



Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi & Sinop University Journal of Natural Sciences

# *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*

*&  
Sinop University  
Journal of Natural Sciences*

*Cilt / Volume 8  
Sayı / Number 1  
2023*



**SINOP ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ**

**Adres:** Korucuk Mahallesi Üniversite Caddesi 15 Temmuz Yerleşkesi No:21B 57010 – SINOP / TÜRKİYE  
**Telefon:** 0 368 271 57 57 - **Faks:** 0 368 271 57 63 - **Mail:** sufbd@sinop.edu.tr

ISSN 2536-4383 / e-ISSN 2564-7873

Cilt  
(8)  
Sayı  
(1)  
2023



SINOP ÜNİVERSİTESİ YAYINLARI

**SİNOP ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ DERGİSİ**

SİNOP UNIVERSITY  
JOURNAL OF NATURAL SCIENCES

Cilt/Volume 8

Sayı/Number 1

2023

*Sinop Üniversitesi'nin 54. Bilimsel Yayınıdır.*

*It is the 54th Scientific Publication of Sinop University.*

*ISSN 2536-4383/e-ISSN 2564-7873*

# SİNOP ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ DERGİSİ

*Sinop University Journal of Natural Sciences*

## **SAHİBİ/PUBLISHER**

Prof. Dr. Nihat DALGIN (Sinop Üniversitesi Rektörü/Rector)

## **EDİTÖR/EDITOR**

Prof. Dr. Türkay ÖZTÜRK

## **YARDIMCI EDİTÖR/CO EDITOR IN CHIEF**

Doç. Dr. Sevda YILDIZ

## **EDİTÖR KURULU/EDITORIAL BOARD**

Prof. Dr. Kamil DEMİRCİ

Prof. Dr. Ahmet TABAK

Prof. Dr. Cem Cüneyt ERSANLI

Prof. Dr. Ahmet ÖZER

Prof. Dr. Hülya TURAN

Prof. Dr. Levent BAT

Prof. Dr. Şükrü ÇELİK

Prof. Dr. Hülya ÖZLER

Prof. Dr. Emel ÇANKAYA

Prof. Dr. Meryem SEFERİNOĞLU

Doç. Dr. Oylum GÖKKURT BAKI

Dr. Öğr. Üyesi Levent ÖNCEL

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Kemal BALKİ

Prof. Dr. Carlo BARDARO

Prof. Dr. Kulwinder SINGH MANN

Prof. Dr. Richard P. PATTERSON

Prof. Dr. Vishwanath P. SINGH

Doç. Dr. Jakrapong KAEWKHAO

Dr. Bahaeddine TAOUFİK

Dr. Julia KORNYCHUK

Dr. Munish Kumar GUPTA

Dr. Kremena STEFANOVA

## **DİL EDİTÖRLERİ (İNGİLİZCE)/LANGUAGE EDITORS (ENGLISH)**

Prof. Dr. Murat UZUNCA

Öğr. Gör. Ece Firuze BADAĞ

## **MİZANPAJ EDİTÖRÜ/LAYOUT EDITOR**

Doç. Dr. Bengünur ÇORAPCI

## **ADRES/ADDRESS**

Sinop Üniversitesi Rektörlüğü, Korucuk Mahallesi Üniversite Caddesi 15 Temmuz Yerleşkesi  
No:21B 57010-SİNOP/TÜRKİYE

**Tel:** 0 368 271 57 57 **Faks:** 0 368 271 57 63

<https://dergipark.org.tr/sinopfbd>

**e-Posta:** [sufbd@sinop.edu.tr](mailto:sufbd@sinop.edu.tr)

**Araştırma Makaleleri/Research Articles****Sayfa/Page**

In Vitro Evaluation of Biofilm Forming Capacity and Antifungal Resistance of Yeast Isolated from Individuals Aged 18-25 Years 1

*18-25 Yaş Arası Bireylerden İzole Edilen Mayaların Biyofilm Oluşturma Kapasitesinin ve Antifungal Direncinin in Vitro Olarak Değerlendirilmesi*

**Gülçin ÖZCAN ATEŞ and Müşerref OTKUN**

Metal Levels in *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 and Their Health Risk Appraisal for Consumers 19

*Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 Türündeki Metal Seviyeleri ve Tüketiciler için Sağlık Riski Değerlendirmesi

**Levent BAT, Öztekin YARDIM and Aysah ÖZTEKİN**

Antalya İli Finike İlçesinde Marul Üretim Alanlarında Marul Mozaik Virüsü'nün Belirlenmesi Determination of Lettuce Mosaic Virus in Lettuce Production Areas in Finike District of Antalya Province 30

*Determination of Copper Level and Affecting Factors in Maternal Blood*

**Handan ÇULAL KILIÇ ve Emine ERDAŞ**

Bakır(II)-Sulfametazin-2,2'-bipiridin Kompleksinin Hesaplamalı Kimya Yöntemi ile Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi: Moleküler Modelleme Çalışması, ADME/T 39

*Investigation of Spectroscopic Properties with Computational Chemistry Method of Copper(II)-sulfamethazine-2,2'-bipyridine Complex: Molecular Modeling Study and ADME/T*

**Filiz ÖZTÜRK ve Tuğba AYCAN**

Examination of Dark and Bright Solitons of (2+1)-Dimensional Kundu-Mukherjee-Naskar Equation Via Unified Solver Technique 65

*(2+1)-Boyutlu Kundu-Mukherjee-Naskar Denkleminin Birleşik Çözücü Teknik Yoluyla*

*Dark ve Bright Solitonlarının İncelenmesi*

**Volkan ALA**

On Quasi-para-Sasakian Structures On 5-Dimensions 75

*5-Boyutta Kuasi-para-Sasaki Yapılar Üzerine*

**Sirin AKTAY and Ümmü KOCABAŞ**

**Derlemeler/Reviews****Sayfa/Page**

Tekstil Atıksularının Elektrokoagülasyon Prosesiyle Arıtımının İncelenmesi 87

*Investigation of Textile Wastewater Treatment by Electrocoagulation Process*

**Kasım ATMACA**



**In Vitro Evaluation of Biofilm Forming Capacity and Antifungal Resistance of Yeast Isolated from Individuals Aged 18-25 Years****Gülçin ÖZCAN ATEŞ<sup>1</sup>** and **Müşerref OTKUN<sup>2</sup>**

**How to cite:** Özcan Ateş, G., & Otkun, M. (2023). In vitro evaluation of biofilm forming capacity and antifungal resistance of yeast isolated from individuals aged 18-25 years. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 1-18. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1310745>

**Research Article**

**Corresponding Author**  
Gülçin ÖZCAN ATEŞ  
gulcinozcan@comu.edu.tr

**ORCID of the Authors**  
G.Ö.A: 0000-0002-8467-2378  
M.O: 0000-0001-8977-1140

**Received:** 06.06.2023  
**Accepted:** 20.06.2023

**Abstract**

Microbiota studies are an increasingly important issue today. In the literature, there are limited studies on the antifungal resistance and biofilm formation capacity of yeasts isolated from the mouths of young individuals. For this reason, our study was carried out with 133 yeast isolates isolated from the mouths of 17 young individuals between the ages of 18-25 in 2018-2020. When the biofilm-forming capacities of 133 isolates were examined, it was determined that 99.25% were biofilm producers by tissue culture plate method and 66.92% by tube method. One hundred thirty-three yeast isolates and seven reference strains were first evaluated against fluconazole antifungal by agar disc diffusion method. The isolates were found to be susceptible to fluconazole. According to this result, 20 isolates with strong biofilm-forming capacity were selected from 133 yeast isolates. Antifungal resistance was evaluated with fluconazole, itraconazole, clotrimazole, amphotericin B and nystatin gradient test strips. It was determined that 20 isolates were resistant to amphotericin B, and 18 were resistant to nystatin antifungal. It was determined that the sensitivity of itraconazole to 14 isolates and clotrimazole to 3 isolates was dose-dependent. As a result, azole group antifungals can be used mainly in treating oral yeast infections.

**Keywords:** Antifungal resistance, biofilm, *Candida*, gradient test, oral yeast

**18-25 Yaş Arası Bireylerden İzole Edilen Mayaların Biyofilm Oluşturma Kapasitesinin ve Antifungal Direncinin in Vitro Olarak Değerlendirilmesi**

<sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, Çanakkale/Turkey

<sup>2</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Çanakkale/Turkey (Retired)

**Öz**

Mikrobiyota çalışmaları günümüzde önemi giderek artan bir konudur. Literatürde genç bireylerin ağızlarından izole edilen mayaların antifungal direnci ve biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle çalışma 2018-2020 yıllarında 18-25 yaş arası 17 genç bireyin ağızından izole edilen 133 maya izolatu ile gerçekleştirilmiştir. 133 izolatu biyofilm oluşturma kapasiteleri incelendiğinde doku kültürü plak yöntemi ile %99.25'inin, tüp yöntemi ile %66.92'sinin biyofilm oluşturduğu belirlendi. 133 maya izolatu ve 7 referans suş ilk önce agar disk difüzyon yöntemiyle flukonazol antifungaline karşı değerlendirildi. İzolatların flukonazole duyarlı olduğu bulundu. Bu sonuca göre 133 maya izolatu arasından biyofilm oluşturma kapasitesi güçlü 20 izolat antifungal direnciliğinin belirlenmesi için seçilmiştir. Antifungal direnci flukonazol, itrakonazol, klotrimazol, amfoterisin B ve nistatin gradyan test şeritleri ile değerlendirilmiştir. 20

---

This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution  
4.0 International License

izolatın amfoterisin B'ye, 18 izolatın ise nistatin antifungaline karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. İtrakonazolün 14 izolata ve klotrimazolün 3 izolata duyarlılığının doza bağımlı olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, azol grubu antifungaller ağırlıklı olarak oral maya enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Antifungal direnç, biyofilm, *Candida*, gradiyent test, oral maya.

---

## Introduction

Fungi constitute a small part of the oral microbiota; some species cause dental caries, periodontal diseases, and endodontic diseases in the mouth [1-3]. Approximately 75% of healthy individuals carry yeast species as a natural commensal of the oral microbiota. However, yeasts of the genus *Candida* are an opportunistic pathogen that can cause acute or chronic infection in some individuals, especially under various conditions that compromise host immunity. Candidiasis is the most common form of oral disease caused by yeasts of the genus *Candida* [1-4]. *C. albicans* is the most common and pathogenic *Candida* species and has been defined as the most common yeast in oral candidiasis. However, other non-*albicans* *Candida* (NCAC) species may also contribute to the development of oral candidiasis [4]. It has been determined that oral candidiasis has increased recently due to various factors such as age, prosthetic use, diabetes, cell-mediated immunodeficiency, systemic steroid and antibiotic use, pernicious anemia, malignancy, and head and neck radiation therapy. Therefore, the sensitivity of the oral mycobiota to the antifungal drugs used in treating these diseases is important. Antifungal agents such as polyenes (amphotericin B and nystatin) and azoles (fluconazole, itraconazole, and miconazole) are used to treat oral candidiasis. Azole group antifungals are used in oral applications to treat these diseases because they are mostly inexpensive and non-toxic. Although the resistance of fungi to polyenes is rare, they can gain resistance to the azole group [1-3]. In addition, there is information about increased antifungal resistance due to excessive or unconscious use of antifungal agents. Therefore, antifungal susceptibility testing is needed for an effective treatment of oral candidiasis [1]. The mouth provides an ideal incubation area with the temperature, humidity and nutritive environment required for the reproduction and proliferation of microorganisms. Dynamic complex interactions between host and diet lead to the colonization of microorganisms in the mouth and subsequent biofilm formation. Biofilm formed on teeth or dental materials surfaces has been determined as a virulence factor in forming many oral infections, especially dental caries, endodontic and periodontitis [5]. Pathogenic microorganisms have developed techniques such as colonization, invasion, and pathogenesis, which will contribute to their virulence, many of which are for survival and species continuity. Many virulence factors, such as hemolysis, extracellular hydrolase production, phenotypic change, and adhesion, affect the pathogenesis of *Candida* species. In addition, they produce large amounts of sticky substances in glucose-containing environments. Biofilm formation is also an important factor contributing to the virulence of *Candida* species. Biofilms of *Candida* species are often found on biomaterial implants, the host surface and in

normal sites where they can more easily help escape host defense. They cause persistent infections as they escape the host defense mechanism. Its extensive biofilm-forming ability on catheters and other prosthetic devices contributes to its prevalence as an etiologic agent of intravascular nosocomial infection. Antifungal-resistant *Candida* species producing biofilms pose a major challenge for healthcare professionals and pharmaceutical companies, especially in designing therapeutic and prophylactic strategies. In addition, it causes economic losses due to failure in treatment, high mortality and long-term hospital stay [6-9]. Biofilm formation provides various advantages to microorganisms, such as environmental protection, nutrient availability, metabolic cooperation, and the acquisition of new properties [6-9]. Most importantly, biofilm formation protects microorganisms against natural immunological defences and causes resistance to antimicrobial drugs [10, 11]. Depending on limited nutrients, slow growth and stress conditions, the regulation of cell metabolism and cell density of microorganisms change. This contributes to biofilm resistance. These properties are very important as it is estimated that approximately 65% of human infections caused by microorganisms contain biofilm [11, 12]. Additionally, biofilm-producing species have been associated with the death of infected patients [11, 13-15]. For example, *Candida* cells that survive in prostheses after chemical or mechanical treatment form a biofilm in the presence of nutrients, causing a relapse of chronic infection [10, 11]. In addition, the oral cavity contains a wide variety of microbial species. Microbiota can interact intensely as the biofilm structure is formed to perform physiological functions and induce microbial pathogenesis [11, 16-18]. Biofilm-producing microorganisms are responsible for many persistent infections, and biofilm-associated diseases pose a significant problem in society, both economically and health-wise. However, an almost universal feature of biofilms is their resistance to chemical and physical injury, i.e., resistance to antibiotics and antifungals by various methods, including limited drug penetration to microorganisms, reduced growth rate, and expression of resistance genes. Therefore, it makes it very difficult to fight in clinical settings and is a burden that must be overcome regarding human health [5, 7, 9, 11, 19-21]. The role of bacterial biofilms in disease has been investigated in detail for several years, and there is substantial literature on their structure and properties. Since biofilm formation provides resistance to antimicrobial agents, the biofilm-forming capacity of *Candida* species, which are opportunistic pathogens, is critical for infection. Therefore, further recognition and understanding of *Candida* biofilms are crucial in studying human candidiasis. Studies on oral yeast load and yeast diversity in young individuals are limited in the literature. Özcan Ateş [22] has brought new information to the literature on the subject between 2018 and 2020. There is no information in the literature about the antifungal resistance and biofilm formation capacity of yeasts isolated from the oral mycobiota of young individuals. Studies in the literature have generally determined the antifungal resistance and biofilm-forming capacity of fungi isolated from individuals with various diseases. Therefore, this study aims to determine the antifungal resistance and biofilm formation capacity of yeast isolates isolated from the mouths of young individuals.

## **Materials and Methods**

### **Sampling**

The study obtained 133 yeast isolates identified by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) from 17 participants aged 18-25. Yeast isolates in stock culture were resuscitated at 37°C using Sabouraud Dextrose Broth (SDB) (NCM0147, Neogen, USA) medium. *Candida* genus isolates were cultivated on HiCrome™ *Candida* Differential Agar (M1297A, Himedia, India) medium, and *Wickerhamomyces subpelliculosus* (Kurtzman) Kurtzman, Robnett & Bas.-Powers and *Pichia manshurica* Saito (1914) isolates were cultivated on Sabouraud Dextrose Agar (SDA) medium (NCM0147, Neogen, USA) and their purity was checked.

### **Determination of Biofilm Forming Capacity by Congo Red Agar (CRA) Method**

Congo Red Agar (CRA) method was performed as described in previous studies [7-9, 23]. Yeast isolates were first taken from the stock cultures, cultured in SDA medium, and incubated for 24 hours at 37°C. Then each culture was inoculated into CRA medium (Congo red 0.8 g/L (HiMedia, India), Brain Heart Infusion Broth 37 g/L (Oxoid, England), Agar 10 g/L (Liofilchem, Italy), Sucrose 50 g/L) and incubated at 37°C for 24–48 h. After incubation, black or purple-coloured colonies with a dry crystal consistency were interpreted as positive biofilm-producing strains and red-coloured colonies as negative for biofilm production. This analysis was carried out in triplicate.

