere nazaran bir kazanım olarak tespit edilmiştir. Bir sonraki çalışmada Gölcük gölünde bütçeli bir proje ile sediment ve su örneklerinin yıl bazlı izlenerek PAH konsantrasyonlarının belirlenmesi hedeflenmektedir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı

M. Kılıç: Araştırma, Orijinal Taslak Yazımı, İnceleme ve Düzenleme, Doğrulama

Ö. Dilek: Araştırma, Orijinal Taslak Yazımı, İnceleme ve Düzenleme, Doğrulama

Çatışma Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çatışma beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı ve/veya Aydınlatılmış Onam Bilgileri

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onayı ve/veya aydınlatılmış onam bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- [1] European Environment Agency, Environment and health, [Online]. Available: https://www.eea.europa.eu/publications/eea_report_2005_10
- [2] L. H. Keith, "The Source of U.S. EPA's Sixteen PAH Priority Pollutants," *Polycycl. Aromat. Compd.*, 35, 2015.
- [3] G. L. Brun, O. M. C. Vaidya, M. G. Leger, "Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons Atlantic Canada: geographic and temporal distributions and trends 1980–2001," *Environ. Sci. Technol.*, 38, 1941–1948, 2004
- [4] E. Manoli, C. Samara, I. Konstantinou, T. Albanis, "Polycyclic aromatic hydrocarbons in the bulk precipitation and surface waters of Northern Greece," *Chemosphere*, 41, 1845–1855, 2000.
- [5] D. Golomb, D. Ryan, J. Underhill, T. Wade, S. Zemba, "Atmospheric deposition of toxics onto Massachusetts Bay—II. Polycyclic aromatic hydrocarbons. Polycyclic aromatic hydrocarbons," *Atmos. Environ.*, 31, 1361–1368, 1997.
- [6] United States Environmental Protection Agency, Priority Pollutant List, [Online]. Available: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/priority-pollutant-list-epa.pdf>
- [7] T. M. Gutierrez-Valencia, M. P. Garcia de Llasera, "On-line MSPD-SPE-HPLC/FLD analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in bovine tissues," *Food Chem.*, 223, 82–88, 2017.
- [8] D. R. D. Molle, C. Abballe, F. M. L. Gomes, R. P. Z. Furlani, S. A. V. Tfouni, "Polycyclic aromatic hydrocarbons in canola, sunflower and corn oils and estimated daily intake," *Food Control*, 81, 96–100, 2017.
- [9] M. Pogorzelec, K. Piekarska, "Application of semipermeable membrane devices for long-term monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons at various stages of drinking water treatment," *Sci. Total Environ.*, 631-632, 1431–1439, 2018.
- [10] C. Cavaliere, C. M. Montone, A. L. Capriotti, G. L. Barbera, S. Piovesana, M. Rotatori, F. Valentino, A. Lagana, "Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from polyhydroxyalkanoates before gas chromatography/mass spectrometry analysis," *Talanta*, 188, 671–675, 2018.
- [11] [S. Ncube, L. Madikizela, E. Cukrowska, L. Chimuka, "Recent advances in the adsorbents for isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from environmental sample solutions," *TrAC Trends in Anal. Chem.*, 99, 101–116, 2018.
- [12] [Y. Chen, B. Lai, Y. Wei, Q. Ma, H. Liang, H. Yang, R. Ye, M. Zeng, H. Wang, Y. Wu, X. Liu, L. Guo, H. Tang, "Polluting characteristics, sources, cancer risk, and cellular toxicity of PAHs bound in atmospheric particulates sampled from an economic transformation demonstration area of Dongguan in the Pearl River Delta, China," *Environ. Res.*, 215(2), 2022.
- [13] S-C. C. Lung, C-H. Liu, "Fast analysis of 29 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and nitro-PAHs with ultra-high performance liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometry," *Sci. Rep.*, 5, 2015.
- [14] M. N. Yazdi, Y. Yamini, H. Asiabi, "Multiwall carbon nanotube- zirconium oxide nanocomposite hollow fiber solid phase microextraction for determination of polyaromatic hydrocarbons in water, coffee and tea samples," *J. Chromatogr. A*, 1554, 8–15, 2018.
- [15] G. M. Chapman, R. Bravo, R.D. Stanelle, C.H. Watson, L. Valentin-Blasini, "Sensitive and selective gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the detection of nitrobenzene in tobacco smoke," *J. Chromatogr. A*, 1565, 124–129, 2018.
- [16] O. Geiss, C. Senaldi, I. Bianchi, A. Lucena, S. Tirendi, J. Barrero-Moreno, "A fast and selective method for the determination of 8 carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in rubber and plastic materials," *J. Chromatogr. A*, 1566, 13–22, 2018.
- [17] G. Trouvé, C. Ngo, W. Almouallem, C. Joyeux, S. Dorge, J. Michel & D. Le Nouen, "Development of a Liquid/Liquid Extraction Method and GC/MS Analysis Dedicated to the Quantitative Analysis of PAHs and O-PACs in Groundwater from Contaminated Sites and Soils," *Polycycl. Aromat. Comp.*, 42(7), 4000–4018, 2022.
- [18] H. Vistnes, N. A. Sossalla, A. Røsvik, S. V. Gonzalez, J. Zhang, T. Meyn and A. G. Asimakopoulos, "The Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) with HPLC-DAD-FLD and GC-MS Techniques in the Dissolved and Particulate Phase of Road-Tunnel Wash Water: A Case Study for Cross-Array Comparisons and Applications," *toxics*, 10, 399, 2022.
- [19] Z. Li, M. Yang, X. Shen, H. Zhu and B. Li, "The Preparation of Covalent Bonding COF-TpBD Coating in Arrayed Nanopores of Stainless Steel Fiber for Solid-Phase Microextraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 20, 1393, 2023.
- [20] N. Manousi, G. A. Zachariadis, "Recent advances in the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental samples," *Molecules*, 25, 9, 2020.

- [21] C. L. Arthur, J. Pawliszyn, "Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers," *Anal. Chem.*, 62 (19), 2145-2148, 1990.
- [22] J. Płotka-Wasyłka, K. Owczarek, J. Namieśnik, "Modern solutions in the field of microextraction using liquid as a medium of extraction," *TrAC Trends Anal. Chem.*, 85, 46–64, 2016.
- [23] M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani, "Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction," *J. Chromatogr. A*, 1116, 1-2, 1-9, 2006.
- [24] A. Sarafraz-Yazdi ve A. Amiri, "Liquid-phase microextraction," *TrAC Trends Anal. Chem.*, 29, 1-14, 2010.
- [25] S. Tang, G. H. Chia, Y. Chang, H. K. Lee, "Automated dispersive solid-phase extraction using dissolvable Fe₃O₄ -layered double hydroxide core-shell microspheres as sorbent," *Anal. Chem.* 86 (22), 11070–11076, 2014.
- [26] D. A. Wells, T. L. Lloyd, "Chapter 24 automation of sample preparation for pharmaceutical and clinical analysis," *Comprehensive Analytical Chemistry*, 37, 837–868, 2002.
- [27] Application note, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Drinking Water by Solid Phase Extraction (SPE) with EPA 550.1, [Online]. Available: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/priority-pollutant-list-epa.pdf> <https://fms-inc.com/wp-content/uploads/2020/05/EPA-550.1-Polycyclic-Aromatic-Hydrocarbons-in-Drinking-Water-by-TurboTrace.pdf>
- [28] S. Kılıç, S. Yenisoy-Karakaş, M. Kılıç, "Metal Contamination in Fruit Juices in Turkey: Method Validation and Uncertainty Budget," *Food Anal. Methods*, 8, 2487–2495, 2015.