### **Determination of Biofilm Forming Capacity by Tube Method (TM)**

A qualitative assessment of biofilm formation was performed as described in previous studies [7, 9, 24]. Stock yeast cultures were resuscitated in 5 mL of SDB medium. 10 µL of resuscitated culture was cultivated SDB containing 8% glucose and incubated at 37°C for 48 hours. After incubation, the tubes were emptied, washed with Phosphate Buffered Saline (PBS) (pH-7.2), and dried. The tubes were stained with 0.1% v/v crystal purple (HiMedia, India). Tubes were washed with deionized water to remove excess dye. The tubes were then dried in the inverted position for biofilm determination. Biofilm formation was considered positive when visible film covered the wall and bottom of the tube. Ring formation at the liquid interface was not considered biofilm. The tube containing only sterile SDB was used as a negative control. This analysis was carried out in triplicate.

### **Determination of Biofilm Forming Capacity by Tissue Culture Plate (TCP) Method (Crystal Violet Method)**

Quantitative biofilm formation was evaluated by modifying the methods described by Muadcheingka and Tantivitayakul [25] and Kıvanç and Er [26]. Yeast isolates were resuscitated overnight at 37°C in 5 mL of medium. Revived cultures were adjusted to OD<sub>600</sub> = 1.0 (10<sup>7</sup> cells/mL) in an SDB medium containing 8% glucose. Then, 200 µL of inoculated SDB medium containing 8% glucose was added to



the wells of 96-well flat-bottom microplates. Microplates were incubated at 37°C for 48 hours. After incubation, the microplates were washed 3 times with sterile physiological saline (PS, 0.85% NaCl). After washing, 200 µL of 99% methanol (Merck, Germany) was added for fixation and incubated for 15 minutes. The plates were then emptied and dried at room temperature. Afterwards, 200 µL of 1% (v/v) crystal violet was added to each well and incubated for 15 minutes. After incubation, the microplates were washed twice with sterile distilled water, and the plates were dried at room temperature. Then, 200 µL of 33% acetic acid (Merck, Germany) was added to the plates and evaluated in a microplate reader (Thermo Multiscan FC) at 570 nm. Biofilm formation was evaluated with the following formula: no biofilm production ( $OD_s \leq OD_{nc}$ ), weak biofilm production ( $OD_{nc} < OD_s \leq 2 \cdot OD_{nc}$ ), moderate biofilm production ( $2 \cdot OD_{nc} < OD_s \leq 4 \cdot OD_{nc}$ ), and strong biofilm production ( $4 \cdot OD_{nc} < OD_s$ ) [27]. The study was carried out in two parallels and three repetitions.

### **Antifungal Disk Diffusion Method**

In vitro antifungal resistance of 133 resuscitated isolates against fluconazole (25 mcg) (SD232-5CT, Himedia, India) antifungal disc according to NCCLS M44-A [28] standard method Mueller-Hinton Agar + 2% Glucose, 0.5 µg/mL Methylene Blue Agar (MHA+GMB) (M1825, Himedia, India) medium. To compare the antifungal resistance of the isolates, *C. albicans* (C.P. Robin) Berkhout ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 14053, *C. albicans* ATCC 24433, *C. albicans* ATCC 90028, *Candida tropicalis* (Castell.) Berkhout ATCC 1021 *Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice ATCC 22019, *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* Franzot et al. ATCC 90112 were used as reference strains. The isolates were first resuscitated from stock cultures by seeding in an SDA medium and incubating overnight at 37°C. The inoculum of the resuscitated isolates was adjusted to 0.5 McFarland ( $1 \cdot 5 \times 10^6$  cells/mL) with a McFarland densitometer with PS. Within 15 minutes after adjusting the turbidity of the inoculum suspension, the suspension was inoculated with a sterile cotton swab (swab) by rubbing the swab evenly over the entire agar surface of the dried surface of the MHA+ GMB petri plate. Fluconazole antifungal disc was placed on the agar surface 15 minutes after inoculation. The plates were then incubated at 37°C for 24 hours. Poorly grown ones were incubated for 48 hours. After incubation, zone diameters were measured with a caliper (KMP150, OEM, CHINA). The study was carried out in 2 parallels.

### **Determination of Minimum Inhibitory Concentration of Antifungal Agents by Gradient Test**

Since 133 isolates were determined to be susceptible to fluconazole by the in vitro agar disc diffusion method, 20 isolates known as strong biofilm producers were selected to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Fluconazole (0.016-256 mcg/mL, EM072, Himedia, India), itraconazole (0.002-32 mcg/mL, EM073, Himedia, India), clotrimazole (0.002-32 mcg/mL, EM144,

Himedia, India), nystatin (0.002-32 mcg/mL, EM145, Himedia, India) and amphotericin B (0.002-32 mcg/mL, EM071, Himedia, India) gradient test strips were performed to determine MIC values as specified in CLSI M27-A2 [29]. The inoculum suspension was adjusted as previously described. Within 15 minutes after adjusting the turbidity of the inoculum suspension, the suspension was inoculated with a sterile cotton swab (swab) by rubbing the swab evenly over the entire agar surface onto the dried surface of the petri plate containing RPMI 1640 agar containing 0.165 M MOPS + 2% glucose (M1972, Himedia, India). Fifteen minutes after inoculation, antifungal gradient test strips were placed on the 90 mm diameter agar surface as 1-2 pieces. The plates were then incubated at 37°C for 24 hours. Poorly grown ones were incubated for 48 hours. After incubation, MIC values were determined. Results were compared in line with NCCLS guidelines and previous studies.

### Statistical Analysis

In evaluating the data, the Chi-square homogeneity test and the one-way and two-way analysis of variance were performed using SPSS Package Program (v23.0, IBM Corp) at a significance level of 0.05. Results are given as mean (M) ± standard deviation (sd).

### Results

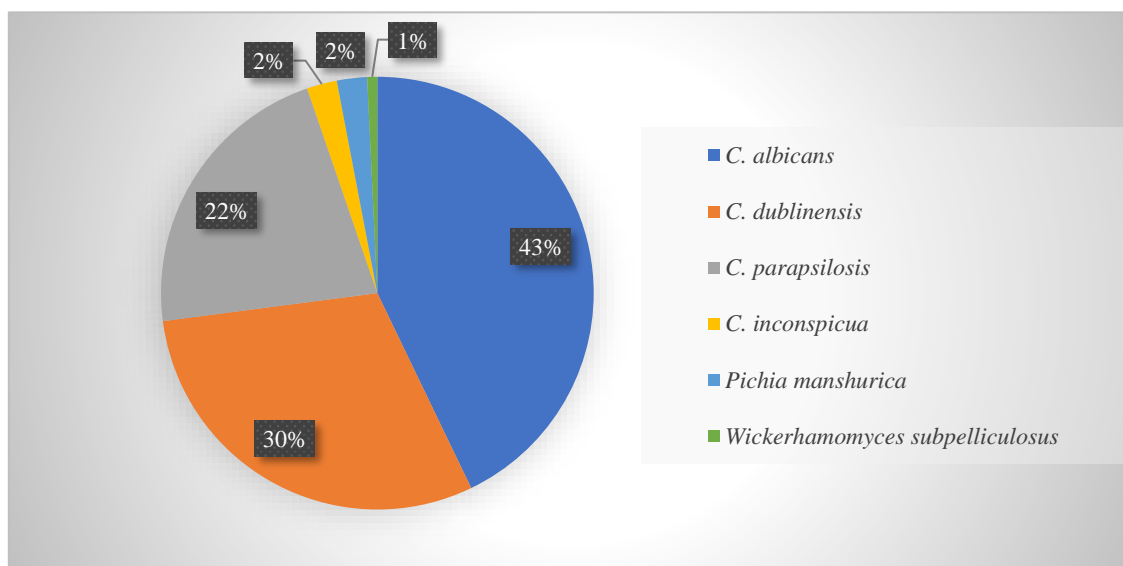
The biofilm-forming capacities of 133 yeast isolates isolated from the mouths of healthy young individuals were evaluated by three different methods: Congo Red Agar (CRA), Tube Method (TM) and Tissue Culture Plate (TCP) method. Comparisons of the methods used for biofilm formation determination of yeast isolates in three different methods are given in Table 1.

**Table 1.** Comparison of the methods used to determine the biofilm-forming capacity of isolates at the species level

Species	CRA	TM			TCP		
		Weak	Moderately strong	Strong	Weak	Moderately strong	Strong
<i>C. albicans</i>	2	29	2	0	42	10	4
<i>C. dubliniensis</i>	2	18	4	4	16	13	11
<i>C. parapsilosis</i>	0	2	6	19	2	0	27
<i>C. inconspicua</i>	0	2	0	0	0	1	2
<i>P. manshurica</i>	0	3	0	0	0	0	3
<i>W. subpelliculosus</i>	0	0	0	0	0	0	1
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>54</b>	<b>12</b>	<b>23</b>	<b>60</b>	<b>24</b>	<b>48</b>

As seen in Table 1, oral yeast isolates were composed of 43.60% *C. albicans*, 30.08% *C. dubliniensis*, 21.05% *C. parapsilosis*, 2.26% *C. inconspicua*, 2.26% *P. manshurica* and 0.75% *W. subpelliculosus*. It was determined that *C. dubliniensis* and *C. parapsilosis* were the most isolated species from 71 isolates of NCAC species, respectively. While it was determined that 47 isolates were strong and 24 isolates were moderately strong biofilm producers by the TCP method, 23 isolates were

determined to be strong biofilm producers, and 12 isolates were moderately strong biofilm producers by the TM method. In the CRA method, only four isolates were identified as biofilm producers. The comparison of the biofilm-forming capacities of 133 isolates at the species level with the TCP method is given in Figure 1.



**Figure 1.** Comparison of biofilm-forming species with the TCP method

When the biofilm-forming capacities of the isolates were investigated, it was found that 99.25% of the isolates were biofilm producers with TCP, and 66.92% were biofilm producers with TM. 53.45% and 65% of *C. albicans* and *C. dubliniensis* isolates were biofilm producers by TM and 98.28% and 100% by TCP, respectively. For *C. parapsilosis*, 92.86% with TM and 100% with TCP were observed to be biofilm producers. The chi-square homogeneity test was used to find whether it varies according to the TM and TCP method used to determine the biofilm-forming capacity of the orally isolated species. As a result, the Pearson Chi-Square value was detected as  $\chi^2=3.271$  and degrees of freedom ( $v=5$ ). It was determined  $P=0.658$  and found that it did not differ according to the TM and TCP method used in determining the species and biofilm-forming capacity ( $P>0.05$ ). Regarding antifungal resistance, 133 isolates and seven standard strains were first evaluated against fluconazole antifungal by agar disc diffusion method. As a result, 133 yeast isolates were sensitive to fluconazole. Regarding antifungal resistance, 133 isolates and seven standard strains were first evaluated against fluconazole antifungal by agar disc diffusion method. As a result, it was determined that 133 yeast isolates were sensitive to fluconazole. The minimum and maximum values for fluconazole based on species are given in Table 2 in mm. Reference strains were also evaluated to assess the quality control range for antifungal resistance. Disk diffusion results of reference strains are shown in Table 3.

**Table 2.** Maximum and minimum values in mm against fluconazole (FLC) antifungal

Species (n)	max	min
<i>C. albicans</i> (58)	45.16	20.24
<i>C. dubliniensis</i> (40)	44.79	28.07
<i>C. parapsilosis</i> (28)	51.01	20.81
<i>C. inconspicua</i> (3)	38.36	27.87
<i>P. manshurica</i> (3)	36.42	32.93
<i>W. subpelliculosus</i> (1)	33.69	33.69

As seen in Table 2, *C. albicans* and *C. parapsilosis* isolates against fluconazole antifungal have a minimum inhibition zone of 20.24 and 20.81 mm and a maximum of 45.16 and 51.01 mm, respectively. While the minimum inhibition zone values of *C. dubliniensis* and *C. inconspicua* isolates against fluconazole are close to each other, their maximum values differ. On the other hand, there is no big difference between the minimum and maximum inhibition zones of *P. manshurica* isolates against fluconazole.

**Table 3.** Quality control zone diameters (in mm) recommended by CLSI for fluconazole (FLC) antifungal and detected in our study

Referans strains	FLC (25 µg)	FLC (25 µg) (CLSI)
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	38.33±0.62	-
<i>C. albicans</i> ATCC 14053	39.47±0.57	-
<i>C. albicans</i> ATCC 24433	37.57±0.31	-
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	37.97±0.57	28-39
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	32.25±0.52	22-33
<i>C. tropicalis</i> ATCC 1021	27.77±0.26	-
<i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 90112	37.79±0.01	-

Table 3 shows that the fluconazole antifungal used in the study was within the specified standards as a result of the evaluation with reference strains. Zone diameters regarding the participants and species are given in Figure 2. As a result of the statistical analysis made considering the participant and the species, it was determined that the inhibition zones against fluconazole ( $P=0.000$ ) antifungal were statistically significant. As a result of determining that all isolates were susceptible to fluconazole by agar disc diffusion, 20 isolates, which are strong biofilm producers, were selected to determine their resistance to itraconazole, clotrimazole, amphotericin B and nystatin antifungals. The resistance of 20 isolates to itraconazole, clotrimazole, amphotericin B, and nystatin antifungals was evaluated with gradient test strips, and antifungal resistance was expressed as the MIC against each isolate. MIC values against 20 isolates and 2 quality control strains, which are strong biofilm producers, are given in Table 4.

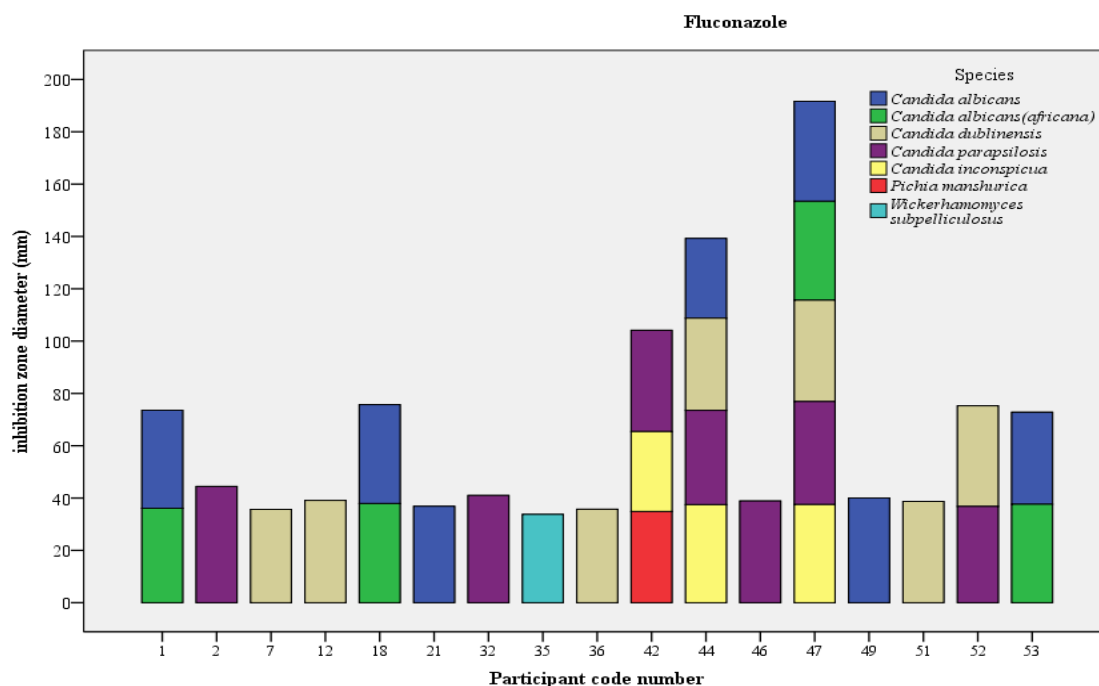


Figure 2. Fluconazole zone diameters in mm against participant and yeast strain

Table 4. MIC values (in µg/ml).

Isolates No	Species	Fluconazole	Itraconazole	Clotrimazole	Amphotericin B	Nystatin
S106	<i>C. albicans</i>	0.25 *	0.50*	0.38	4	>32
S111	<i>C. albicans</i>	0.25*	0.50*	0.25	4	>32
S131	<i>C. dubliniensis</i>	0.125	0.125	0.008	1	12**
S138	<i>C. dubliniensis</i>	0.50	0.38	0.023	8**	>32
S144	<i>P. manshurica</i>	8*	4*	0.125	2	8**
S145	<i>C. albicans</i>	0.75	0.25	0.023	8	>32
S148	<i>C. parapsilosis</i>	0.75	0.38	0.032	12	>32
S150	<i>C. parapsilosis</i>	1	0.38	0.032	8	>32
S154	<i>C. dubliniensis</i>	0.25	0.38	0.023	8**	>32
S161	<i>C. parapsilosis</i>	1.5	0.50	0.023	8**	>32
S164	<i>C. parapsilosis</i>	1.5	0.50	0.023	2	>32
S168	<i>C. parapsilosis</i>	0.75	0.50	0.016	12	>32
S207	<i>C. dubliniensis</i>	0.25	0.19	0.012	16	>32
S210	<i>C. dubliniensis</i>	0.25	0.25	0.012	16	>32
S216	<i>C. parapsilosis</i>	0.75	0.38	0.023	8	>32
S306	<i>C. parapsilosis</i>	0.25	0.125	0.012	16	>32
S308	<i>C. parapsilosis</i>	0.25	0.125	0.012	8	>32
S318	<i>C. parapsilosis</i>	0.125	0.19	0.016	8	>32
S342	<i>W. subpelliculosus</i>	1.5	0.19	0.023	12	>32
S470	<i>C. albicans</i>	1	0.25	0.38	4	>32
-	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	0.38*	0.19*	0.125*	8	32
-	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	0.25*	0.19*	0.125*	2	6**

\*detachable microcolonies, \*\*small ellipse, resistant isolates

Table 4 shows that 20 isolates that are strong biofilm producers and 2 quality control strains are susceptible to fluconazole antifungal. It was determined that 14 isolates were sensitive to itraconazole, and 3 were dose-dependent on clotrimazole antifungal. On the other hand, all tested isolates were found to be resistant to amphotericin B and nystatin antifungal. The obtained MIC values were interpreted according to NCCLS guidelines and previous studies [1, 4, 29-33], and the values are given in Table 5.