Synthesis and Analysis of Some Azo Dyes Obtained from Benzothiazole by Density Functional Theory

Nesrin Şener^{*1}, M. Serdar Çavuş²

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey
<https://orcid.org/0000-0001-5370-6048>

²Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey
<https://orcid.org/0000-0002-3721-0883>

*corresponding author: nsener@kastamonu.edu.tr

(Alınış / Received: 17.12.2022, Kabul / Accepted: 12.05.2023, Yayınlanma / Published: 22.06.2023)

Abstract: In this study, two different azo dyes were synthesized from the reaction of 2-amino benzothiazole derivative amine and heterocyclic coupling compounds. The structures of the synthesized compounds were characterized such as by ¹H-NMR and FT-IR spectroscopic methods. Four different possible tautomer structures are contemplated for each of the compounds. Considering the spectroscopic results analysis, the molecular structure of each tautomer was evaluated. UV-Vis. absorption properties of the obtained azo dyestuff compounds were studied using six different solvents. On the other hand, the electronic data of the spectroscopic and absorption properties of the tautomeric structures of the final products were examined theoretically at the B3LYP/6-311++G(2d,2p) theory level with the DFT approach. The experimental and theoretical results obtained in the study were compared with each other and the results were discussed.

Key words: Benzothiazole, DFT, heterocyclic, azo dyes.

Benzotiyazolden Elde Edilen Bazı Azo Boyarmaddelerin Sentezi ve Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi ile Analizi

Öz: Yapılan bu çalışmada, 2-amino benzotiyazol türevi amin bileşikleri ve heterosiklik kenetleme bileşiğinin reaksiyonundan iki farklı azo boyarmadde sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin molekül yapıları, ¹H-NMR ve FT-IR gibi spektroskopik yöntemlerle karakter analizine tabi tutulmuştur. Bileşiklerin her biri için muhtemel olan dört farklı tautomer yapı öngörülmüştür. Spektroskopik sonuç analizleri dikkate alınarak, herbir tautomer molekül yapısı değerlendirilmiştir. Elde edilen azo boyarmadde bileşiklerinin UV-Vis. absorpsiyon özellikleri altı farklı çözücü kullanılarak çalışılmıştır. Öte yandan elde edilen nihai ürünlerin tautomerik yapılarının spektroskopik ve absorpsiyon özelliklerinin elektronik verileri DFT yaklaşımıyla B3LYP/6-311++G(2d,2p) teori seviyesinde teorik olarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen deneysel ve teorik sonuçlar birbirleri ile karşılaştırılmış ve sonuçlar tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Benzotiyazol, DFT, heterosiklik, azo boyarmadde.

1. Introduction

Aromatic and heteroaromatic dyes are popular compounds that are widely used not only in textiles but also in other industrial fields [1-3]. Azo dyes containing aromatic moieties linked by azo chromophores are widely used in textile coloring such as polyester, nylon, acetate, cellulose and acrylic [4,5]. Azo dyes also having aromatic heterocycles are very

important because they have shown brilliant color and chromophoric strength, excellent light, color, washing and sublimation fastness as well as high level-dyeing property in the dyes industry. One of them, benzothiazole derivative azo dyes, is important in terms of being both red colored disperse dyes and cationic dyes. [6,7]. Benzothiazole derivative azo dyes compounds have been synthesized many times and the applications of these compounds in many different fields have been investigated [8]. It has also found a place in important application areas outside the textile field such as pharmacology [9], non-linear optical systems [10], anticancer activities [11] and antimicrobial activities [12].

Tautomerism, which has been known for over a century in azo dyes, is also an important issue in benzothiazole derivative azo dyes [8]. In particular, it was reported that Azo-hydrazone tautomerism is theoretically and practically attractive, and the two tautomers are from different cuisines [13]. It is understood from the literature that the comparison of experimental and theoretical results is very useful for evaluations in application areas [14,15]. For this reason, the synthesis of azo dyes compounds containing benzothiazole group and the theoretical calculations of these compounds by DFT method have been the subject of many studies in recent years [16-22].

Considering the diversity of usage areas as well as the interest on it, in this study, two different azo dyes were synthesized from the reaction of 2-amino benzothiazole derivative amine and heterocyclic coupling compounds. The structures of the synthesized compounds were characterized by ¹H-NMR and FT-IR spectroscopic methods. The absorption properties of the compounds were also investigated using six different solvents. Moreover, the theoretical spectroscopy calculations of the compounds were performed using the DFT method and the results were compared with the experimental results. The possible tautomer structures of the compounds and their relations with the electronic parameters obtained from the calculations based on these structures were investigated. The conformations and spectral properties of the tautomer structures were also examined.

2. Material and Method

The chemicals and solvents (spectroscopic grade) used in this study were obtained from Aldrich (USA) and Merck Company (Germany) and were used without any purification. Melting points were recorded in the Electrothermal SMP30 device. Infrared spectra were recorded on the Bruker Alpha FTIR instrument. ¹H-NMR spectra were taken on Bruker (Germany) Spectrospin Avance DPX 400 Ultra-Shield spectrometer at room temperature by using tetramethylsilane (TMS) as the internal standard.

Compound 4-imino-3,4-dihydro-2H-pyrimido[2,1-b][1,3]benzothiazole-2-one was synthesized according to the literature [23].

2.1. Synthesis of (E)-4-imino-3-((6-methoxybenzo[d]thiazol-2-yl)diazanyl)-3,4-dihydro-2H-benzo[4,5]thiazolo[3,2-a]pyrimidin-2-one

2-Amino-6-methoxybenzothiazole compound (0.249 g and 1.38 mmol) was dissolved in 5 mL of acetic acid. NaNO₂ (0.095 g and 1.38 mmol) were dissolved in a minimum amount of H₂SO₄ by heating at 70 °C and added dropwise in an amine solution cooled to 0-5 °C. After 2 hours, the diazonium salt obtained from this solution was added to the 4-imino-3,4-dihydro-2H-pyrimido[2,1-b][1,3]benzothiazole-2-one (0.3 g and 1.38 mmol) in 10 mL of pyridine. The mixture was reacted at 0-5 °C for 2 hours. At the end of the reaction, it was precipitated by the addition of dilute sodium acetate. The resulting solid was filtered and dried. The dried solid was crystallized from a mixture of DMF/water (1:10). The reaction route is available in **Figure 1**.

This compound has been previously synthesized [24] in the literature and has been resynthesized with some solvent changes.