**Table 5.** Interpretation of MIC values according to NCCLS guidelines and previous studies

Antifungal agents	Interpretation criterion ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	Susceptible	Susceptible-dose dependent	Resistant
<b>Flukonazole</b>	$\leq 8 \mu\text{g/mL}$	16–32 $\mu\text{g/mL}$	$\geq 64 \mu\text{g/mL}$
<b>Itrakonazole</b>	$\leq 0.125 \mu\text{g/mL}$	0.25-0.5 $\mu\text{g/mL}$	$\geq 1 \mu\text{g/mL}$
<b>Klotrimazole</b>	$\leq 0.125 \mu\text{g/mL}^*$	0.25-0.5 $\mu\text{g/mL}^*$	$\geq 1 \mu\text{g/mL}^*$
<b>Amphotericin B</b>	$\leq 1 \mu\text{g/mL}$	-	$> 1 \mu\text{g/mL}$
<b>Nystatin</b>	-	-	$\geq 16 \mu\text{g/mL}$

\* Evaluated by the manufacturer's recommendations.

When the standard strains and the interpretation criteria given in Table 5 are evaluated, the azole group antifungal results show the accuracy of the tests. However, the quality control results of amphotericin B and nystatin gradient tests are out of the manufacturer's results. Therefore, although 18 of 20 isolates were resistant to nystatin and 19 of 20 were resistant to amphotericin B, different methods must confirm these values.

## Discussion

In this study, the biofilm-forming capacity of yeast isolates obtained from 17 participants aged 18-25 was examined by 3 different methods. It was determined that the most sensitive method among the applied methods for determining the biofilm formation potential was TCP, followed by TM and CRA methods. The results of this study are consistent with the results of the studies by Gogoi et al. [34] and Shrestha and Shakya [9]. Gogoi et al. [34] identified 115 bacterial isolates from different clinical samples, such as blood, and urine from urinary catheters, endotracheal tubes, tracheal aspirates, and drainage catheters by standard microbiological methods. The isolates they identified and non-biofilm-forming *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and biofilm-forming *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) cultures were evaluated by TCP, TM and CRA methods in determining the biofilm formation. They determined that TCP, TM and CRA methods were 61.7%, 41.7% and 18.2% in determining the biofilm-forming capacity of the isolates. In another study, Shrestha and Shakya [9] investigated the biofilm-forming capacities of 42 *C. albicans* isolates, which they isolated from 200 oral rinse samples collected with 10 mL of sterile PS for 1 minute, using three different methods. They defined the isolated *C. albicans* cultures according to their colony characteristics, simple staining, germ tube and chlamyospore characteristics. With the CRA method, they determined that 16 isolates were strong and moderate biofilm producers, while 26 isolates were



weak or not biofilm producers. They calculated that the sensitivity of the CRA method was 27.77%, the specificity was 16.66%, and the accuracy was 21.42%. They determined that 18 isolates were strong and medium biofilm producers, and 24 were not weak or biofilm producers in the TM method. They calculated that the sensitivity of the TM method was 71.4%, the specificity was 62.85%, and the accuracy rate was 64.28%. In the TCP method, they determined that 29 isolates were strong and moderate biofilm producers, and 13 isolates were weak or not biofilm producers. They stated that the TCP method is more sensitive, specific and accurate for quantitative biofilm screening than the TM and CRA methods. Comparing the results of this study with other studies, a high similarity is observed. In the study, 132 of 133 yeast isolates were found to be biofilm producers with TCP, while 89 isolates with TM were determined to be biofilm producers. As a result, it was determined that TCP is more sensitive in evaluating the biofilm-forming capacity of orally isolated yeasts. As a result of the study, it was determined that especially NCAC species isolated from the mouth are strong biofilm producers, while only 6.70% of *C. albicans* isolates are strong biofilm producers. The study results are similar to those of Pathak et al. [35] and Mohandas and Ballal [36]. Pathak et al. [35] evaluated biofilm formation on the surface of dental acrylic resin strips of single-species and multi-species combinations of *C. albicans* and NCAC. They isolated *Candida* isolates from many oral candidiases of neutropenic patients. After growing the isolates in an 8% glucose SDB medium, they were evaluated with crystal violet. As a result, they determined that single species (*C. glabrata* > *C. krusei* > *C. tropicalis* > *C. albicans*) and multi-species combinations (highest for *C. albicans* and *C. glabrata* and lowest for all four species combinations) had the biofilm-forming ability. The biofilm-forming ability of NCAC isolates was higher than *C. albicans* isolates isolated from multi-species oral candidiasis of neutropenic patients. Mohandas and Ballal [36] determined by the TM method that 81 (73%) of 111 *Candida* isolates out of 250 different clinical samples from patients treated in hospitals and nursing homes produced biofilms. They found that only 51% (25/49) of *C. albicans* isolates produced biofilm. They determined that NCAC species such as *C. krusei* and *C. tropicalis* formed stronger biofilms than *C. albicans*. Many protocols and media are in the literature for evaluating biofilm formation. Studies on media used to evaluate the biofilm formation of *Candida* species are available in the literature. Weerasekera et al. [37] evaluated the biofilm-forming capacity of *C. albicans* and *C. tropicalis* isolates using MTT and crystal violet (CV) methods in three different media (RPMI 1640, SDB, and yeast nitrogen base (YNB)). Researchers found that mono or dual growth was highest in SDB (20 g/L) medium with high sugar content, followed by YNB (18 g/L) and RPMI 1640 (2 g/L glucose) mediums. In addition, they determined that *C. tropicalis* species exhibited maximum adhesion in the YNB medium containing 100 mM glucose, while *C. albicans* and mixed *Candida* species achieved maximum adhesion with RPMI 1640 medium. Researchers stated that the medium is important in determining the biofilm-forming capacity of *Candida* species and that the methods should be standardized in this regard [37-39]. Mimicking the composition of human fluids rich in amino acids, RPMI 1640 medium is a rich medium containing many different

components, including high concentrations of L-Glutamine, L-Arginine, L-Asparagine, as well as vitamins and inorganic salts. [37, 40]. However, the glucose content of the RPMI 1640 medium is quite low compared to SDB and YNB mediums. For this reason, higher planktonic growth occurs in SDB medium with high glucose content compared to other mediums. On the other hand, SDB and YNB media are not rich in amino acids like RPMI 1640 media. However, the amino acid-rich composition of RPMI 1640 medium may promote a favourable biofilm formation. In addition, RPMI 1640 medium is recommended according to the NCCLS M27-A3 protocol for evaluating antifungal agents against planktonic cells [37]. Konecná et al. [41] investigated the effect of four different culture media on the biofilm biomass formation of *Candida* genus yeasts. Due to their clinical importance, they focused on *C. albicans* isolates in their studies. As a result, they stated that the presence of other components, such as amino acids or proteins, in the culture medium, along with glucose, helps to promote the transition of *Candida* yeasts to a stable form. They found that in vitro intact biofilm formation was increased, especially in *C. albicans* isolates, especially in the medium supplemented with fetal bovine serum (FBS). They stated that a culture medium with 10 g/L glucose and 10% (v/v) FBS added is important for the biofilm production of *C. albicans* isolates in vitro. Considering the Konecná et al. [41] study, this study used SDB containing 8% glucose. Especially *C. parapsilosis* strains were determined to be strong biofilm producers in vitro. For this reason, analyses were performed using an SDB medium containing 8% glucose in the study. The agar disc diffusion method evaluated the antifungal resistance of 133 yeast isolates according to the NCCLS M44-A standard. Then, considering the agar disc diffusion results, the resistance of 20 yeast isolates to 5 antifungal agents was investigated according to the NCCLS M27-A standard by selecting isolates with strong biofilm-forming ability. Accordingly, 20 yeast isolates and two quality control strains isolated from the mouths of healthy young individuals and determined to be strong biofilm producers were found to be susceptible to fluconazole antifungal. It was determined that 14 isolates were sensitive to itraconazole, and three were dose-dependent on clotrimazole antifungal. However, it was determined that the results of the amphotericin B and nystatin gradient tests were outside the MIC values determined by the manufacturer's recommendations in control of the quality control strains. Therefore, these values need to be verified by different methods. Kuriyama et al. [4] obtained 618 *Candida* isolates from 559 patients admitted to Dental Hospitals in Cardiff, Glasgow, Belfast and London (Eastman) between 2000-2003. They evaluated the antifungal resistance of these isolates against amphotericin B, nystatin, fluconazole, itraconazole, ketoconazole, miconazole, and voriconazole using NCCLS M27-A guide broth microdilution method. They determined that 521 of the isolates they obtained were *C. albicans*, and 0.3% were resistant to fluconazole. They determined that the remaining 97 isolates were NCAC (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, other *Candida sp.*) species. They found that both *C. albicans* and NCAC isolates were susceptible to ketoconazole, miconazole and voriconazole antifungals. They determined that 23.7% of *C. glabrata* isolates were resistant to itraconazole. They reported little difference in the antifungal susceptibility of

*Candida* species isolated from patients who used and did not use antifungals before. Dhanasekaran et al. [42] evaluated 30 *Candida* isolates they isolated from dental plaque in terms of antifungal resistance against six clinically important antifungal agents such as amphotericin b, nystatin, clotrimazole, fluconazole, ketoconazole, and itraconazole by agar disc diffusion method. As a result, they determined that biofilm-forming isolates were significantly resistant to antifungal drugs compared to non-biofilm-forming *Candida* isolates. In our study, the antifungal susceptibility of only biofilm producer isolates was evaluated, and it was determined that they were susceptible to the azole group. The broth microdilution reference method, used to determine the MIC values of antimicrobial agents and adapted by CLSI, is a complex and time-consuming method to apply in the laboratory. Therefore, the gradient test method used to determine MIC values is the simple disk diffusion method. The results of this method have been used recently because they are compatible with liquid microdilution [1]. Koga-Ito et al. [43] evaluated the resistance to amphotericin B, 5-flucytosine, fluconazole, and itraconazole antifungals of 30 *C. albicans* isolated from denture-associated oral candidosis patients and 30 *C. albicans* isolates from control individuals using the CLSI reference method and gradient test method. The researchers found that the agreement between the two methods was 66.67% for amphotericin B, 65% for flucytosine, 53.33% for fluconazole, and 45% for itraconazole. The researchers stated that the gradient test method could be an alternative to the routinely used susceptibility test due to its simplicity and similarity of sensitivity. Song et al. [1] determined the antifungal resistance of 39 *C. albicans*, 5 *C. glabrata* and 3 *C. tropicalis* isolates they isolated from 45 patients with oral candidiasis and the *C. albicans* ATCC 90028 reference strain using the gradient test method. The MIC values against fluconazole, itraconazole, voriconazole and amphotericin B antifungals were determined by gradient test after 24 hours of incubation of each isolate on RPMI 1640 agar. They found that all *Candida* isolates were susceptible to amphotericin B and voriconazole. However, they determined that all five *C. glabrata* isolates were resistant to itraconazole, and two were resistant to fluconazole. In conclusion, the gradient test is a simple and effective method for antifungal susceptibility testing of *Candida* species isolated from patients with oral candidiasis. The results stated that amphotericin B and voriconazole are effective alternatives in treating oral candidiasis. Therefore, in our study, the sensitivity of biofilm producer yeasts isolated from the mouths of healthy individuals to antifungals was determined by a gradient test. CLSI has determined a cut-off value (ECV) for some *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, and *C. tropicalis*) species by evaluating the results of epidemiological studies. Accordingly, these *Candida* species were determined as  $S \leq 2$  and  $R > 4$  mg/ml for fluconazole and  $S \leq 1$  and  $R > 1$  mg/mL for amphotericin. In itraconazole antifungal,  $S \leq 0.06$  and  $R > 0.06$  mg/mL for *C. albicans*, *C. dubliniensis* and  $S \leq 0.125$  and  $R > 0.125$  mg/mL for *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* [44]. In line with these values, it was determined that 20 isolates were resistant to itraconazole and amphotericin B antifungals and sensitive to fluconazole antifungals. However, MIC values of amphotericin B antifungal need to be confirmed.

**Conclusion**

In summary, it was determined that the sensitivity of the TCP method, one of the three methods used to evaluate biofilm formation, is high. It was determined that 99.25% of the isolates formed biofilms with TCP. MICs of antifungals for oral yeast strains could be determined quickly and successfully against azole antifungals, except for amphotericin B and nystatin antifungals, using a simple gradient test method. In conclusion, biofilm formation as a virulence factor is important for human health, and more research is needed on opportunistic pathogenic fungi species found in both healthy and diseased individuals. In addition, further studies with more clinical isolates are required to investigate the antifungal resistance tendency in sick and healthy individuals. Finally, it is necessary to investigate the resistance of yeasts isolated from the mouths of diseased and healthy individuals to antifungals after forming a biofilm.

**Acknowledgments -**

**Funding/Financial Disclosure** This study was supported by Çanakkale Onsekiz Mart University Scientific Research Projects Coordination Unit with project number: THD-2020-3352.

**Ethics Committee Approval and Permissions** For this study, we received permission from the school administration and ethics committee approval from Çanakkale Onsekiz Mart University Clinical Research Ethics Committee (No: 18920478–050.01.04–E180031135).

**Conflict of Interests** The authors declared no conflict of interest.

**Authors Contribution** Gülçin ÖZCAN ATEŞ's contribution to the article is 70%, she planned the project, analyzed and wrote the article. Müşerref OTKUN's contribution to the article was 30%, she planned the project and wrote the article.

**References**

- [1] Song, Y. B., Suh, M. K., Ha, G. Y., & Kim, H. (2015). Antifungal susceptibility testing with etest for *Candida* species isolated from patients with oral candidiasis. *Annals of Dermatology*, 27(6), 715. <https://doi.org/10.5021/ad.2015.27.6.715>
- [2] Niimi, M., Firth, N. A., & Cannon, R. D. (2010). Antifungal drug resistance of oral fungi. *Odontology*, 98(1), 15-25. <https://doi.org/10.1007/s10266-009-0118-3>
- [3] Whaley, S. G., Berkow, E. L., Rybak, J. M., Nishimoto, A. T., Barker, K. S., & Rogers, P. D. (2017). Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-albicans *Candida* species. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173>
- [4] Kuriyama, T., Williams, D. W., Bagg, J., Coulter, W. A., Ready, D., & Lewis, M. A. O. (2005). In vitro susceptibility of oral *Candida* to seven antifungal agents. *Oral Microbiology and Immunology*, 20(6), 349-353. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2005.00236.x>

- [5] Jiao, Y., Tay, F. R., Niu, L. N., & Chen, J. H. (2019). Advancing antimicrobial strategies for managing oral biofilm infections. *International Journal of Oral Science*, 11(3), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0062-1>
- [6] Dhale, R. P., Ghorpade, M. V., & Dharmadhikari, C. A. (2014). Comparison of various methods used to detect biofilm production of *Candida* species. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 8(11), DC18. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/10445.5147>
- [7] Khatri, S., Sumana, M. N., Mahale, R. P., & Kishore, A. (2015). Analysing three different screening methods for biofilm formation in clinical isolates of *Candida*. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 4(83), 14515-14524. <https://doi.org/10.14260/jemds/2015/2065>
- [8] Sida, H., Shah, P., Pethani, J., Patel, L., & Shah, H. (2016). Study of biofilm formation as a virulence marker in *Candida* species isolated from various clinical specimens. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 5(5), 842-6. <http://journalsarchive.com/FILES/IJMSPH/04.%20Study%20of%20biofilm%20formation.pdf>
- [9] Shrestha, B. K., & Shakya, J. (2020). In-vitro evaluation of biofilm and hemolysis activity of *candida albicans* isolated from oral cavity. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 8(4), 394-399. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v8i4.32971>
- [10] Lewis, K. (2012). Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance. Anthony R.M. Coates (Ed), *Antibiotic Resistance*, (pp. 121-133). Springer
- [11] Martins, C. H. G., Pires, R. H., Cunha, A. O., Pereira, C. A. M., de Lacorte Singulani, J., Abrão, F., Moraes, T. D., & Mendes-Giannini, M. J. S. (2016). *Candida/Candida* biofilms. First description of dual-species *Candida albicans/C. rugosa* biofilm. *Fungal biology*, 120(4), 530-537. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.013>
- [12] Seneviratne, C. J., Wang, Y., Jin, L., Abiko, Y., & Samaranyake, L. P. (2010). Proteomics of drug resistance in *Candida glabrata* biofilms. *Proteomics*, 10(7), 1444-1454. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900611>
- [13] Tumbarello, M., Posteraro, B., Trecarichi, E. M., Fiori, B., Rossi, M., Porta, R., Donati, K. D. G., Sorda, M. L., Spanu, T., Fadda, G., Cauda, R., & Sanguinetti, M., (2007). Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(6), 1843-1850. <https://doi.org/10.1128/jcm.00131-07>
- [14] Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W., & Azeredo, J. (2011). Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. *Trends in Microbiology*, 19(5), 241-247. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.02.003>
- [15] Tumbarello, M., Fiori, B., Trecarichi, E. M., Posteraro, P., Losito, A. R., De Luca, A., Sanguinetti, M., Fadda, G., Cauda, R., & Posteraro, B. (2012). Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. *PloS One*, 7(3), e33705. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033705>
- [16] Kuramitsu, H. K., He, X., Lux, R., Anderson, M. H., & Shi, W. (2007). Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(4), 653-670. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00024-07>

- [17] Thein, Z. M., Seneviratne, C. J., Samaranyake, Y. H., & Samaranyake, L. P. (2009). Community lifestyle of *Candida* in mixed biofilms: a mini review. *Mycoses*, 52(6), 467-475. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2009.01719.x>
- [18] Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Periasamy, S., & Jakubovics, N. S. (2010). Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance. *Nature Reviews Microbiology*, 8(7), 471-480. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2381>
- [19] Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623-633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
- [20] Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection*, 18(5), 310-321. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.00>
- [21] Miquel, S., Lagrèfeuille, R., Souweine, B., & Forestier, C. (2016). Anti-biofilm activity as a health issue. *Frontiers in Microbiology*, 7, 592. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00592>
- [22] Özcan Ateş, G. (2020). *Ağızda Maya Yükünün Belirlenmesi ve İzole Edilen Candida Cinsi Mayaların Tanımlanması*. (Tez no: 621102) [Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi].
- [23] Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. *Journal of clinical pathology*, 42(8), 872-874. <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.42.8.872>
- [24] Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., & Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6), 996-1006. <https://doi.org/10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985>
- [25] Muadcheingka, T., & Tantivitayakul, P. (2015). Distribution of *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species in oral candidiasis patients: Correlation between cell surface hydrophobicity and biofilm forming activities. *Archives of Oral Biology*, 60(6), 894-901. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.03.002>
- [26] Kıvanç, M., & Er, S. (2020). Biofilm formation of *Candida* spp. isolated from the vagina and antibiofilm activities of lactic acid bacteria on the these *Candida* Isolates. *African Health Sciences*, 20(2), 641-648. <https://doi.org/10.4314/ahs.v20i2.12>
- [27] Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Apmis*, 115(8), 891-899. [https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm\\_630.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x)
- [28] National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2004). *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline*. (NCCLS Standard No: M44-A). <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m44/>
- [29] National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002). *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard*. (NCCLS Standard No. M27-A2). <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m44/>
- [30] Espinel-Ingroff, A., & Pfaller, M. A. (1995). Antifungal agents and susceptibility testing. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1405-1414.



- [31] Davey, K. G., Holmes, A. D., Johnson, E. M., Szekely, A., & Warnock, D. W. (1998). Comparative evaluation of FUNGITEST and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4), 926-930. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.4.926-930.1998>
- [32] Kronvall, G., & Karlsson, I. (2001). Fluconazole and Voriconazole Multidisk Testing of *Candida* Species for Disk Test Calibration and MIC Estimation. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(4), 1422-1428. <https://doi.org/10.1128/jcm.39.4.1422-1428.2001>
- [33] Blignaut, E., Messer, S., Hollis, R. J., & Pfaller, M. A. (2002). Antifungal susceptibility of South African oral yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 44(2), 169-174. [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(02\)00440-6](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(02)00440-6)
- [34] Gogoi, M., Sharma, A., & Hazarika, N. (2015). Biofilm formation by bacterial isolates from patients on indwelling medical devices. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 33(2), 319. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.154896>
- [35] Pathak, A. K., Sharma, S., & Shrivastva, P. (2012). Multi-species biofilm of *Candida albicans* and non-*Candida albicans* *Candida* species on acrylic substrate. *Journal of Applied Oral Science*, 20(1), 70-75. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572012000100013>
- [36] Mohandas, V., & Ballal, M. (2011). Distribution of *Candida* species in different clinical samples and their virulence: biofilm formation, proteinase and phospholipase production: a study on hospitalized patients in southern India. *Journal of Global Infectious Diseases*, 3(1), 4. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.77288>
- [37] Weerasekera, M. M., Wijesinghe, G. K., Jayarathna, T. A., Gunasekara, C. P., Fernando, N., Kottegoda, N., & Samaranyake, L. P. (2016). Culture media profoundly affect *Candida albicans* and *Candida tropicalis* growth, adhesion and biofilm development. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(11), 697-702. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160294>
- [38] McCourtie, J., MacFarlane, T. W., & Samaranyake, L. P. (1985). Effect of chlorhexidine gluconate on the adherence of *Candida* species to denture acrylic. *Journal of Medical Microbiology*, 20(1), 97-104. <https://doi.org/10.1099/00222615-20-1-97>
- [39] Samaranyake, L. P., MacFarlane, T. W., Lamey, P. J., & Ferguson, M. M. (1986). A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 15(7), 386-388. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1986.tb00646.x>
- [40] Kucharíková, S., Tournu, H., Lagrou, K., Van Dijck, P., & Bujdakova, H. (2011). Detailed comparison of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms under different conditions and their susceptibility to caspofungin and anidulafungin. *Journal of Medical Microbiology*, 60(9), 1261-1269. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.032037-0>
- [41] Konečná, K., Němečková, I., Diepoltová, A., Vejsová, M., & Jand'ourek, O. (2021). The Impact of Cultivation Media on the In Vitro Biofilm Biomass Production of *Candida* spp. *Current Microbiology*, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02452-6>
- [42] Dhanasekaran, D., Vinothini, K., Latha, S., Thajuddin, N., & Panneerselvam, A. (2014). Human dental biofilm: Screening, characterization, in vitro biofilm formation and antifungal resistance of

*Candida* spp. *The Saudi Journal for Dental Research*, 5(1), 55-70.  
<https://doi.org/10.1016/j.ksujds.2013.10.001>

- [43] Koga-Ito, C. Y., Lyon, J. P., & Resende, M. A. D. (2008). Comparison between E-test and CLSI broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* oral isolates. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 50(1), 7-10. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000100002>
- [44] Arendrup, M. C., Friberg, N., Mares, M., Kahlmeter, G., Meletiadis, J., Guinea, J., Kahlmeter, G., Andersen, C.T., Arikan-Akdagli, S., Barchiesi, F., Chryssanthou, E., Hamal, P., Järv, H., Klimko, N., Kurzai, O., Lagrou, K., Lass-Flörl, C., Matos, T., Muehlethaler, K., Rogers, T. R., Velegaki, A., & Arikan, S. (2020). How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). *Clinical Microbiology And Infection*, 26(11), 1464-1472. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.007>

**Metal Levels in *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 and Their Health Risk Appraisal for Consumers****Levent BAT<sup>1</sup>  Öztekin YARDIM<sup>1</sup>  and Ayşah ÖZTEKİN<sup>1</sup> **

How to cite: Bat, L., Yardim, O., & Oztekin, A. (2023). Metal levels in *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 and their health risk appraisal for consumers. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 19-29. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1311182>

**Research Article****Corresponding Author**  
Levent BAT  
leventbat@gmail.com**ORCID of the Authors**  
L.B: 0000-0002-2289-6691  
Ö.Y: 0000-0002-7753-5922  
A.Ö: 0000-0002-3726-7134**Received:** 07.06.2023**Accepted:** 16.06.2023**Abstract**

This research was carried out to determine the levels of Cd, Hg, Pb, As, Al, Cu, Fe and Zn in the muscles of *Trachurus mediterraneus ponticus*. The fish samples were collected from the Samsun coasts of the Black Sea between September and December in both 2021 and 2022 and were analysed by using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrophotometer. The metal values in the muscle tissues of horse mackerel were below the permissible values. Zn has the higher mean concentration (5.475 mg/kg wet weight (w.w.)) followed by Fe (mean concentration of 3.887 mg/kg w.w.) and Cu (mean concentration of 0.178 mg/kg w.w.) The Cd was found at the lowest (0.0077 mg/kg w.w.) mean concentration followed by Hg (0.0096 mg/kg w.w.), Pb (0.0453 mg/kg w.w.), and Al (0.1077 mg/kg w.w.). The target hazard quotients (THQs) for individual metals and the total target hazard quotients (TTHQs) were <1 in horse mackerel indicating no health risk for consumption by infants, children, and adults. The risk indexes (RIs) for Pb were from  $1.93 \times 10^{-7}$  for adults in 2022 to  $5.75 \times 10^{-7}$  for infants in 2021, indicating their insignificant carcinogenic risks, whereas for As RIs were from  $8.61 \times 10^{-5}$  for adults in 2022 to  $2.29 \times 10^{-4}$  for infants in 2021, indicating their tolerable or acceptable carcinogenic risks.

**Keywords:** Horse mackerel, toxic metals, target hazard quotient, risk index***Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 Türündeki Metal Seviyeleri ve Tüketiciler için Sağlık Riski Değerlendirmesi**<sup>1</sup>University of Sinop, Fisheries Faculty, Department of Hydrobiology, 57000 Sinop, Türkiye**Öz**

Bu araştırmada, *Trachurus mediterraneus ponticus* türünün kaslarındaki Cd, Hg, Pb, As, Al, Cu, Fe ve Zn düzeylerini belirlemek amaçlanmıştır. Karadeniz'in Samsun kıyılarından 2021 ve 2022 yılları Eylül ve Aralık ayları arasında toplanan balık örnekleri İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrofotometresi kullanılarak analiz edilmiştir. İstavritin kas dokularındaki metal değerleri izin verilen değerlerin altında bulunmuştur. Zn daha yüksek ortalama konsantrasyona sahip olarak bulunmuş (5.475 mg/kg yaş ağırlık (y.a.), bunu Fe (ortalama konsantrasyon 3.887 mg/kg y.a) ve Cu (ortalama konsantrasyon 0.178 mg/kg ya) izlemiştir. Cd en düşük konsantrasyon (0.0077 mg/kg y.a.) olarak bulunmuş, bunu Hg (0.0096 mg/kg y.a.), Pb (0.0453 mg/kg y.a.) ve Al (0.1077 mg/kg y.a.) izlemiştir. Metaller için tek tek hedef tehlike katsayıları (THQ'lar) ve toplam hedef tehlike katsayıları (TTHQ'lar) <1 olarak bulundu ve bebekler, çocuklar ve yetişkinler tarafından tüketilmesi için sağlık riski

This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution  
4.0 International License

olmadığını göstermektedir. Pb için risk indeksleri (RI'ler) 2022'de yetişkinler için  $1.93 \times 10^{-7}$  2021'de bebekler için  $5.75 \times 10^{-7}$  olarak önemsiz kanserojen risklerini gösterirken, As için RI'lar 2022'de yetişkinler için  $8.61 \times 10^{-5}$ 'ten 2021'de bebekler için  $2.29 \times 10^{-4}$ 'a olarak tolere edilebilir veya kabul edilebilir kanserojen risklerini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İstavrit, toksik metaller, hedef tehlike oranı, risk indeksi

## Introduction

Fish is an important nutrient source, such as protein, omega-3 fatty acids, and a range of minerals and vitamins [1, 2]. Many health organizations recommend that people include a serving of fish in their diet at least a couple of times per week [3]. However, it is crucial to take into account potential risks associated with consuming fish, such as the potential for exposure to pollutants including metals. Fish consumption guidelines are often developed by health organizations to help people balance the potential health benefits of fish consumption with these risks. For example, the Food and Agriculture Organization (FAO), the World Health Organization (WHO) [4] and European Commission (EC) Regulation [5] have developed guidelines for fish consumption that provide recommendations on the species and amounts of fish that are safe to eat. These guidelines consider the contaminant levels including metals species in different fish and the potential health effects caused by exposure to these substances. It is important to follow the guidelines set by health organizations and to be mindful of the potential dangers caused by the consumption of fish. The toxic metals, including non-essential metals, such as cadmium (Cd), mercury (Hg), lead (Pb), arsenic (As), and aluminium (Al) can have significant impacts on fish. These metals can be dangerous for fish species at extremely low amounts and can accumulate in the tissues of fish through the process of biomagnification. Likewise, essential iron (Fe), copper (Cu), and zinc (Zn) can have the same harmful effects on fish at high concentrations. Whether essential or not metals can have a range of negative effects on fish, and exposure to these metals in contaminated seawaters can be especially harmful to the health of people via consumption of contaminated fish species. Principally, it is crucial to consider the potential risks associated with fish consumption and to take steps to reduce the risk of exposure to contaminants, while also taking advantage of the potential health benefits of including fish in the diet. Especially in the coastal ecosystems of the marine environment, fish accumulates metals which fish may absorb metals from the water directly or through their feed. The metals are natural components and non-biodegradable chemicals occurring in the marine environment naturally or as results of anthropogenic activities such as discharges from agricultural, touristic, fisheries and urban sewage, domestic and industrial wastes. This study is aimed to determine the concentration of cadmium (Cd), mercury (Hg), lead (Pb), arsenic (As), aluminium (Al), copper (Cu), iron (Fe) and zinc (Zn) in the muscle tissue of *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 captured in Samsun coastal waters of the Black Sea and, find whether the metal concentrations are in the allowable restricts informed by the national and international

organizations. In addition, health risk assessment analyses were conducted for people consuming this fish. The horse mackerel has been one of the commercially significant fish species in the Black Sea. In 2021, 19590.1 tons of this fish were captured in the Turkish Black Sea [6].

## **Materials and Methods**

### **Sample Collection**

Mediterranean horse mackerel were captured with the help of the local fisherman between September and December in both 2021 and 2022. At least 25 samples (16±3 lengths; 33±5 weights) collected in each sample washed, labelled, put plastic bags, and stored at -12 °C in a deep freezer until analysis.

### **Determination of Metals**

The muscle tissues of the fish samples were removed with a plastic knife. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) was used for metal levels. m-AOAC 999.10- method was performed for metal analysis in the horse mackerel by authorised environment commercial analysis laboratory services trade corporation (TÜRKAK Test TS EN ISO IEC 17025 AB-0364-T). European Standard method (EN 15763) was used [7]. The standard reference material (SRM) used in this study for quality control was lobster TORT-2 [7]. The SRM's component accuracy varied by no more than 10%. The data were analysed using the mean values, with each analysis being done in triplicate. The results were presented in mg/kg wet weight.

### **Estimated Daily Intake**

The equation below gives the estimated daily intake (mg/kg/day):

$$EDI = \frac{C_{samples} \times CR}{Bwt}$$

where:  $C_{samples}$  is the mean metal concentration in horse mackerel samples (mg/kg), CR is the daily fish consumption rate and Bwt represents the mean body weight. It is well known that consumers' daily fish intake varies depending on their weight and age groups [7, 8, 9]. The calculations in this study were based on three groups and the data from the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation [10]. According to UNSCEAR [10], the average body weights of infants, children, and adults were 10, 30, and 70 kg, respectively. 5, 10, and 15 kg fish are consumed yearly by infants, children, and adults, respectively.

### **Hazard Quotient**

The hazard quotient (HQ), which can be calculated as in the following equation, was used to estimate the noncarcinogenic health risks for each element in *Trachurus mediterraneus ponticus* samples [7, 8, 9]:

$$HQ = \frac{EDI}{Rf.D.}$$

where Rf. D. is the oral reference dose which shows the approximated maximal allowable health, risk related with daily intake of metals in fish by people, expressed in mg/kg/day. The total hazard quotient accurately captures the collective contribution of the investigated elements to the full potential threat to human well-being. The following are some mathematical ways to express the total hazard quotient (THQ):

$$THQ = \sum HQ$$

In this study, it was assumed that the cumulative effects of metals on one target organ were inversely correlated with the likelihood of a health risk. While  $THQ < 1$  suggests no possible health risk,  $THQ > 1$  discloses possible chronic danger.