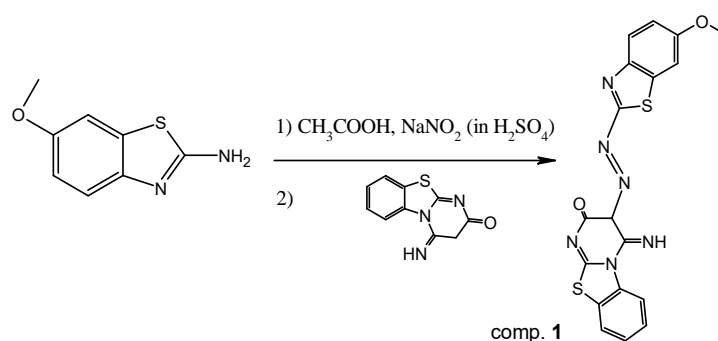


Figure 1. The reaction route of compound 1.

2.2. Synthesis of (*E*)-4-imino-3-((5-(methylthio)-1H-1,2,4-triazol-3-yl)diazenyl)-3,4-dihydro-2H-benzo[4,5]thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-2-one

3-Amino-5-methylthio-1H-1,2,4-triazol compound (0.179 g and 1.38 mmol) was dissolved in 10 mL acetic acid and 5 mL of HCl. NaNO₂ (0.095 g and 1.38 mmol) were dissolved in a minimum amount of H₂O and added dropwise in an amine solution cooled to 0-5 °C. After 2 hours, the diazonium salt obtained from this solution was added to the 4-imino-3,4-dihydro-2H-pyrimido[2,1-*b*][1,3]benzothiazole-2-one (0.3 g and 1.38 mmol) in 10 mL of pyridine. The mixture was reacted at 0-5 °C for 2 hours. At the end of the reaction, it was precipitated by the addition of dilute sodium acetate. The resulting solid was filtered and dried. The dried solid was crystallized from a mixture of DMF/Water (1:10). The reaction route is available in **Figure 2**. Yield 68%, mp: 290 °C, **ATR-FTIR (cm⁻¹)** ν_{\max} : 3346.99 (-O-H stretching vibration), 3167.30 (=N-H bending vibration), 3058.36 (aromatic C-H stretching vibration), 2920.87, 2851.68 (aliphatic C-H stretching vibration), 1637.98 (C=C stretching vibration), 1584.16 (C=N stretching vibration), 747.68 (C-S-C stretching vibration). **¹H-NMR (δ , ppm, DMSO-*d*₆)**: 2.75 (s, 3H -SCH₃), 7.34-8.08 (m, 4H aromatic CH), 8.82-9.16 (b, 1H -NH), 9.68 (s, 1H -OH), 12.45 (s, 1H =NH).

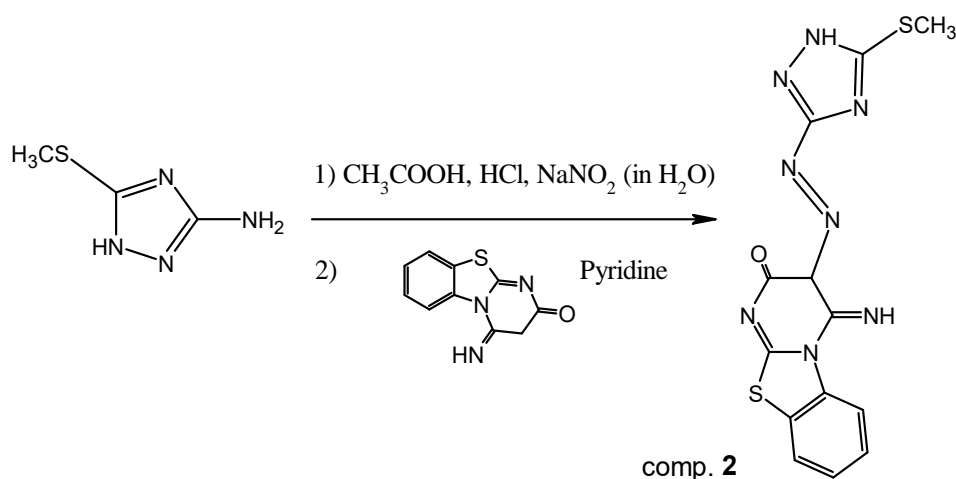


Figure 2. The reaction route of compound 2.

2.3. UV-Vis. Absorption Study

The compounds synthesized in the UV-Vis absorption study were made using solutions prepared in six different solvents (Dimethylsulfoxide, *N,N*-Dimethylformamide, acetonitrile, methanol, chloroform and acetic acid) in the range of 300-700 nm at 10^{-4} - 10^{-6} M concentration. The maximum absorbance values obtained for the two synthesized compounds were evaluated depending on the solvent change. The graphs obtained for compound 1 and compound 2 are shown in **Figure 3**.

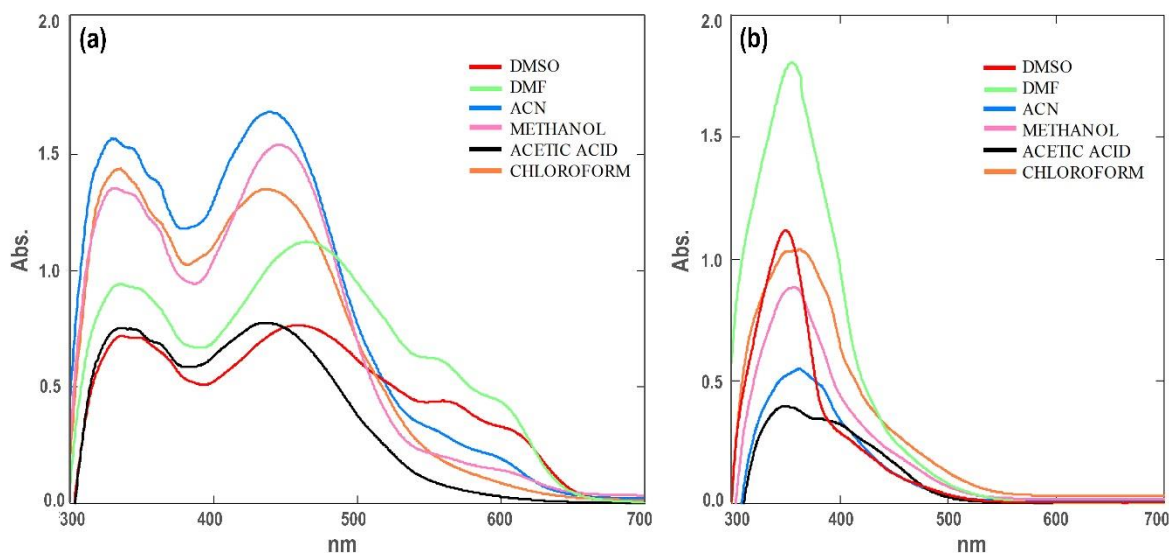


Figure 3. Absorption plots for compound 1 (a) and compound 2 (b) in different solvents.

2.4. Computational procedure

DFT [24, 25] calculations of the study were performed using Gaussian 09 software [26], with a basis set of 6-311++G(2d,2p) on the Becke 3-Parameter of Lee-Yang Parr (B3LYP) functional. The IR calculations were completed successfully without any imaginary frequency mode performed in the gas phase and other calculation processes were started by checking that the compounds were optimized to the ground state energies corresponding to the minimum energy point on the potential energy surface. The frontier molecular orbital (FMO) energy eigenvalues of the compounds and global chemical reactivity parameters such as HOMO-LUMO band gap, chemical hardness, electronegativity, electrophilic index, nucleophilic index, electron donating and electron accepting powers were also obtained from the gas phase calculations at the same level of theory. QTAIM approach [27, 28] was used to analyze the changes of electron densities at bond critical points and ring critical points in tautomer structures. IRI [29] calculations were also performed to reveal the intramolecular interactions and the electron density of the bonds. Multiwfn software [30] was used for QTAIM and IRI analysis and data visualization.