### Risk Index

The increasing lifetime cancer risk is one metric to measure the carcinogenic risk [7, 8, 9]. The equation below represents the risk index (RI) in terms of:

$$RI = EDI \times SF$$

The risk associated with a lifetime average contaminant dose is determined by the slope factor (SF).

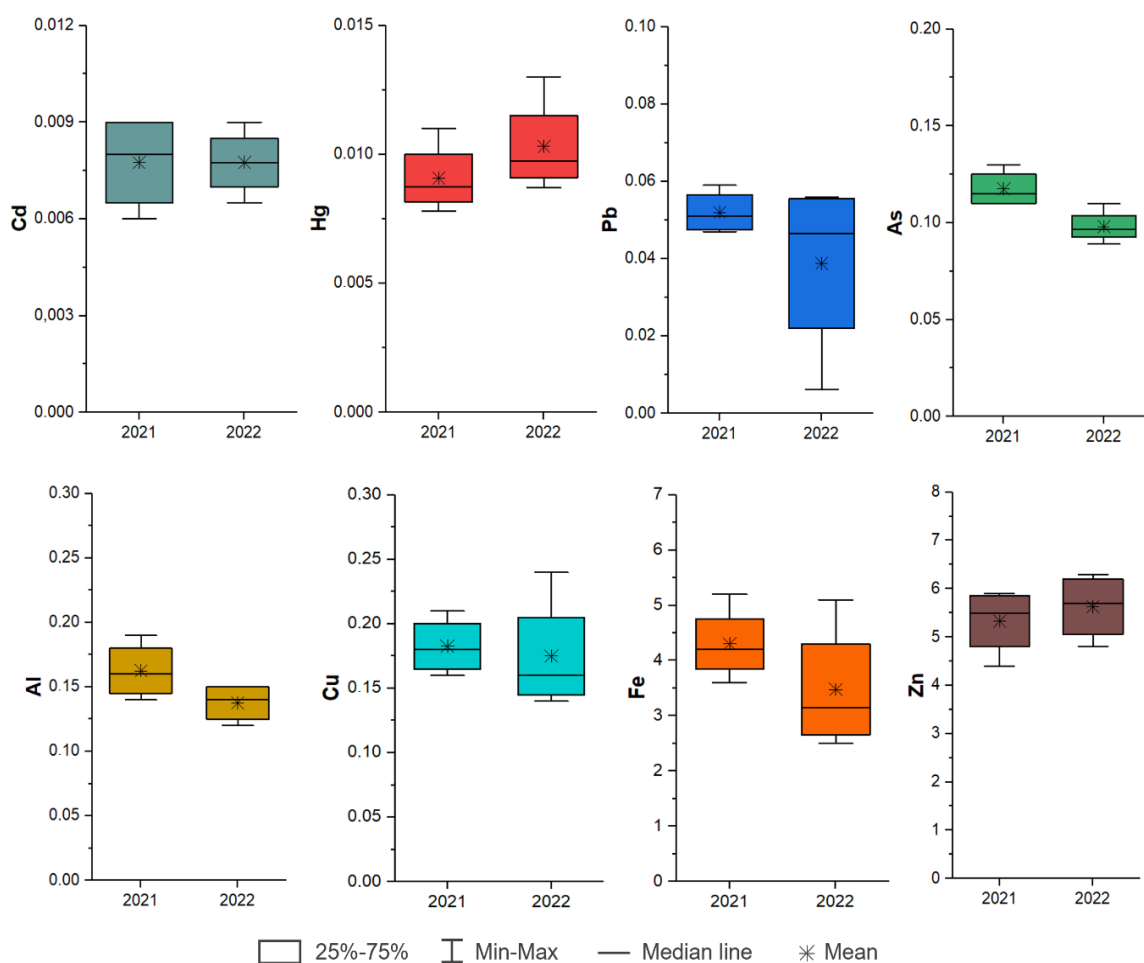
### Statistical Analysis

During the statistical analysis, the non-parametric tests were implemented. The differences in the concentrations of heavy metals between the years (2021-2022) were as investigated with Mann Whitney-U test. The statistical significance level,  $P$  value, was set as 0.05.

### Results and Discussion

Results of the study showed that Zn has the higher concentration (mean 5.475 mg/kg w.w.) among the other metals (Figure 1), Zn followed by Fe with a mean concentration of 3.887 mg/kg w.w. and Cu with mean concentration of 0.178 mg/kg w.w. The Cd was found at the lowest (0.0077 mg/kg w.w.) mean concentration followed by Hg (0.0096 mg/kg w.w.), Pb (0.0453 mg/kg w.w.), and Al (0.1077 mg/kg w.w.). There were no statistical differences between the years ( $P < 0.05$ ).





**Figure 1.** The elements in the muscle tissues of *Trachurus mediterraneus ponticus*.

Cd, Hg, Pb and As have been the broadest heavy metals that caused human threatening [11]. Cd, Pb and Hg are referred to as the "toxic trio" owing to their hazardous characteristics. These xenobiotics are extremely nephrotoxic, and high levels can result in renal failure [12]. European Commission [5] and Official Gazette of the Republic of Türkiye [13] determined the maximum level of Cd, Hg and Pb in fish as 0.05, 0.5 and 0.3 mg mg/kg w.w., respectively. Cd is an extremely toxic metal for both fish and humans. Cd accumulates in fish and is the primary source of human exposure through consumption. Cd had the highest level in this study, which was 0.009 mg/kg w.w., but it was below the safe limit. However, in terms of Cd, eating horse mackerel poses no threat to the general public's health. The mercury, an extremely hazardous metal, is mostly obtained through dietary sources and is generally acknowledged to be fish. In this study, horse mackerel had the maximum Hg, which was 0.011 mg/kg w.w. in September 2021. The value that was obtained was roughly 45 times below the safe limit value. The highest value of Pb, one of the toxic metals, found in the current study is 0.059 mg/kg w.w. in December 2021. Pb value was below the allowable limit in [5, 11]. The consumption of horse mackerel poses no risk to the general public's health. The highest concentration of As was 0.13 mg/kg w.w. in the current study in November 2021. This value was below the safe limit, 1 mg/kg w.w., specified in Official Gazette of the

Republic of Türkiye [14]. The consumption of horse mackerel poses is no risk for people, in terms of As. Cu is an essential trace element that is found in little amounts in many different types of cells, but it is toxic if taken in large quantities. The recommended maximum level of Cu is 20 mg Cu/kg by Official Gazette of the Republic of Türkiye [14] and the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries [15]. In this investigation, the highest Cu level was found at 0.24 mg/kg w.w. in September 2022. The maximum Cu was found almost 83 times below the safe limit concentration. It can be claimed that horse mackerel consumption poses no concern to the general public's health, in terms of Cu. Zn is not considered to be toxic to humans, but extremely high exposure levels may have negative consequences. According to the Official Gazette of the Republic of Türkiye [14] and the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries [15], Zn level recommended is 50 mg/kg w.w. The highest Zn concentration was 6.3 mg/kg w.w. in September 2022 and this amount was quite low compared to the safe limit. Thus, consuming horse mackerel does not cause any risk to public health in terms of Zn. No accepted value for Fe detected in fish is given in the regulations. In this current study, however, the highest value in horse mackerel was determined as 6.3 mg/kg w.w. in September 2022. Metal concentration may show variations among fish species depending on their habitats, age, size, and feeding habits [16-19]. Horse mackerel is pelagic and carnivorous and usually feeds on small crustaceans [20]. Comparing the present results with previous studies in the Black Sea, it is noted that the metals concentrations in this study were generally lower or similar found in the scientific literature on the sea (Table 1). The metal levels in horse mackerel are below the allowable limit by national and international organizations. It was found that the EDI and EWI values and THQs are below levels that are suitable for human consumption in fish samples (TTHQs<1) for 2021 and 2022 (Table 2). The RIs for Pb were from  $1.93 \times 10^{-7}$  for adults in 2022 to  $5.75 \times 10^{-7}$  for infants in 2021, indicating their insignificant carcinogenic risks, whereas for As RIs were from  $8.61 \times 10^{-5}$  for adults in 2022 to  $2.29 \times 10^{-4}$  for infants in 2021, indicating their tolerable or acceptable carcinogenic risks. In conclusion, the metal levels in the edible part of horse mackerel in the Black Sea are safe for consumers.

**Table 1.** Comparison of metal amounts in *Trachurus mediterraneus ponticus* with the literature as ppm (w.w. = wet weight.; d.w. = dry weight.; BDL = Below limit of detections).

Location	Cd	Hg	Pb	As	Al	Cu	Fe	Zn	References
Bulgaria Black Sea	w.w. 0.008±0.001	0.16±0.02	0.06±0.01	0.73±0.05		0.56±0.04	4.2±0.3	8.5±0.6	[21]*
Bulgaria Black Sea	w.w. 0.004±0.001	0.09±0.010	0.04±0.01	1.42±0.130		0.42±0.03		6.4±0.5	[22]
Bulgaria Black Sea	w.w. 0.007±0.001	0.08±0.01	0.05±0.01	0.38±0.02		0.45±0.03		9±1	[23]
Romania Black Sea	w.w. 0.0163±0.0075		0.1023±0.045 2			0.69±0.05			[24]
Türkiye Black Sea	d.w.		<0.001	4.40		0.40	8.52	7.76	[25]
Türkiye Southwestern Black Sea	d.w. 0.25±0.03		0.02±0.01	2.58±0.10		1.71±0.04		18.13±0.95	[26]
Sinop/Türkiye Black Sea	w.w. <0.02	<0.05	<0.05	0.39	<0.05	0.67	2.2	24.7	[27]
Türkiye Black Sea	w.w. BLD	BLD	BLD	BLD		0.235	6.28	5.93	[28]
Türkiye/ Sinop Black Sea	w.w. <0.002-0.021	<0.001-0.06	0.014-0.15						[9]
Türkiye/Samsun Black Sea	w.w. 0.0078±0.0015	0.009±0.001	0.052±0.006	0.118±0.010	0.163±0.022	0.183±0.022	4.3±0.67	5.33±0.69	This study <sup>α</sup>
	0.0077±0.0010	0.01±0.002	0.039±0.023	0.098±0.009	0.138±0.015	0.175±0.045	3.47±1.16	5.63±0.70	This study <sup>β</sup>

\*Whole fish, <sup>α</sup>The fish sampling were collected in 2021, <sup>β</sup>The fish sampling were collected in 2022

Table 2. The estimated daily intakes (EDIs), the estimated weekly intakes (EWIs), target hazard quotients (THQs), total target hazard quotients (TTHQs) of Cd, Hg, As, Al, Cu, Fe and Zn, as well as cancer risk index (RI) of Pb and As due to *Trachurus mediterraneus* ponticus consumption for infants, children, and adults

Metal	Years	EDI			EWI			THQ			RI		
		(infants)	(children)	(adults)	(infants)	(children)	(adults)	(infants)	(children)	(adults)	(infants)	(children)	(adults)
Cd	2021	1.01x10 <sup>-5</sup>	6.98x10 <sup>-6</sup>	4.54x10 <sup>-6</sup>	7.10x10 <sup>-5</sup>	4.88x10 <sup>-5</sup>	3.18x10 <sup>-5</sup>	1.01x10 <sup>-2</sup>	6.98x10 <sup>-3</sup>	4.54x10 <sup>-3</sup>			
	2022	1.00x10 <sup>-5</sup>	6.93x10 <sup>-6</sup>	4.51x10 <sup>-6</sup>	7.01x10 <sup>-5</sup>	4.85x10 <sup>-5</sup>	3.16x10 <sup>-5</sup>	1.00x10 <sup>-2</sup>	6.93x10 <sup>-3</sup>	4.51x10 <sup>-3</sup>			
Hg	2021	1.18x10 <sup>-5</sup>	8.17x10 <sup>-6</sup>	5.32x10 <sup>-6</sup>	8.26x10 <sup>-5</sup>	5.72x10 <sup>-5</sup>	3.72x10 <sup>-5</sup>	3.93x10 <sup>-2</sup>	2.72x10 <sup>-2</sup>	1.77x10 <sup>-2</sup>			
	2022	1.34x10 <sup>-5</sup>	9.27x10 <sup>-6</sup>	6.03x10 <sup>-6</sup>	9.37x10 <sup>-5</sup>	6.49x10 <sup>-5</sup>	4.22x10 <sup>-5</sup>	4.46x10 <sup>-2</sup>	3.09x10 <sup>-2</sup>	2.01x10 <sup>-2</sup>			
Pb	2021	6.76x10 <sup>-5</sup>	4.68x10 <sup>-5</sup>	3.05x10 <sup>-5</sup>	4.73x10 <sup>-4</sup>	3.28x10 <sup>-4</sup>	2.13x10 <sup>-4</sup>				5.75x10 <sup>-7</sup>	3.98x10 <sup>-7</sup>	2.59x10 <sup>-7</sup>
	2022	5.04x10 <sup>-5</sup>	3.49x10 <sup>-5</sup>	2.27x10 <sup>-5</sup>	3.53x10 <sup>-4</sup>	2.44x10 <sup>-4</sup>	1.59x10 <sup>-4</sup>				4.28x10 <sup>-7</sup>	2.97x10 <sup>-7</sup>	1.93x10 <sup>-7</sup>
As	2021	1.53x10 <sup>-4</sup>	1.06x10 <sup>-4</sup>	6.88x10 <sup>-5</sup>	1.07x10 <sup>-3</sup>	7.40x10 <sup>-4</sup>	4.82x10 <sup>-4</sup>	5.09x10 <sup>-1</sup>	3.53x10 <sup>-1</sup>	2.29x10 <sup>-1</sup>			
	2022	1.27x10 <sup>-4</sup>	8.82x10 <sup>-5</sup>	5.74x10 <sup>-5</sup>	8.92x10 <sup>-4</sup>	6.17x10 <sup>-4</sup>	4.02x10 <sup>-4</sup>	4.25x10 <sup>-1</sup>	2.94x10 <sup>-1</sup>	1.91x10 <sup>-1</sup>			
Al	2021	2.11x10 <sup>-4</sup>	1.46x10 <sup>-4</sup>	9.52x10 <sup>-5</sup>	1.48x10 <sup>-3</sup>	1.02x10 <sup>-3</sup>	6.66x10 <sup>-4</sup>	2.11x10 <sup>-4</sup>	1.46x10 <sup>-4</sup>	9.52x10 <sup>-5</sup>			
	2022	1.79x10 <sup>-4</sup>	1.24x10 <sup>-4</sup>	8.05x10 <sup>-5</sup>	1.25x10 <sup>-3</sup>	8.66x10 <sup>-4</sup>	5.64x10 <sup>-4</sup>	1.79x10 <sup>-4</sup>	1.24x10 <sup>-4</sup>	8.05x10 <sup>-5</sup>			
Cu	2021	2.37x10 <sup>-4</sup>	1.64x10 <sup>-4</sup>	1.07x10 <sup>-4</sup>	1.66x10 <sup>-3</sup>	1.15x10 <sup>-3</sup>	7.48x10 <sup>-4</sup>	5.93x10 <sup>-3</sup>	4.11x10 <sup>-3</sup>	2.67x10 <sup>-3</sup>			
	2022	1.98x10 <sup>-3</sup>	1.58x10 <sup>-4</sup>	1.03x10 <sup>-4</sup>	1.38x10 <sup>-2</sup>	1.10x10 <sup>-3</sup>	7.18x10 <sup>-4</sup>	4.94x10 <sup>-2</sup>	3.94x10 <sup>-3</sup>	2.56x10 <sup>-3</sup>			
Fe	2021	5.59x10 <sup>-3</sup>	3.87x10 <sup>-3</sup>	2.52x10 <sup>-3</sup>	3.91x10 <sup>-2</sup>	2.71x10 <sup>-2</sup>	1.76x10 <sup>-2</sup>	7.99x10 <sup>-3</sup>	5.53x10 <sup>-3</sup>	3.60x10 <sup>-3</sup>			
	2022	4.52x10 <sup>-3</sup>	3.13x10 <sup>-3</sup>	2.04x10 <sup>-3</sup>	3.16x10 <sup>-2</sup>	2.19x10 <sup>-2</sup>	1.42x10 <sup>-2</sup>	6.45x10 <sup>-3</sup>	4.47x10 <sup>-3</sup>	2.91x10 <sup>-3</sup>			
Zn	2021	6.92x10 <sup>-3</sup>	4.79x10 <sup>-3</sup>	3.12x10 <sup>-3</sup>	4.85x10 <sup>-2</sup>	3.35x10 <sup>-2</sup>	2.18x10 <sup>-2</sup>	2.31x10 <sup>-2</sup>	1.60x10 <sup>-2</sup>	1.04x10 <sup>-2</sup>			
	2022	7.31x10 <sup>-3</sup>	5.06x10 <sup>-3</sup>	3.29x10 <sup>-3</sup>	5.12x10 <sup>-2</sup>	3.54x10 <sup>-2</sup>	2.31x10 <sup>-2</sup>	2.44x10 <sup>-2</sup>	1.69x10 <sup>-2</sup>	1.10x10 <sup>-2</sup>			
TTHQ	2021							<b>0.5958</b>	<b>0.4125</b>	<b>0.2684</b>			
	2022							<b>0.5598</b>	<b>0.3572</b>	<b>0.2325</b>			

## Conclusion

In the current study, the essential and non-essential metal levels in horse mackerel have been analysed. The results of metals levels in the fish samples were not exceeded the allowable limits set for these metals. The results of this study are found lower recommended values. All of the metals that were taken into consideration, TTHQs were below the value of 1 for infants, children, and adults in 2021 and 2022, hence the metals in horse mackerel do not appear to be toxic or dangerous for consumers.