Spectral calculations were also performed in the same solvent phases in accordance with the experiments at B3LYP/6-311++G(2d,2p) level of theory. ^1H NMR calculations were carried out in dimethyl sulfoxide (DMSO) phase with the solvent effect approach of the conductor-like polarizable continuum model (CPCM) using Gauge-independent atomic orbital (GIAO) method. The ^1H -NMR spectrum of tetramethylsilane (TMS) was calculated as 31.8149 ppm using the same level of theory, and the relative chemical shift values were obtained by subtracting the calculated absolute chemical shielding of TMS.

Time dependent DFT (TD-DFT) was used to calculate vertical excitation energies. UV spectral calculations were also performed at the same level, using the Self-Coherent Reaction Field (SCRf) method and CPCM approach, in accordance with the experiments,

in acetic acid, acetonitrile, dimethylformamide (DMF), dimethyl sulfoxide (DMSO), chloroform and methanol phases.

3. Results

Compound **1** was synthesized according to the literature [31] and the properties of the compound were found to be compatible with the literature. According to the $^1\text{H-NMR}$ analysis results of compound **2**, the peak belonging to the aliphatic group $-\text{SCH}_3$ protons in the structure is seen at 2.75 ppm. Aromatic protons in the structure are seen in the range of 7.34-8.08 ppm. While the peaks of two different $-\text{NH}$ proton is widely seen in the range of 8.82-9.16 ppm, the peak of the $-\text{OH}$ proton is observed at 9.68 ppm. Finally, the peak of the $=\text{NH}$ proton is seen at 12.45 ppm. Integration rates of protons are compatible with the structure.

The maximum absorption results obtained compounds are shown in **Table 1**.

Table 1. The maximum absorption results of compounds $\lambda(\text{nm})$

Compound	DMSO	DMF	ACN	Methanol	Acetic Acid	Chloroform
1	334, 349s, 458, 560s	334, 349s, 468, 555s	329, 342s, 360s, 440	330, 347s, 359s, 447	333, 345s, 363s, 437	335, 348s, 360s, 438
2	351, 404s	356	363, 383s	356, 403s	350, 390s	361, 349s, 388s

s: shoulder

For compound **1**, there appear to be two different maximum absorption points in all solvents in general. In addition, shouldering is observed at short and long wavelengths in all solvents except the solution of compound **2** in DMF. It is thus understood that the compounds have more than one tautomeric form in these solvents. It is generally observed that the maximum absorption points increase with the increase of the dielectric constant of the solvents. It is thought that the energy required for electronic transitions decreases with the increase in solvent polarity, and as a result, the absorbance value increases. For compound **2**, there is no such linear increase.

When the spectroscopic results are examined, it is observed that the solid state of the molecules and the states in the solution are different. For this reason, the structure is discussed over the different tautomeric forms of the molecules. Possible tautomeric forms of the structures of the compounds are given in **Figure 4** and **Figure 5**. When the spectroscopic analysis results are evaluated; Finding $-\text{C}=\text{O}$ and $-\text{NH}_2$ stretching vibrations in the FT-IR and $^1\text{H-NMR}$ results [24] for compound **1** is thought to be in the **1Ta** tautomeric form of the structure in solid and solvent. For compound **2**, $-\text{OH}$ and $-\text{NH}$ stretching vibrations are found in the FT-IR and $^1\text{H-NMR}$ results, and the state of the structure in solid and solvent is considered to be in the **2Tb** tautomeric form. The regression analysis performed on the experimental data and the calculation results revealed that the results were compatible with each other. Such that, as a result of the regression analysis of the FT-IR data of compound **1** and its tautomeric form **1Ta**, $R^2 = 0.9932$ was calculated. Likewise, regression analysis for compound **2** and tautomeric form **2Tb** gave the result $R^2 = 0.9974$.

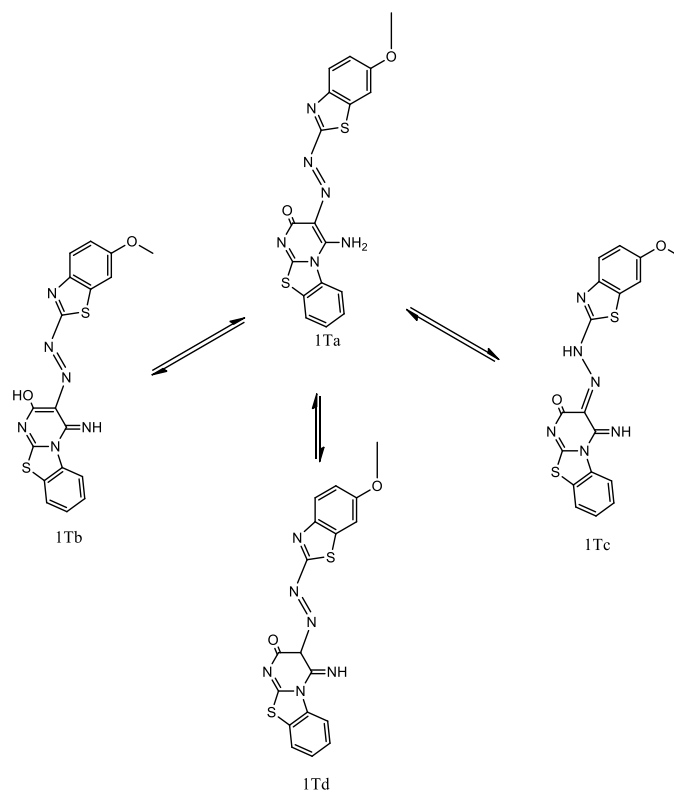


Figure 4. Possible tautomeric structures of compound **1**.

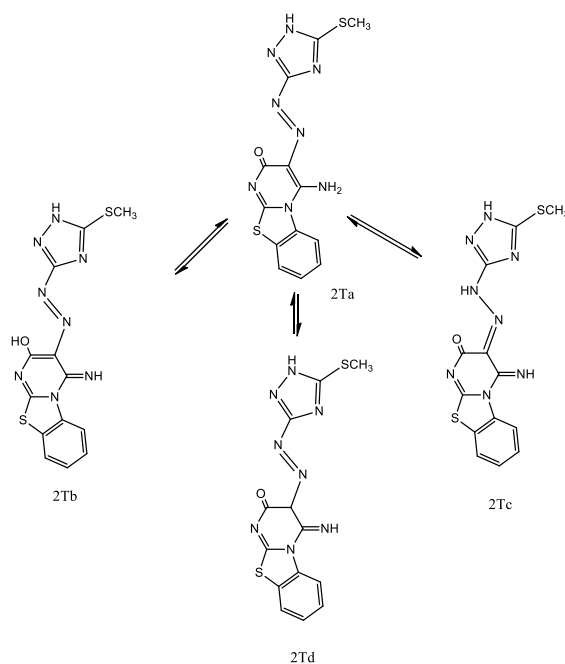
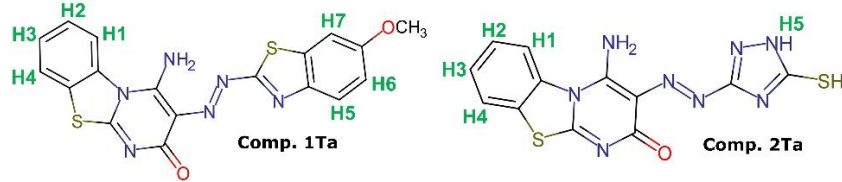


Figure 5. Possible tautomeric structures of compound **2**.

The calculated $^1\text{H-NMR}$ and IR data of the predicted tautomer forms of the compounds are given in **Table 2** and **Table 3**, respectively.

Table 2. Calculated ¹H-NMR data of the tautomers (ppm).


Isomer	H1	H2	H3	H4	NH2	NH	OH	=N-NH	Pyr. H	H5	H6	H7	CH3
1Ta	8.37	8.0 3	7.9 5	8.1 3	7.81, 5.59	-	-	-	-	8.23	7.4 1	7.6 8	4.25 - 3.96
1Tb	10.1 4	8.0 2	7.9 5	8.1 8	-	9.75	16.0 2	-	-	8.17	7.4 0	7.6 6	4.26 - 3.96
1Tc	9.84	7.9 2	7.8 4	8.0 4	-	10.3 2	-	15.7 1	-	8.04	7.3 9	7.6 7	4.24 - 3.93
1Td	9.17	7.9 3	7.8 4	8.0 5	-	10.1 2	-	-	5.59	8.48	7.5 4	7.7 3	4.29 - 4.01
2Ta	8.29	7.9 8	7.9 2	8.1 0	12.78, 6.72	-	-	-	-	10.0 1	-	-	3.09 , 2.47
2Tb	10.2 8	8.0 1	7.9 7	8.2 0	-	11.3 0	9.83	-	-	10.0 0	-	-	3.09 - 2.48
2Tc	9.85	7.9 1	7.8 5	8.0 2	-	10.1 9	-	15.5 2	-	9.79	-	-	3.08 - 2.48
2Td	9.08	7.8 9	7.8 4	8.0 3	-	9.32	-	-	8.09	10.3 2	-	-	3.14 - 2.52

Pyr. H: Pyrimidone H.

Table 3. Calculated IR data of the tautomers (cm⁻¹).

Isomer	NH2	NH	Tria. NH	=N-NH	OH	Ar.H	S/O-CH ₃	C=O	C=C	C=N	CSC
1Ta	3639a, 3520s	-	-	-	-	3220-3206	3142- 3016	1752	1637, 1622	1556	844, 732
1Tb	-	3512	-	-	2933	32611-319	3143-3017	-	1639, 1624	1566, 1537	848, 735
1Tc	-	3508	-	3236	-	3221-3193	3143-3015	1682	1640, 1624	1599, 1559	837, 742

1Td	-	3497	-	-	-	3253-3194	3146-3020	1781	1639, 1624	1589, 1582	847, 730
2Ta	3651a, 3218s	-	3651	-	-	3206-3195	3166-3069	1758	1622, 1607	1661	732
2Tb	-	3465	3653	-	3554	3259-3193	3169-3070	-	1624, 1612	1558	738
2Tc	-	3495	3664	3268	-	3262-3192	3170-3071	1659	1624, 1618	1557, 1528	735
2Td	-	3537	3645	-	-	3253-3193	3170-3071	1786	1624, 1618	1587, 1437	721

Tria: Triazol, Ar.H: Aromatic H, a: Asymmetric stretching, s: Symetric stretching

3.1. DFT analysis

The compounds were handled in two groups, the first group tautomers **1T(a-d)** and the second group tautomers **2T(a-d)**, and were examined both among themselves and mutually. Some global reactivity parameters calculated using FMOs are given in **Table 4**. The ability of a molecule to interact with the surrounding environment is related to its total dipole moment, and the calculated dipole moments for tautomers **1Ta** and **2Ta** are approximately 1.5-2 times greater than for other tautomers. These data indicate that tautomers **1Ta** and **2Ta** may show higher reactivity to interact with the surrounding environment. On the other hand, E_g is a crude but useful parameter for characterizing the chemical reactivity and kinetic stability of a molecule. It can be said that due to the highest E_g value of **1Td** and **2Td** in two groups of tautomer compounds, their reactivity is weaker and their kinetic stability is higher than other tautomers (see **Figure 6** for compound **1Ta** and **1Tb**). In this context, it is generally expected that the first group compounds will be more reactive than the second group compounds. In addition, while the HOMO energies of the first group tautomers were lower, the LUMO energies were calculated higher. A higher HOMO energy of a compound is directly related to its nucleophilic property, and a lower LUMO energy is related to its electrophilic behavior. Thus, in general, first group tautomers are expected to be more electrophilic than second group tautomers. The calculated electrophilic indices of the compounds also confirm such an expectation. The calculated ω values of the first group of tautomers ranged from 6.224 to 7.253 eV, while that of the second group of tautomers was calculated between 5.182-5.882 eV (see **Table 4**). In general, similar results were obtained for the nucleophilic indices of the compounds. In addition, both electron accepting and electron donating power values of the first group tautomers were higher than those of the second group. The polarizability of the first group tautomers was also calculated higher than the second group (in the range of 361,459-422.106 a.u for the first group, in the range of 276,850-310,863 a.u for the second group). The electronic data support the prediction that, overall for all tautomers, 2-amino-6-methoxy benzothiazole attached to pyrimidine makes the compounds more reactive than 3-amino-5-metil-tiyo-1H-1,3,4-triazol.

Table 4. Calculated electronic parameters of the compounds.

Isome r	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	E_g (eV)	η (eV)	χ (eV)	ω (eV)	ϵ (eV)	α (au)	μ Debye	ω^+ (eV)	ω^- (eV)
1Ta	-5.843	-2.825	3.01 8	1.50 9	4.33 4	6.22 4	3.65 2	405.36 6	11.74 4	1.32 2	5.65 6
1Tb	-5.778	-3.076	2.70 2	1.35 1	4.42 7	7.25 3	3.71 6	422.10 6	4.787	1.75 1	6.17 8

1Tc	-5.953	-3.105	2.84 8	1.42 4	4.52 9	7.20 2	3.54 2	392.75 6	5.520	1.69 3	6.22 1
1Td	-6.381	-2.955	3.42 6	1.71 3	4.66 8	6.35 9	3.11 4	361.45 9	5.465	1.27 4	5.94 2
2Ta	-6.099	-2.533	3.56 6	1.78 3	4.31 6	5.22 3	3.39 6	302.65 8	9.875	0.89 9	5.21 5
2Tb	-5.958	-2.630	3.32 9	1.66 4	4.29 4	5.54 0	3.53 6	310.86 3	2.200	1.03 9	5.33 3
2Tc	-6.221	-2.779	3.44 3	1.72 1	4.50 0	5.88 2	3.27 4	300.14 5	4.827	1.12 1	5.62 1
2Td	-6.541	-2.552	3.98 9	1.99 5	4.54 7	5.18 2	2.95 3	276.85 0	4.875	0.81 6	5.36 3