## Acknowledgments -

**Funding/Financial Disclosure** The authors have no received any financial support for the research, authorship, or publication of this study.

**Ethics Committee Approval and Permissions** The study does not require ethics committee permission or any special permission.

**Conflict of Interests** The authors declare no conflict of interest.

**Authors Contribution** All authors read and approved the final manuscript.

## References

- [1] European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Committee. (2015). *Statement on the benefits of fish/seafood consumption compared to the risks of methylmercury in fish/seafood*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3982>
- [2] Bat, L. (2019). One health: the interface between fish and human health. *Current World Environment*, 14(3), 355. <http://dx.doi.org/10.12944/CWE.14.3.04>
- [3] European Food Safety Authority (EFSA) Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). (2014). *Scientific Opinion on health benefits of seafood (fish and shellfish) consumption in relation to health risks associated with exposure to methylmercury*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3761>
- [4] Food and Agriculture Organization/ World Health Organization (FAO/WHO). (2011). *Food standards programme codex committee on contaminants in foods. Fifth Session Codex Alimentarius Commission*. file:///C:/Users/Hp/Downloads/REP11\_CFe%20(4).pdf
- [5] European Commission (EC). (2006). *Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs*. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF>
- [6] Turkish Statistical Institute. (TURKSTAT). (2022). *Fishery Products, 2021, No: 45745*. Available at: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Fishery-Products-2021-45745>
- [7] Bat, L., Sahin, F., Bhuyan, M. S., Arici, E., & Oztekin, A. (2022). Metals in wild and cultured *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) from fish markets in Sinop: consumer's health risk assessment. *Biological Trace Element Research*, 200(11), 4846-4854. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-03064-8>
- [8] Bat, L., Oztekin, A., Arici, E., Şahin, F., & Bhuyan, M. S. (2022). Trace element risk assessment for the consumption of *Sarda sarda* (Bloch, 1793) from the mid-South Black Sea coastline. *Water, Air, & Soil Pollution*, 233(11), 441. <https://doi.org/10.1007/s11270-022-05918-w>

- [9] Bat, L., Sahin, F., Oztekin, A., & Arici, E. (2022). Toxic metals in seven commercial fish from the Southern Black Sea: Toxic risk assessment of eleven-year data between 2009 and 2019. *Biological Trace Element Research*, 200(2), 832-843. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02684-4>
- [10] United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR). (2010). *Sources and effects of ionizing radiations, UNSCAR 2008 Report to General Assembly with Scientific Annexes*. [https://www.unscear.org/unscear/en/publications/2008\\_1.html](https://www.unscear.org/unscear/en/publications/2008_1.html)
- [11] Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 643972. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>.
- [12] Wilk, A., Romanowski, M., & Wiszniewska, B. (2021). Analysis of cadmium, mercury, and lead concentrations in erythrocytes of renal transplant recipients from northwestern Poland. *Biology*, 10(1), 62. <https://doi.org/10.3390/biology10010062>
- [13] Official Gazette of Republic of Türkiye (2011). *Turkish food codex contains regulation*. Issue: 28157. (in Turkish).
- [14] Official Gazette of the Republic of Türkiye (1995). *Acceptable chemical, toxicological and microbiological values in live (fresh), chilled and frozen crustaceans and molluscs*. (Communiqué no: 95/6533), Issue: 22223. (in Turkish).
- [15] The Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF). (1995). *Monitoring and surveillance of nonradioactive contaminants in the aquatic environment and activities regulating the disposal wastes at sea, of 1993*. Directorate of Fisheries research, Lowestoft, Aquatic Environment Monitoring Report No.44.
- [16] Ahmed, Q., Bat, L., & Yousuf, F. (2015). Heavy metals in *Terapon puta* (Cuvier, 1829) from Karachi coasts, Pakistan. *Journal of Marine Biology*, 132768. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/132768>
- [17] Ahmed, Q., & Bat, L. (2015a). Potential risk of some heavy metals in *Pampus chinensis* (Euphrasen) Chinese silver pomfret Stromateidae collected from Karachi Fish Harbour, Pakistan. *International Journal of Marine Science*, 5(21), 1-5.
- [18] Ahmed, Q., & Bat, L. (2015b). Comparison of Pb and Cd concentration in tissues of fish *Alepes djedaba* (Forsskal, 1775) collected from Karachi fish harbour. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 2(4), 93-96.
- [19] Ahmed, Q., & Bat, L. (2017). Heavy metal levels in different sizes and tissues of *Drepane longimana* (Bloch & Schneider, 1801) from Arabian Sea. *Journal of Coastal Life Medicine*, 5(12), 505-509.
- [20] Froese, R. & Pauly, D. (2023, May 02). World Wide Web electronic publication. <https://www.fishbase.se/summary/citation.php>
- [21] Stancheva, M., Makedonski, L., & Peycheva, K. (2014). Determination of heavy metal concentrations of most consumed fish species from Bulgarian Black Sea coast. *Bulgarian Chemical Communication*, 46(1), 195-203.
- [22] Peycheva, K., Stancheva, M., Georgieva, S., & Makedonski, L. (2017). Heavy metals in water, sediments and marine fishes from Bulgarian Black Sea. In *Proceedings of International Conference*

*"Managinag risks to coastal regions and communities in a changinag world"*(EMECS'11-SeaCoasts XXVI). Academus Publishing.

- [23] Makedonski, L., Peycheva, K., & Stancheva, M. (2017). Determination of heavy metals in selected black sea fish species. *Food Control*, 72, 313-318. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.024>
- [24] Plavan, G., Jitar, O., Teodosiu, C., Nicoara, M., Micu, D., & Strungaru, S. A. (2017). Toxic metals in tissues of fishes from the Black Sea and associated human health risk exposure. *Environmental science and pollution research*, 24, 7776-7787. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8442-6>
- [25] Görür, F. K., Keser, R., Akçay, N., & Dizman, S. (2012). Radioactivity and heavy metal concentrations of some commercial fish species consumed in the Black Sea Region of Turkey. *Chemosphere*, 87(4), 356-361. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.022>
- [26] Alkan, N., Alkan, A., Gedik, K., & Fisher, A. (2016). Assessment of metal concentrations in commercially important fish species in Black Sea. *Toxicology and Industrial Health*, 32(3), 447-456. <https://doi.org/10.1177/0748233713502840>
- [27] Bat, L., Öztekin, H. C., & Üstün, F. (2015). Heavy metal levels in four commercial fishes caught in Sinop coasts of the Black Sea, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15(4), 399-405. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v15\\_2\\_25](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v15_2_25)
- [28] Bat, L., Arici, E., & Öztekin, A. (2017). Metal levels in commercial pelagic fishes and their contribution to their exposure in Turkish people of the Black Sea. *Journal of Fisheries Research* 1(1):1-4.



## Antalya İli Finike İlçesinde Marul Üretim Alanlarında Marul Mozaik Virüsü'nün Belirlenmesi

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

How to cite: Çulal Kılıç, H., & Erdaş, E. (2023). Antalya ili Finike ilçesinde marul üretim alanlarında marul mozaik virüsü'nün belirlenmesi. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 30-38. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1254988>

### Araştırma Makalesi

#### Sorumlu Yazar

Handan ÇULAL KILIÇ  
handankilic@isparta.edu.tr

#### Yazarlara ait ORCID

H.Ç.K: 0000-0003-4020-9442  
E.E: 0000-0001-5693-2585

Received: 22.02.2023

Accepted: 20.06.2023

### Öz

Bu çalışmada, Antalya ili Finike ilçesi marul üretim alanlarında Marul mozaik virüsü (Lettuce mosaic virus: LMV)'nün belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Virüsün tanılama çalışmalarında DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ve IC-RT-PCR (Immunocapture Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemleri kullanılmıştır. Bu amaçla araştırma alanından 92 marul örneği toplanmıştır. Örnekler LMV etmenine spesifik antبادiler kullanılarak DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur. DAS-ELISA yöntemine göre; 5 örnek LMV ile enfekteli bulunmuştur. DAS-ELISA testinde pozitif çıkan 5 örnek IC-RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır. IC-RT-PCR çalışmalarında, LMV'ye özgü primer çiftleri (1196, 1087) kullanılmış ve LMV'nin 800 bp'lik bir kısmı çoğaltılarak agaroz jel elektroforezinde beklenen seviyede bant elde edilmiştir. Bu çalışma ile Antalya ili Finike ilçesinde LMV'nin varlığı ilk kez ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Marul, virüs, marul mozaik virüsü, teşhis

## Determination of Lettuce Mosaic Virus in Lettuce Production Areas in Finike District of Antalya Province

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

Bu çalışma Creative Commons  
Attribution 4.0 International  
License ile lisanslanmıştır

### Abstract

This study was conducted for detection of Lettuce mosaic virus in lettuce growing areas in Finike district of Antalya province. DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ve IC-RT-PCR (Immunocapture Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction) methods were used for virus detection. For this purpose, 92 lettuce samples were collected from the research area. Samples were subjected to DAS-ELISA test using specific antibody for LMV. According to DAS-ELISA; the presence of LMV were detected in 5 samples. 5 samples that tested positive as a result of the DAS-ELISA test were used for IC-RT-PCR. In IC-RT-PCR studies, specific primer pairs (1190, 1087) were used for LMV and 800 bp fragments of LMV was amplified and the respected size of band was observed on agarose gel electrophoresis. In this study, the presence of LMV was revealed for the first time in lettuce production areas of Finike district of Antalya.

**Keywords:** Lettuce, virus, Lettuce mosaic virus, detection



## **Giriş**

Ülkemizde önemli bir yere sahip olan sebzeler; vitamin, mineral, protein ve karbonhidrat bakımından zengin olmaları nedeniyle insan beslenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Sebzeler işlenerek değerlendirilebildikleri gibi taze olarak da tüketilmektedir. Kök, gövde, çiçek, yaprak ve meyve gibi kısımları yiyecek kaynağı olarak kullanılmaktadır [1]. Ülkemizin farklı ekolojik koşullara sahip olması, her bölgede ve her mevsimde farklı ürünlerin yetiştirilmesine olanak sağlamaktadır. Dünyada ve ülkemizde en çok tüketilen ve üretilen sebzelerden birisi de marul bitkisidir. Marul (*Lactuca sativa* L.) *Compositae* familyasına ait serin iklim bitkisidir [2]. Dünyada marul üretiminde yaklaşık 29 milyon ton ile Çin 1. sırada bulunurken [3] ülkemiz 500.000 tonluk marul üretimi ile onuncu sırada yer almaktadır [4]. Ülkemizde marul Akdeniz, Marmara ve Ege bölgelerinde yetiştirilmektedir [5]. Antalya ilinde yaklaşık 14.669 dekar alanda marul üretimi gerçekleştirilmektedir. Bu alanda Göbekli marul tipi üretimi 22.829 ton, Kıvrıkcık tipi 29.216 ton ve 3769 ton Aysberg tipi üretim yapılmaktadır [4]. Antalya'nın Finike ilçesinde nar ve narenciyeden sonra yoğun olarak marul üretimi görülmektedir [6]. Marul yetiştirilmesinde çok sayıda abiyotik ve biyotik faktörler etkili olmaktadır. Bu faktörler içerisinde bitkilerde hastalık yapan virüsler marulda önemli zararlar oluşturmaktadır. Dünyada farklı araştırmacılar tarafından marulda tespit edilen önemli virüs hastalıkları şunlardır: Marul mozaik virüsü (Lettuce mosaic virus: LMV), Mirafiori marul iri damar virüsü (Mirafiori lettuce big vein virus: MLBVV), Marul iri damar virüsü (Lettuce big vein associated virus: LBVaV), Hıyar mozaik virüsü (Cucumber mosaic virus: CMV), Yonca mozaik virüsü (Alfalfa mosaic virus: AMV), Şeker pancarı batı sarılık virüsü (Beet western yellow virus: BWYV), Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus: TSWV), Bakla solgunluk virüsü (Broad bean wilt virus: BBWV), Tütün rattle virüsü (Tobacco rattle virus: ToRV), Tütün halkalı leke virüsü (Tobacco ringspot virus: ToRV) ve Şalgam mozaik virüsü (Turnip mosaic virus: TuMV) [7, 8, 9, 10, 11, 12]. Dünya'da ve ülkemizde; LMV marul üretim alanlarında ciddi zararlar meydana getiren önemli virüsler arasındadır [13]. LMV, ilk kez 1921 yılında Amerika'nın Florida eyaletinde marullarda tespit edilmiştir [14]. Marul mozaik virüsü *Potyviriidae* familyasının Potyvirus cinsine aittir. Tek sarmal RNA genomu içermektedir. Virüs ipliksi yapıda ve zarfsızdır. Tek parçalı ve 9-12 kb arasında genom büyüklüğüne sahiptir. Virüsün konukçu dizisi oldukça geniştir. *Compositae* familyasına ait 21 konukçu bitkiyi ve 121 türü enfekte edebilmekte ve mekanik olarak taşınabilmektedir [15]. Virüsün tohum polen ve yaprak bitleri ile de taşındığı bildirilmektedir. *Myzus persicae* (Sulzer), *Aphis gossypii* Glover ve *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) en önemli ve etkin vektörleridir. LMV, marul yapraklarında mozaik, deformasyon, nekrotik ve klorotik local lezyon ile baş oluşturmama ve bitki ölümleri gibi semptomlara neden olmaktadır. Marulun yetiştiği her yerde bu hastalığa rastlandığı ve özellikle hassas çeşitlerde %80-100'e varan ürün kaybına neden olduğu bildirilmektedir [13, 16, 17]. Yapılan farklı iki çalışma ile Antalya ilinde marul üretim alanlarında Domates lekeli solgunluk virüsü ve Mirafiori marul iri damar virüsü'nün varlığı ortaya konulmuştur [18, 19]. Bozdoğan [18], Antalya ili Merkez ve ilçelerinde domates, biber ve marul alanlarında TSWV'nün belirlenmesi ile ilgili yaptığı

çalışmada virüsün varlığını DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile ortaya koymuştur. DAS-ELISA yöntemine göre hastalık oranını %88.25 olarak tespit etmişlerdir. RT-PCR çalışmalarında ise; 276 ve 514 bp'lik bantları agaroz jel elektroforezde gözlemlenmişlerdir. Erdaş ve Çulal Kılıç [19], Mirafiori marul iri damar virüsü'nün belirlenmesi amacıyla Antalya ili marul üretim alanlarından 240 marul örneği toplamış ve bütün örnekleri DAS-ELISA yöntemiyle test etmişlerdir. Testlenen örneklerdeki hastalık oranı %18.33 olarak belirlenmiştir. RT-PCR çalışmalarında ise; MiLBVV'ye spesifik primer çiftleri kullanılmış ve MiLBVV'nin 469 bp'lik kılıf protein gen bölgesi çoğaltılarak agaroz jelde UV altında görüntülenmiştir. Agaroz jel elektroforezde MiLBVV'ye özgü beklenen seviyede bant gözlemlenmiştir. Antalya ili Finike ilçesinde yapılan sürveyler sırasında virüs benzeri belirtilerin gözlemlenmesi ve üreticilerden gelen şikayetlerin artması sebebiyle bu çalışma oluşturulmuştur. LMV'nin marul örneklerindeki varlığı serolojik yöntemlerden DAS-ELISA, moleküler olarakta IC-RT-PCR yöntemi ile ortaya konulmuştur. Bu çalışma; bölgede ilk kez marul alanlarında LMV'nin tanınması bakımından önem arz etmektedir.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Sürvey Çalışmaları**

Antalya ilinin Finike ilçesinde marul üretim alanlarında 2018 ve 2019 yıllarında LMV'nin saptanması amacıyla sürveyler yapılmıştır. Sürveyler sırasında virüs benzeri belirti gösteren bitkilerden toplam 92 marul örneği alınmıştır (Şekil 1).