E_g : $E_{LUMO} - E_{HOMO}$, η : Chemical Hardness, χ : Electronegativity, ω : Electrophilic index, ϵ : Nucleophilic index, α : Polarizability, μ : Dipole moment, ω^+ : electroaccepting power, ω^- : electrodonating power

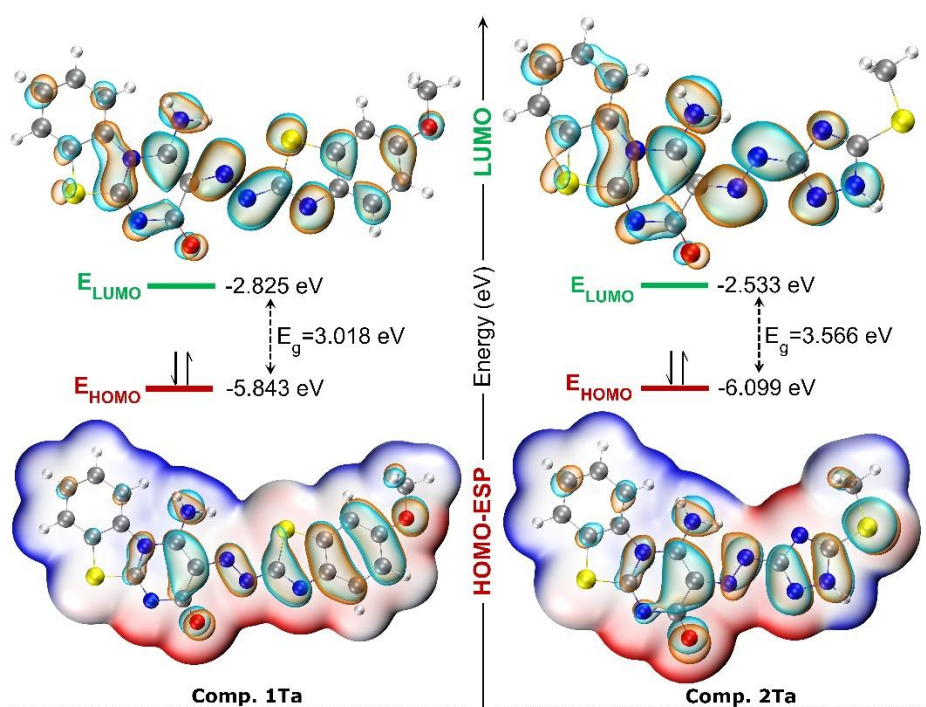


Figure 6. ESP-HOMO and LUMO surface of the compounds **1** and **2**.

As a result of tautomerization, intramolecular interactions and hydrogen bonds are formed. In **Figure 7**, IRI surfaces showing intramolecular interactions of tautomer **1Ta** are given. In addition, QTAIM calculations give charge densities in RCPs and BCPs (see **Figure 8**). IRI surfaces can also be used to visualize interatomic bond electron densities. As seen in **Figure 7**, N=N bond (B9, π -bond) and C-C (B6, σ -bond) had distinctly different surfaces in terms of electron density (darker red indicates higher electron density). It was observed that NH₂ and NH structures on the pyrimidine ring of tautomers make strong intramolecular hydrogen bonds.

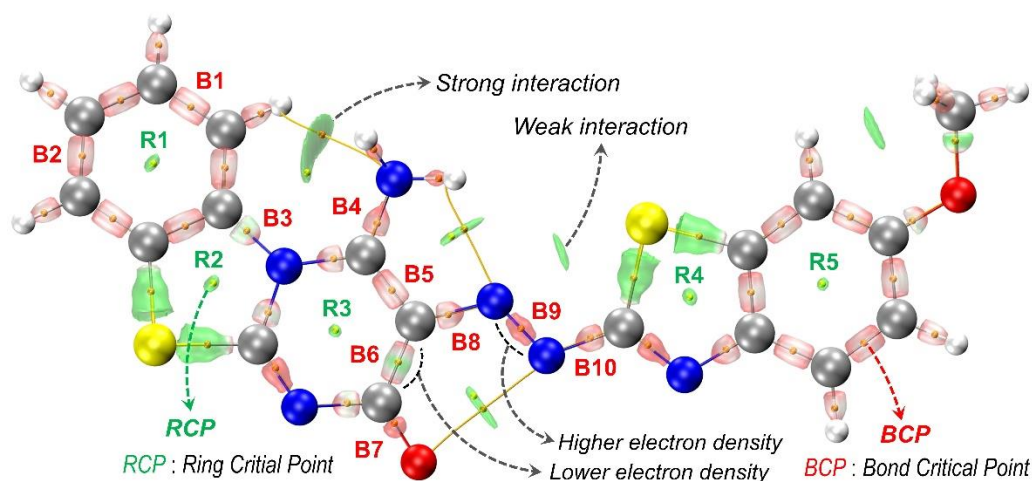


Figure 7. IRI surface of intramolecular interaction and QTAIM points of compound **1Ta**.

Considering that the hydrogen atoms around the central nitrogen atoms in tautomeric structures make high contributions to the intramolecular interactions, it can be said that the B1, B2 and B3 bonds cause the electron densities in BCPs not to be affected much by tautomerization (see **Figure 8**). B4 has a sigma bond only in **Ta**-type tautomers and it can be seen from the IRI and QTAIM data that the bond electron density increases due to the =NH bond structure (π -bond) in other tautomers. The bond electron densities of **Td** tautomers vary more than those of other tautomers, and the calculated total energies of both **1Td** and **2Td** are higher than other tautomers in their group. **Tc** tautomers with both $\text{NH}\cdots\text{N}$ and $\text{NH}\cdots\text{O}$ interactions have lower molecular energy (in the gas phase, for **1T(a-d)**: -1968.839, -1968.858, -1968.863, and -1968.827, a.u, respectively; for **2T(a-d)**: -1811.326, -1811.3376, -1811.3496, and -1811.3026 a.u, respectively). Electron densities in RCPs are not affected by tautomerization and are generally calculated around 0.023 e/bohr^3 at R1, R3 and R5 points, and around 0.038 and 0.043/0.063 e/bohr^3 for compound **1** and **2** tautomers at R2 and R4 points, respectively.

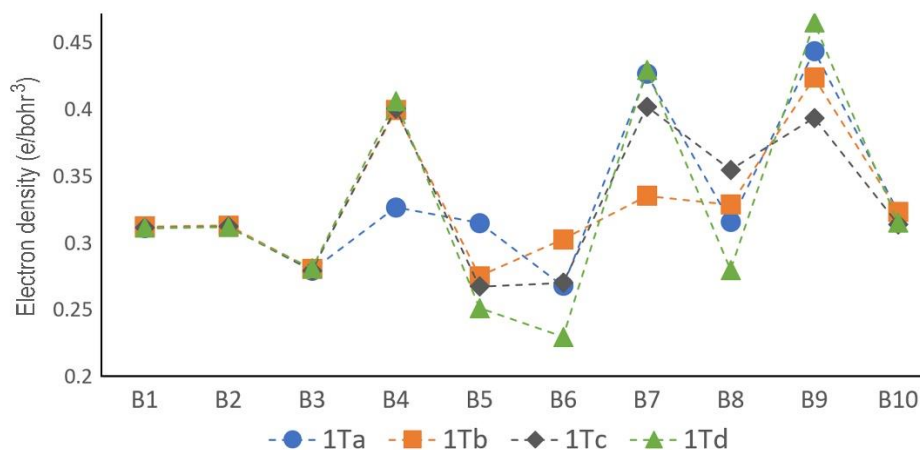


Figure 8. Electron density values (e/bohr^3) on the BCPs of the tautomers.

UV calculations of the tautomers were performed at the B3LYP/6-311++G(2d,2p) theory level in the same solvent phase as the experiments. In general, it was observed that the absorption peaks were not affected by the change of solvents (**Table 5**; **Figure 9-a,b**). It was observed that the 2-amino-6-methoxy benzothiazole moiety shifted the absorption peaks to higher wavelengths compared to 3-amino-5-metil-tiyo-1H-1,3,4-triazol moiety. That is, the maximum absorption wavelengths of the tautomers of compound **1** were

calculated larger than those of the tautomers of compound **2**. In the similar tautomeric conformations of compounds **1** and **2**, the maximum absorption peak of the **Tb** isomer shifted to higher wavelengths, while in **Td** it shifted to lower wavelengths. Considering that electrons in transit from HOMO to LUMO in general are responsible for the maximum absorption peaks, it is an expected result that tautomers with small E_g values will give absorption peaks at higher wavelengths. In addition, tautomers **Tb** and **Tc** showing absorption peak curves close to each other may be due to the similar characteristics of intramolecular hydrogen bonds.

Table 5. Calculated UV data (absorption values > 300 nm)

Isomer	Acetic acid	Acetonitrile	DMF	DMSO	Chloroform	Methanol
1 Ta	470, 331	471, 331	474, 332	474, 332	472, 331	470, 331
1Tb	531	531	535	535	534	530
1Tc	504, 315	504, 316	507, 316	507, 316	505, 316	504, 316
1Td	413, 329s	415, 330	417, 330	417, 330	413, 321s	415, 330
2 Ta	403, 333	405, 340	407, 341	406, 341	404, 333	405, 340
2Tb	429, 320	430, 323	432, 323	431, 324	430, 318	429, 323
2Tc	428, 327	431, 329	433, 330	432, 330	428, 326	431, 329
2Td	331	332	333	333	331	332

s: shoulder.

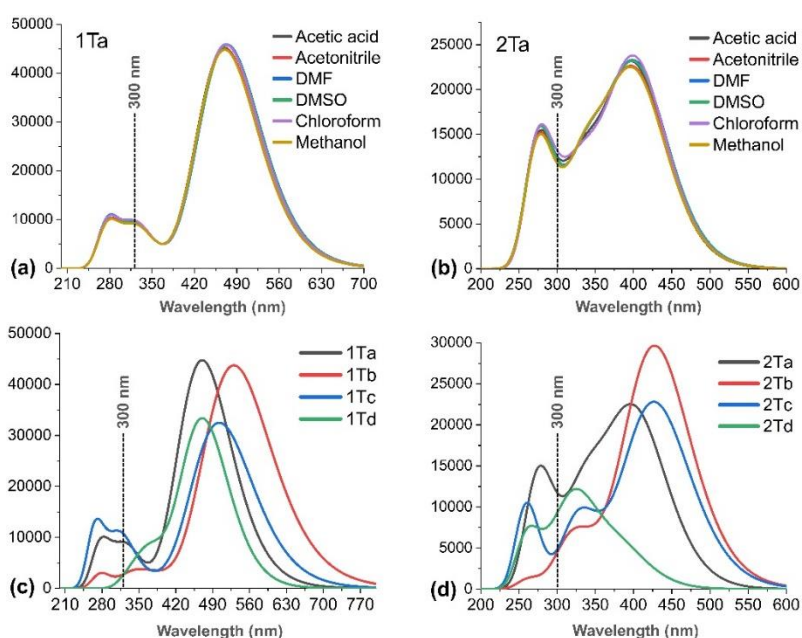


Figure 9. UV data of tautomers. (a) and (b): UV absorption plots of 1Ta and 2Ta tautomers in different solvents, (c) and (d): UV absorption graphs of **1** and **2** tautomers in methanol solvent.

4. Conclusion

Four different possible tautomer structures are contemplated for each of the compounds. Parallel to the experimental spectral studies, calculations were performed at the level of B3LYP/6-311++G(2d,2p) and data to support the experimental results were obtained.

The relationship between the tautomeric structures of the compounds and their electronic properties was investigated theoretically. The effects of tautomeric transitions on the conformational and spectral properties of the compounds have been demonstrated. The calculations led to the prediction that the first group tautomers containing 2-amino-6-methoxy benzothiazole may be more reactive than the second group tautomers containing 3-amino-5-methyl-thio-1H-1,3,4-triazole, since the first group tautomers are more electrophilic, have higher polarizability and electron accept-donor power, and also have lower E_g values.

It was determined that tautomerization can form intramolecular interactions and hydrogen bonds, and tautomers with intramolecular hydrogen bonds such as $\text{NH}\cdots\text{N}$ and $\text{NH}\cdots\text{O}$ have lower molecular energy. It has also been shown that IRI surfaces can be used to visualize interatomic bond electron densities.

It was observed that the absorption peaks were not affected by the solvent change. In addition, it was observed that the 2-amino-6-methoxy benzothiazole moiety decreased the E_g value compared to the 3-amino-5-methyl-thio-1H-1,3,4-triazole group and, in parallel, shifted the absorption peaks to higher wavelengths. The text under this heading should be Times News Roman-12 points.

Authorship contribution statement

N. Şener: Synthesis and characterization, Investigation, Resource/Material/Instrument Supply.

M. S. Çavuş: Conceptualization, Methodology, Theoretical Calculations, Formal, Analysis, Investigation, Visualization.

Declaration of competing interest

As the authors of this study, we declare that we do not have any conflict of interest statement.

Acknowledgment

The authors are grateful to the Scientific Research Projects Council of Kastamonu University (KÜ-BAP01/2019-9). The DFT calculations reported in this paper were partially performed at TUBITAK ULAKBIM, High Performance and Grid Computing Center (TRUBA resources).

Ethics Committee Approval and/or Informed Consent Information

As the authors of this study, we declare that we do not have any ethics committee approval and/or informed consent statement.

References

- [1] H. Zollinger, "Color chemistry: Syntheses, Properties and Application of Organic, Dyes and Pigments" 2nd ed. Weinheim: VCH; 1991.
- [2] P. I. Gregory and K. Hunger, "Industrial Dyes: Chemistry, Properties and Applications", Weinheim: Wiley-VCH, 2002, pp.543–585.
- [3] R. J. H. Clark and R. E. Hester, "Advances In Materials Science Spectroscopy". New York: John Wiley & Sons; 1991.
- [4] M. Neamtu, A. Yediler, I. Siminiceanu, M. Macoveanu and A. Kettrup, "Decolorization of disperse red 354 azo dye in water by several oxidation processes - a comparative study," *Dyes and Pigments*, 60 (1), 61-68, 2004.
- [5] A. Akbari, J. C. Remigy and P. Aptel, "Treatment of textile dye effluent using a polyamide-based nanofiltration membrane," *Chemical Engineering and Processing*, 41 (7), 601-609, 2002.