*Şekil 1. Sürvey sırasında bitki örneklerinin toplanması*

Alınan yaprak örnekleri ayrı ayrı poşetlere konulmuş ve içlerine gerekli bilgileri kapsayan etiketler yerleştirilmiştir. Laboratuvarda örnekler derin dondurucuya yerleştirilmiştir. Sürveyler sırasında marul bitkisinden alınan örneklerde yapraklarda mozaik, sararma, bitki boyunda kısılma, nekrotik leke oluşumu, damar açılması, ve klorotik lezyonlar olan bitkiler tercih edilmiştir.

### **Serolojik Çalışmalar**

Virüsün teşhisinde ilk olarak bitkilere DAS-ELISA yöntemi uygulanmıştır. Testlemede virüse özgü ELISA kitleri (Loewe) kullanılmıştır. Yöntem, firmanın önerdiği doğrultuda yapılmıştır. Öncelikle ELISA tabaklarının her bir çukurcuğu LMV'ye özgü antikor ile hazırlanmış tampon çözelti ile kaplanmış ve 37°C'de 4 saat bekletilmiştir. Yıkamayı takiben ekstraksiyon tampon çözeltisinde örnekler ezilerek her bir çukura 200'er µL konulmuş ve +4°C'de tüm gece bekletilmiştir. Konjugat buffer ve konjugatlar sulandırılarak her bir çukura ilave edilmiş ve 37°C'de tekrar bekletilmiştir. Son aşama olarak substrat tamponu ile hazırlanan substrattan her bir çukura 200 µL konularak oda sıcaklığında bekletilerek renk değişimi gözlenmiştir. Sonuçlar 405 nm dalga boyunda okunmuştur. Kontrol bitkisinin absorbans değerlerine göre kontrol değerinin en az iki katı okuma değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir [20].

### **Immunocapture Ters Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Immunocapture RT-PCR: IC-RT-PCR)**

Çalışmada DAS-ELISA yöntemi sonucunda pozitif olarak belirlenen örnekler IC-RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır. Bu yöntemde; RNA izolasyonuna gerek duyulmadan LMV'e spesifik antibadiler kullanılmış ve bitkideki virüs immunolojik olarak yakalanmıştır. Öncelikle, PCR tüpleri LMV'ye özgü antibadi ile kaplanmış ve 37°C'de 4 saat bekletilmiştir. Yıkama işleminden sonra, örnekler tampon solüsyonunda ezilmiş ve PCR tüplerine eklenmiştir. Örnekler +4°C'de tüm gece bekletilmiştir. Sonra yıkama tekrarlanmıştır. PCR tüplerinin üzerine RT-PCR karışımı eklenerek, RT-PCR reaksiyonu tek aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı 20 µL'den oluşmuştur. Tek bir reaksiyon karışımı; 1 µL forward primer, 1.5 µL reverse primer, 10 µL master mix buffer ve 7.5 µL ultra saf su ile hazırlanmıştır. LMV için, Krause-Sakate ve ark., [21] ve Sağlam ve Kamberoğlu [22] tarafından yapılan çalışmalarda daha öncede kullanılan kılıf protein gen bölgesine spesifik 800 bp'lik bir kısmı amplifiye eden spesifik primer çifti (1196 (5'-AAG GCA GTA AAA CTG ATG-3') 1087 (5'-TTT ATA CTA CAG TCT TTA-3')) kullanılmıştır. Amplifikasyon için 55°C'de 40 dakika, 94°C'de 3 dakika, 35 döngü, 94°C'de 1 dakika, 42°C'de 2 dakika, 72°C'de 2 dakika ve son olarak 72°C'de 10 dakika programlanmıştır. RT-PCR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla agaroz jel çalışmaları yürütülmüştür. Bu amaçla, %1'lik agaroz jel ve 1XTBE (0.089 M Tris Borate; 0.089 M Boric acid, 0.002 M EDTA) solüsyonu kullanılmış ve bantlar elektroforetik ayırma tabi tutularak LMV'ye özgü

spesifik bantların varlığı araştırılmıştır. Boyama etidyum bromide ile yapılmış ve UV ışığı altında fotoğrafları çekilmiştir.

### **Bulgular ve Tartışma**

LMV'nin tanılanması amacıyla Antalya ili Finike ilçesinde marul üretim alanlarında sürveyler yapılmış ve virüs simptomsu sergileyen 92 bitki örneği toplanmıştır. Örneklerde; yapraklarda mozaik, deformasyon, kloroz, nekroz, damar açılması, baş büyüklüğünde azalma, bitki boyunda kısalma gibi belirtiler gözlemlenmiştir (Şekil 2, 3). LMV'nin bu belirtilere neden olduğu farklı çalışmalarda farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir [10, 22, 23]. Sağlam ve Kamberoğlu [22], LMV ile enfekteli marul bitkilerinin yapraklarında mozaik, nekroz, sararma, damar açılması, gelişme geriliği ve düzgün baş oluşturamama gibi belirtilerin meydana geldiğini belirtmişlerdir.



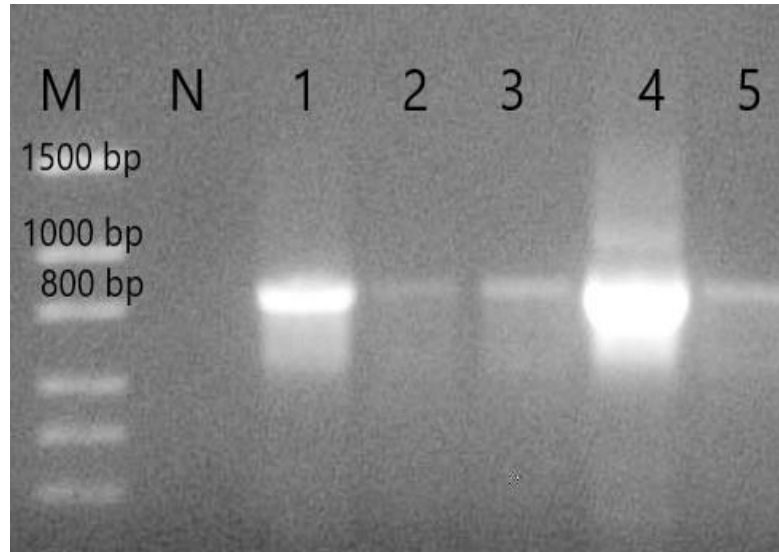
*Şekil 2. Marul bitkisinde siğil şeklinde oluşumlar, mozaik*



*Şekil 3. Marul bitkisinde yapraklarda deformasyon, baş büyüklüğünde azalma*



Antalya ili Finike ilçesi marul üretim alanlarından toplanan 92 adet örneğine olası LMV enfeksiyonuna karşı DAS-ELISA yöntemi uygulanmıştır. Buna göre testlenen 92 adet örneğin 5'i LMV ile enfekteli bulunmuştur. Test edilen örneklerin LMV enfeksiyon oranı ise %5.43 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde Özdemir ve Erilmez [24], Denizli ili biber, patlıcan ve marul üretim alanlarında yürüttükleri çalışmada, marul örneklerinin %5.56'sının LMV ile enfekteli olduğunu bulmuşlardır. Ankara ili marul üretim alanlarında LMV'nin belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda örneklerin DAS-ELISA ile testlenmesi sonucunda 324 örnekten 25'inin (%7.71) LMV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir [25]. Karanfil ve ark. [26] Marmara bölgesindeki LMV ile ilgili yaptıkları çalışmada ise 307 örnekten 35'inde LMV enfeksiyonuna rastlamıştır. Yeşil ve Ağca [11] Konya ilinde marul alanlarında farklı virüslerin belirlenmesi ile ilgili yaptığı çalışmada LMV'nin enfeksiyon oranını %12.37 olarak belirlemişlerdir. IC-RT-PCR çalışmalarında LMV'nin kılıf protein geninin 800 bp'lik kısmını çoğaltan 1196 ve 1087 primer çifti kullanılmıştır. Çalışmalar sonucunda DAS-ELISA testleri sonucunda pozitif reaksiyon veren 5 izolat moleküler çalışmalarda kullanılmış ve beklenen seviyede bant elde edilmiştir. Negatif kontrolde ise herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4). DAS-ELISA testinde pozitif reaksiyon veren örnekler IC-RT-PCR yöntemi ile de teyit edilmiştir. Böylece LMV'nin varlığı serolojik ve moleküler olarak ortaya konulmuştur.



**Şekil 4.** IC-RT-PCR çalışmaları sonucunda LMV ile enfekteli örnekler M: Marker (DNA ladder; 100 bp) N: Negative control; 1-5 LMV ile enfekteli marul örnekleri

Benzer şekilde çeşitli araştırmacılarda [21, 22, 25] LMV'nin kılıf protein geninin 800 bp'lik kısmını çoğaltarak beklenen büyüklükte bant elde etmişler ve bu çalışmaya paralel sonuçlar elde etmişlerdir. Bu çalışma ile Antalya ili Finike ilçesi marullarında LMV'nin varlığı DAS-ELISA ve IC-RT-PCR yöntemi ile ortaya konulmuştur. Bölgede LMV'nin varlığı ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Çalışma, bölgede ilk kez marul alanlarında LMV'nin tanınması bakımından önem arz etmektedir. Gerçekleştirilen bu çalışmadan elde edilen sonuçların ileride yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## **Sonuçlar**

Virüs hastalıklarına karşı herhangi bir kimyasalın bulunmamasından dolayı; virüs hastalıklarıyla mücadelede ana yaklaşım viral enfeksiyonu önlemek veya geciktirmek ya da etkilerini azaltmak olmuştur. Bu hedefleri gerçekleştirmek için; karantina önlemleri, hastalıklı bitkilerin imhası, virüssüz bitki materyali ve eradikasyon gibi bitki sağlığına yönelik uygulamaların yanı sıra üretim faaliyetlerinde değişiklikler, vektörleri kontrol etmek için pestisitlerin kullanılması, dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi gibi çeşitli yollar kullanılmaktadır. LMV'nin mücadelesinde de özellikle yaprak bitleri ile mücadele, yabancı otlarla mücadele ve temiz tohum kullanımı gibi kültürel önlemlerin gerçekleştirilmesi ve bu konuda üreticilerin bilinçlendirilmesi önem taşımaktadır. Ayrıca daha sonra yapılacak çalışmalarda, LMV'nin Antalya ilinin diğer ilçelerindeki yaygınlık durumu ve mücadelesine yönelik yapılması gerekenler ile LMV'nin izolatlarının dizi analizlerinin belirlenmesi üzerine çalışmaların yapılmasının, gerekli olduğu düşünülmektedir.

**Teşekkür** -Bu çalışmayı maddi olarak destekleyen TÜBİTAK'a çok teşekkür ederiz.

**Fon/Finansman bilgileri** - Bu çalışma, TÜBİTAK 2209 A - Üniversite Öğrencileri Yurt İçi / Yurt Dışı Araştırma Projeleri Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir.

**Etik Kurul Onayı ve İzinler** Çalışma, etik kurul izni veya herhangi bir özel izin gerektirmemektedir.

**Çıkar çatışmaları/Çatışan çıkarlar**- Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

**Yazarların Katkısı**- 1. yazar %60 oranında, 2. yazar %40 oranında katkı sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

## **Kaynaklar**

- [1] Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ. C., Duman, İ. & Ergün, M. (2013). İzmir ili ve çevresindeki bazı kışlık sebzelerde görülen viral etmenlerin saptanması. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3), 311-322.
- [2] Kandemir, D. & Balkaya, A. (2022). Türkiye'de marul yetiştiriciliği sorunları ve çözüm önerileri. *Tarım Gündem Dergisi*, 54-58.
- [3] FAO (2021, Şubat). *The World Lettuce Economy*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>.
- [4] TÜİK (2021, Nisan). *Bitkisel üretim istatistikleri*. <http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>.
- [5] Polat, E., Sönmez, S., Demir, H. & Kaplan, M. (2001, 14-16 Kasım). *Farklı organik gübre uygulamalarının marulda verim, kalite ve bitki besin maddeleri alınımına etkileri*. Türkiye 2. Ekolojik Tarım Sempozyumu, Antalya.
- [6] Anonim (2022, Haziran). Marul Üretimi. [www.turder.org](http://www.turder.org).
- [7] Sertkaya, G. (2015). Hatay ili marul ve ıspanak alanlarında bazı virüslerin araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), 7-12.

- [8] Zelyüt, F. R. (2016). *Ankara İli marul ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının belirlenmesi*. (Tez no. 434746) [Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi].
- [9] Abadkhah, M., Hamidi, H. & Koolivand, D. (2021). Phylogenetic and population analysis of lettuce mosaic virus isolates based on the coat protein gene. *Journal of Genetic Resources*, 7(2), 210-218. <https://doi.org/10.22080/jgr.2021.20849.1238>
- [10] Akbaş, B., Morca, A. F. & Coşkan, S. (2021). Ankara, Eskişehir ve Konya illeri marul üretim alanlarında görülen viral hastalık etmenlerinin tespiti. *Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31(2), 387-395. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.818644>
- [11] Yeşil S. & Ağca, H. I. (2021). Determination of virus diseases on lettuce in Konya province. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 9, 2532-2536. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9isp.2532-2536.4919>
- [12] Helvacı, A. & Korkmaz, S. (2022). Ülkemiz Lettuce Mosaic Virus izolatının tüm genom analizi. *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*, 8(1), 26-34. <https://doi.org/10.28979/jarnas.960829>
- [13] Pavan, M. A., Krause-Sakate, R., Silva, N., Zerbini, F. M., & Gall, O. (2008). Virus diseases of lettuce in Brazil. *Plant Viruses*, 2(1), 35-41.
- [14] Jagger, I. C. (1921). A transmissible mosaic disease of lettuce. *Journal of Agricultural Research*, 20, 737-741.
- [15] Horvath, J. (1980). Viruses of lettuce. II host ranges of lettuce mosaic virus and cucumber mosaic virus. *Acta Agronomica Scientiarum Hungaricae*, 29, 333-352.
- [16] Lim, S., Zhao, F., Yoo, R. H., Igori, D., Lee, S. H., Lim, S. H. & Moon, J. S. (2014). Characteristics of a Lettuce mosaic virus isolate infecting lettuce in Korea. *Plant Pathology Journal*, 30(2), 183-187. <http://dx.doi.org/10.5423/PPJ.NT.12.2013.0120>
- [17] Revers, F., Lot, H., Souche, S., Gall, O. L., Candresse, T. & Dunez, J. (1997). Biological and molecular variability of Lettuce Mosaic Virus isolates. *Phytopathology*, 87, 397-403. <https://doi.org/10.1094/phyto.1997.87.4.397>
- [18] Bozdoğan, V. (2009). *Antalya ilinde domates, biber ve marul yetiştirilen alanlarda Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV) 'nün saptanması*. (Tez no. 244137) [Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi]
- [19] Erdaş, E. & Çulal-Kılıç, H. (2022). Antalya ili marul üretim alanlarında Mirafiori Marul İri Damar Virüsü (MiLBVV)'nün belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 245-251. <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.1050253>
- [20] Soleimani, P., Mosahebi, G. & Habibi, K. M. (2011). Identification of some viruses causing mosaic on lettuce and characterization of Lettuce mosaic virus from Tehran Province in Iran. *African Journal of Agricultural Research*, 6(13), 3029-3035. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.114>
- [21] Krause-Sakate, R., Mello, R. N., Pavan, M. A., Zambolim, E. M., Carvalho, M. G., Le Gall, O. & Zerbini, F. M. (2001) Molecular characterization of two Brazilian isolates of Lettuce Mosaic Virus with distinct biological properties. *Fitopatologia Brasileira*, 26, 153-157.
- [22] Sertkaya, G., Karaca, F., Nurel, S. & Yokarıbaş, H. (2009, 15-18 Temmuz) *Marul alanlarında Marul mozaik virüsü ve Hıyar mozaik virüsü'nün biyolojik ve serolojik yöntemlerle araştırılması*. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, Van.