- [6] J. Geng, T. Tao, S. J. Fu, W. You and W. Huang, "Structural investigations on four heterocyclic Disperse Red azo dyes having the same benzothiazole/azo/benzene skeleton," *Dyes and Pigments*, 90 (1), 65-70, 2011.
- [7] A. D. Towns, "Developments in azo disperse dyes derived from heterocyclic diazo components," *Dyes and Pigments*, 42, 3-28, 1999.
- [8] M. R. Maliyappa, J. Keshavayya, N. M. Mallikarjuna, P. M. Krishna, N. Shivakumara, T. Sandeep and M. A. Nazrulla, "Synthesis, characterization, pharmacological and computational studies of 4, 5, 6, 7-tetrahydro-1, 3-benzothiazole incorporated azo dyes," *Journal of Molecular Structure*, 1179, 630-641, 2019.
- [9] B. N. Ravi, J. Keshavayya and N. M. Mallikarjuna, "Synthesis, spectral characterization and pharmacological evaluation of Ni (II) complexes of 6-nitro-benzothiazole incorporated azo dyes," *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30 (9), 3781-3796, 2020.
- [10] C. W. Ghanavatkar, V. R. Mishra, N. Sekar, E. Mathew, S. S. Thomas and I. H. Joe, "Benzothiazole pyrazole containing emissive azo dyes decorated with ESIPT core: linear and nonlinear optical properties, Z scan, optical limiting, laser damage threshold with comparative DFT studies," *Journal of Molecular Structure*, 1203, 127401, 2020.
- [11] S. Prakash, G. Somiya, N. Elavarasan, K. Subashini, S. Kanaga, R. Dhandapani and V. Sujatha, "Synthesis and characterization of novel bioactive azo compounds fused with benzothiazole and their versatile biological applications," *Journal of Molecular Structure*, 1224, 129016, 2021.
- [12] V. R. Mishra, C. W. Ghanavatkar, S. N. Mali, S. I. Qureshi, H. K. Chaudhari and N. Sekar, "Design, synthesis, antimicrobial activity and computational studies of novel azo linked substituted benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole derivatives," *Computational biology and chemistry*, 78, 330-337, 2019.
- [13] A. S. Özen, P. Doruker & V. Aviyente, "Effect of cooperative hydrogen bonding in azo-hydrazone tautomerism of azo dyes," *The Journal of Physical Chemistry A*, 111 (51), 13506-13514, 2007.
- [14] M. R. Maliyappa, J. Keshavayya, M. Mahanthappa, Y. Shivaraj and K. V. Basavarajappa, "6-Substituted benzothiazole based dispersed azo dyes having pyrazole moiety: synthesis, characterization, electrochemical and DFT studies," *Journal of Molecular Structure*, 1199, 126959, 2020.
- [15] S. Kınalı, S. Demirci, Z. Çalışır, M. Kurt and A. Ataç, "DFT, FT-IR, FT-Raman and NMR studies of 4-(substituted phenylazo)-3, 5-diacetamido-1H-pyrazoles," *Journal of Molecular Structure*, 993 (1-3), 254-258, 2011.
- [16] C. W. Ghanavatkar, V. R. Mishra, S. N. Mali, H. K. Chaudhari and N. Sekar, "Synthesis, bioactivities, DFT and in-silico appraisal of azo clubbed benzothiazole derivatives," *Journal of Molecular Structure*, 1192, 162-171, 2019.
- [17] S. Harisha, J. Keshavayya, S. M. Prasanna and H. J. Hoskeri, "Synthesis, characterization, pharmacological evaluation and molecular docking studies of benzothiazole azo derivatives," *Journal of Molecular Structure*, 1218, 128477, 2020.
- [18] B. Manjunatha, Y. D. Bodke, O. Nagaraja, G. Nagaraju and M. A. Sridhar, "Coumarin-benzothiazole based azo dyes: synthesis, characterization, computational, photophysical and biological studies," *Journal of Molecular Structure*, 1246, 131170, 2021.
- [19] M. R. Maliyappa, J. Keshavayya, M. S. Sudhanva and I. Pushpavathi, "Heterocyclic azo dyes derived from 2-(6-chloro-1, 3-benzothiazol-2-yl)-5-methyl-2, 4-dihydro-3H-pyrazol-3-one having benzothiazole skeleton: synthesis, structural, computational and biological studies," *Journal of Molecular Structure*, 1247, 131321, 2022.
- [20] M. R. Maliyappa, J. Keshavayya, M. Mahanthappa, Y. Shivaraj, K.V. Basavarajappa, "6-Substituted benzothiazole based dispersed azo dyes having pyrazole moiety: Synthesis, characterization, electrochemical and DFT studies", *Journal of Molecular Structure*, 1199, 126959, 2020.
- [21] C. W. Ghanavatkar, V. R. Mishra, N. Sekar, E. Mathew, S. Sijo Thomas, I. H. Joe, "Benzothiazole pyrazole containing emissive azo dyes decorated with ESIPT core: Linear and nonlinear optical properties, Z scan, optical limiting, laser damage threshold with comparative DFT studies", *Journal of Molecular Structure*, 1203, 127401, 2020.
- [22] M. Gökalp, T. Tilki, Ç. Karabacak Atay, "Newly Synthesized Aminothiazole Based Disazo Dyes and Their Theoretical Calculations", *Polycyclic Aromatic Compounds*, 1(23), 2023.
- [23] S. Erişkin, N. Şener, S. Yavuz and İ. Şener, "Synthesis, characterization, and biological activities of 4-imino-3-arylazo-4H-pyrimido[2, 1-b][1, 3]benzothiazole-2-oles," *Medicinal Chemistry Research*, 23 (8), 3733-3743, 2014.
- [24] P. Hohenberg and W. Kohn, *Phys. Rev.*, 1964, 136, 864-871.
- [25] W. Kohn and L. J. Sham, *Phys. Rev.*, 1965, 140, 1133-1138.
- [26] M. J. Frisch, G. Trucks, H. Schlegel, G. Scuseria, M. Robb, J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci and G. Petersson, *Inc.: Wallingford, CT*, 2009.
- [27] R. F. Bader, *Acc. Chem. Res.*, 1985, 18, 9-15.
- [28] R. F. Bader, *Chem. Rev.*, 1991, 91, 893-928.

- [29] Tian Lu and Qinxue Chen, "Interaction Region Indicator: A Simple Real Space Function Clearly Revealing Both Chemical Bonds and Weak Interactions," *Chemistry—Methods*, 1 (5), 231-239, 2021.
- [30] T. Lu and F. Chen, *J. Comput. Chem.*, 2012, 33, 580-592.
- [31] M. R. Maliyappa, J. Keshavayya, R. A. Shoukat Ali and S. Harisha, "Synthesis, Characterization, Solvatochromic and Biological studies of novel Benzothiazole based azo dyes," *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, Special Issue 1 (10-15), 2018.