- [23] Sağlam, H. N. & Kamberoğlu, M. A. (2021). Adana ve Mersin illeri'nde marul yetiştirilen alanlarda Marul mozaik virüsü (Lettuce mosaic virus, LMV)'nin saptanması ve karakterizasyonu. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(2), 257-265. <https://doi.org/10.37908/mkutbd.822534>
- [24] Özdemir, S. & Erilmez, S. (2007, 27-29 Ağustos). *Denizli ilinde yetiştirilen biber, patlıcan ve marul üretim alanlarında bazı viral etmenlerin saptanması*. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta.
- [25] Zelyüt, F. R. & Ertunç, F. (2018). Molecular Characterization of Lettuce Mosaic Virus isolates in Ankara province. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 6(5), 239-245.
- [26] Karanfil, A., Cevik, B. & Korkmaz, S. (2018). Detection of lettuce mosaic virus infection in South Marmara region of Turkey and coat protein gene characterization. *Zemdirbyste-Agriculture*, 105(4), 363-368. <https://doi.org/10.13080/z-a.2018.105.046>



**Bakır(II)–Sulfametazin-2,2'-bipiridin Kompleksinin Hesaplamalı Kimya Yöntemi ile Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi: Moleküler Modelleme Çalışması, ADME/T**Filiz ÖZTÜRK<sup>1</sup> ve Tuğba AYCAN<sup>2</sup>

How to cite: Öztürk, F., & Aycan, T. Bakır(II)–Sulfametazin-2,2'-bipiridin kompleksinin hesaplamalı kimya yöntemi ile spektroskopik özelliklerinin incelenmesi: moleküler modelleme çalışması, ADME/T. (2023). *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 39-64. <https://doi.org/10.33484/sinopfbd.1310057>

**Araştırma Makalesi****Sorumlu Yazar**

Filiz ÖZTÜRK

filiz.ozturk@omu.edu.tr

**Yazarlara ait ORCID**

F.Ö: 0000-0002-0493-0446

T.A: 0000-0002-5313-7807

**Received:** 05.06.2023**Accepted:** 16.06.2023**Öz**

[Cu(smz)<sub>2</sub>bipy] kompleksinin teorik hesaplamaları DFT (Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi) yöntemi ile B3LYP ve LanL2DZ baz seti kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucunda elde edilen değerler, deneysel yapının geometrik parametreleri ile oldukça uyumludur. Bununla birlikte sulfametazinin ligantının DFT/B3LYP/6-311G baz seti kullanılarak hesaplanmıştır ve sonuçlar kompleks yapı ile karşılaştırılmıştır. Kompleks optimize edildikten sonra E<sub>HOMO</sub> ve E<sub>LUMO</sub> değerleri saptanmıştır. Sınır Moleküler Orbitaleri (FMOs) ile kompleks ve serbest ligant (Hsmz)'nin kimyasal ve biyolojik aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Mulliken popülasyon analizi, MEP (Moleküler Elektrostatik Potansiyel) ve MEP kontör gösterimi ile kompleksin elektrofilik ve nükleofilik bölgeleri belirlenmiştir. Kompleksin ve Hsmz ligantının deneysel IR (Infrared) sonuçları teorik olarak elde edilen değerler ile karşılaştırılmıştır. Hirshfeld yüzey analizi yöntemi ile moleküller arası etkileşimleri ayrıntılı incelenmiştir. Ayrıca *E. coli* bakterisi üzerinde olumlu sonuçlar verdiği dikkate alınarak PDB (Protein Data Bank)'dan Giraz Tip IIA Topoisomeras ve DNA Giraz enzimleri indirilerek moleküler kenetleme çalışması yapılmıştır. Kompleks, *in-silico* yöntem ile ADME/T özellikleri incelenerek ilaç özelliği taşıyıp taşımadığı tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** DFT hesaplamaları, Hirshfeld yüzey analizi, moleküler kenetleme, ADME, toksikoloji, UV-vis spektroskopisi

**Investigation of Spectroscopic Properties with Computational Chemistry Method of Copper(II)–sulfamethazine-2,2'-bipyridine Complex: Molecular Modeling Study and ADME/T**

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi,  
Karadeniz İleri Teknoloji  
Araştırma ve Uygulama Merkezi,  
Samsun /Türkiye

<sup>2</sup>Sinop Üniversitesi, Fen Edebiyat  
Fakültesi, Fizik Bölümü,  
Sinop /Türkiye

**Abstract**

Theoretical calculations of the [Cu(smz)<sub>2</sub>bipy] complex were calculated using the DFT (Density Functional Theory) method and the B3LYP and LanL2DZ basis set. In the result of the calculations obtained are quite compatible with the geometric parameters of the experimental structure. However, it was calculated using the DFT/B3LYP/6-311G basis set of the sulfamethazine ligand and the results were compared with the complex structure. After the complex was optimized, E<sub>HOMO</sub> and E<sub>LUMO</sub> values were determined. The chemical and biological activities of Frontier Molecular Orbitals (FMOs) and complex and free ligand (Hsmz) were compared. Electrophilic and nucleophilic regions of the complex were determined by Mulliken population analysis, MEP (Molecular Electrostatic Potential)

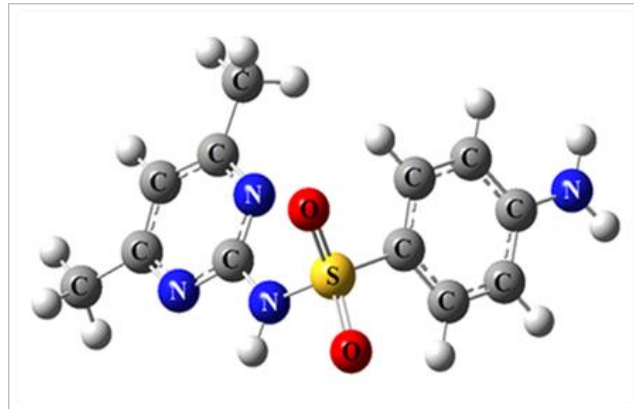
Bu çalışma Creative Commons Attribution 4.0 International License ile lisanslanmıştır

and MEP counter notation. The experimental IR (Infrared) results of the complex and the Hsmz ligand were compared with the theoretically obtained values. Intermolecular interactions were investigated in detail with the Hirshfeld surface analysis method. In addition, considering that it gave positive results on *E. coli* bacteria, Gyrase Type IIA Topoisomerase and DNA Gyrase enzyme were downloaded from PDB (Protein Data Bank) and molecular insertion study was carried out. ADME/T properties were examined with the complex, *in-silico* method and it was discussed whether it has drug properties or not.

**Keywords:** DFT calculations, Hirshfeld surface analysis, molecular docking, ADME, toxicology, UV-vis spectroscopy

## Giriş

Sulfonamid grubu ilaçlar,  $-SO_2NH-$  yapısal özelliğini değiştirmeden farklı fonksiyonel grupları içermesiyle elde edilebilir. Moleküler yapısının modifikasyonu, ilaç-akseptör etkileşimleri ile ilgili araştırmaların oldukça ilgi görmelerine neden olmaktadır. Sulfo ilaçları, ulaşılabilir ve toksisitesinin az olması nedeni ile antibakteriyel ajan olarak kullanılmaktadır. Yeni bir kimyasal yapının sentez süreci zaman alıcı ve maliyetli olmasına rağmen, etkin antimikrobiyal aktif maddenin araştırılması hayati önem taşımaktadır. Sulfonamid metal bazlı bileşiklerin, HepG2 hücrelerine karşı antibakteriyel [1], diüretik [2] ve antitümör etkinliği dahil olmak üzere belirgin biyolojik etkinliği rapor edilmiştir [3]. Sulfonamid grubu içeren metal bileşikler, biyolojik etkinliği açısından serbest formlarından (farmakolojik ve toksikolojik açıdan) daha iyi bir aktivite gösterir [4]. Ag(I)-sulfadiazin kompleksi yanık tedavisinde [5, 6], Zn(II)-sulfadiazin kompleksi ise yanık tedavisinde bakteriyel enfeksiyonun önlenmesinde kullanılmaktadır. Gümüş-sulfadiazinin, serbest sulfadiazinden daha aktif olduğu bilinmektedir [6] Bileşiğe metal iyonu bağlanmasıyla, kompleksin biyolojik ajan olarak etkinliğini arttırmaktadır [6, 7]. Aromatik sulfonamid türevleri ve bunların metal kompleksleri, özellikle güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olan birçok uygulamaya sahiptir, diüretik, antiglokoma veya antiepileptik ilaçlar olarak kullanılmıştır [7-10] ve ayrıca antifungal aktivite içinde kullanılır [11-13]. Bunların dışında birçok durumda metal kompleksinin biyolojik aktivitesinin tek başına ligandan çok daha iyi olduğu bilinmektedir. Sulfamethazin (Hsmz) (Şekil 1), insan ve veterinerlik tıbbında çeşitli bakteriyel hastalıkları tedavi etmek için kullanılan bir sulfonamid ilacıdır [14-16].



Şekil 1. Sulfamethazin (Hsmz)

Sulfamethazin, diğer sulfa ilaçlara benzer bir antimikrobiyal etki spektrumuna sahip bir anti-enfektif ajandır. Hsmz ligandı kompleks oluşumunda pirimidin ve sulfonamid nitrojen atomlarının yanı sıra sulfonamid oksijen kullanılarak tek dişli, iki dişli ve üç dişli ligandlar olarak üç farklı şekilde metal iyonuna koordine olabilmektedir [17].  $[Cu(smz)_2bipy] \cdot 0.8H_2O$  kompleksinin deneysel çalışması Öztürk [18] tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Hsmz ligantının ve kompleksin teorik çalışmaları yapılarak hem birbirleri arasında hem de kompleksin deneysel sonuçlar ile kompleksin teorik çalışmalarının karşılaştırılması incelenmiştir. Teorik hesaplamalar için DFT/B3LYP/LANL2DZ kullanılmıştır. Bu yöntemle IR frekans değerleri, bağ uzunluğu, bağ açısı, HOMO-LUMO (Highest Occupied Molecular Orbital/En Yüksek Dolu Moleküler Orbital-Lowest Unoccupied Molecular Orbital/ En Düşük Dolu Olmayan Moleküler Orbital) analizleri incelenmiştir.  $E_{HOMO}$  ve  $E_{LUMO}$  değerleri ile elektron ilgisi, iyonlaşma potansiyeli, kimyasal sertlik ve yumuşaklık, elektronegatiflik, elektrofilik ve nükleofilik indeksler hesaplanmıştır. Hirshfeld yüzey analizi kullanılarak kompleksteki etkileşimler görselleştirilmiştir ve X-ray sonuçları ile karşılaştırılmıştır. AutoDockVina yazılımı ile Giraz TipIIA topoizomeraz ve DNA Giraz enzimleri Protein Data Bank'tan indirilerek, kompleks bu enzimlere kenetleme çalışması yapılmıştır.

### **Materyal ve Metot**

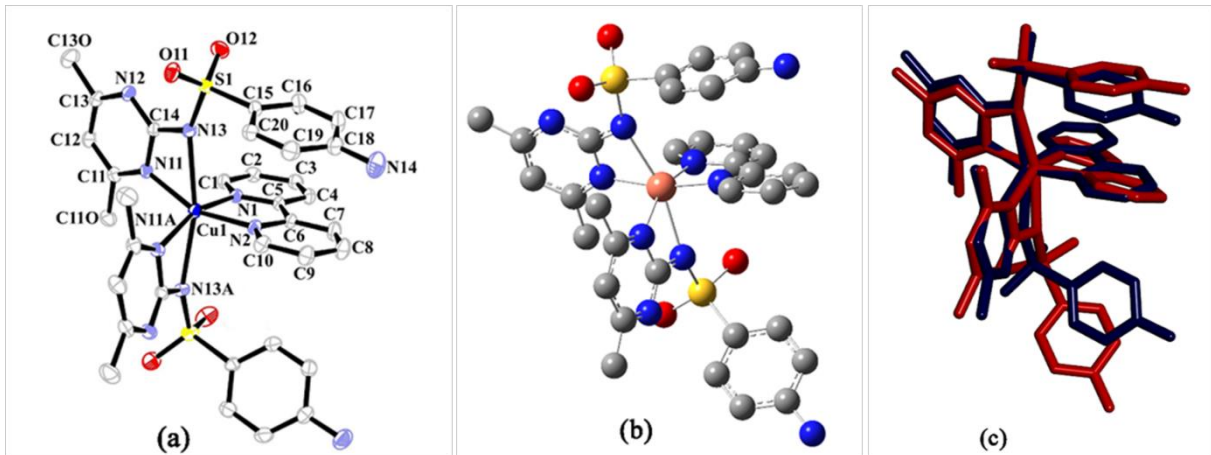
$[Cu(smz)_2bipy]$  kompleksinin teorik hesaplamaları için Gaussian-09 ve GaussView-5.0 yazılımları ile DFT (Yoğunluk fonksiyonel teorisi)-B3LYP hibrit metodu kullanıldı [19-22]. Kompleksin optimizasyonu ve IR titreşimleri için LanL2DZ baz seti kullanılırken [23, 24], sulfamethazin ligantı için 6-311G baz seti kullanılarak [25] hesaplama yapıldı. Bakır kompleksin elektronik geçişlerini hesaplamak için TD-SCF metodu 6-311G baz setleri kullanıldı. Orbital enerjileri, titreşim enerjileri ve geçiş enerjileri GaussSum yazılımı yardımıyla görüntülendi [26]. Tek kristalin CIF dosyası ile Hirshfeld yüzey analizi yapıldı. Bu analiz için Crystal Explorer 17.5 yazılımı kullanıldı [27]. *E. coli*'nin Giraz Tip IIA Topoizomeraz ve DNA Giraz PDB (Protein Veri Bankası) 'dan indirildi (Sırasıyla; PDB ID:3UC1 ve 3LPX). Moleküler modelleme çalışmaları AutoDock Tool (ADT) v1.5.6 ve AutoDock Vina kenetleme yazılımı ile gerçekleştirildi [28]. ADT yazılımı ile enzimlerin suları ihmal edilerek polar hidrojen atomları eklendi. Grid ızgarası 1Å aralıklı olarak oluşturulmuştur. Kompleks ve enzimler arasındaki etkileşimler DS (Discovery Studio) yazılımı kullanılarak listelendi ve görselleştirildi [29]. Bileşiklerin ilaç-benzerlik özellikleri, SwissADME web sunucusu tarafından gerçekleştirildi. ADME parametrelerinin (Adsorpsiyon (A), dağılım (D), metabolizma (M), atılım (E)) yanı sıra küçük bileşiklerin farmakokinetik özellikleri, ilaca-benzerlik doğası, etkin ilaç araştırmaları için çalışılmıştır [30]. Bileşiklerin farmakokinetik özelliklerini incelemek için OpenBabelGui ve SwissADME çevrimiçi yazılımı kullanılmıştır [31] Ayrıca, bu kimyasal bileşiklerin çeşitli toksikolojik özelliklerini tahmin etmek için ücretsiz web sunucusu ProTox-II ([https://tox-new.charite.de/protox\\_II/](https://tox-new.charite.de/protox_II/)) kullanıldı [32-34].

İlaç toksisite çalışması ile erişilebilirlik, doğruluk ve hız açısından büyük avantajlar sağlanması hedeflenmiştir.

## Bulgular ve Tartışmalar

### Optimize Moleküler Yapı

Kompleksin tek kristal XRD verileri Öztürk ve ark. [35] tarafından yapılan çalışmadan alınarak (Şekil 2a), optimize moleküler yapısı elde edilmiştir. Optimize yapı için DFT-LanL2DZ baz seti kullanılmıştır (Şekil 2b). Optimize edilmiş yapının ve deneysel yapının bazı bağ uzunlukları, bağ açıları ve torsiyon açıları Tablo 1’de verilmiştir. Kompleksin ekvator düzlemi, iki sulfamethazin anyonunun pirimidin nitrojen atomları ile 2,2'-bipiridin ligantının iki nitrojen atomundan oluşur ve bağ uzunlukları 2.007(2)-2.019 (2)Å aralığındadır. Optimize yapıda ise 2.027-2.092 Å aralığındadır. Eksenel bölge, iki sulfamethazin anyonunun sulfonamido kısımları tarafından tanımlanır (Cu1–N13 ve Cu1–N13A). Bu uzunluklar sırasıyla 2.450 (2)Å ve 2.485 (2)Å(deneysel), 2.363Å ve 2.369Å (hesaplanan)’dır. Burada deneysel ile hesaplanan Cu1–N13 ve Cu1–N13A mesafesinin her ikisinde hesaplanan değerler oldukça kısaldığı görülmektedir. Korelasyon eğrileri çizdirilerek korelasyon değerleri hesaplanmıştır. Bağ uzunluğu, bağ açısı ve torsiyon açısı korelasyon değerleri sırasıyla 0.9553, 0.9833 ve 0.9288 olarak bulunmuştur. Korelasyon değerleri dikkate alındığında bağ açılarının uyumlu olduğu görülmüştür. Bağ uzunluklarındaki en büyük farklılıklar ise eksenel düzlemde yer alan metal-azot atomlarındaki kısalma ve sülfür atomunun çevresindeki atomlardan uzaklaşmasıdır. Hidrojen atomları ihmal edilerek üst-üste bindirilmiş optimize ve deneysel yapı Şekil 2c’ de verilmiştir. Sulfamethazin ligantının R<sub>1</sub>–SO<sub>2</sub>–N–R<sub>2</sub> grubundaki (Cu1–N13A–S1A–C15A) torsiyon açısı, deneysel yapıda -92.9° optimize yapıda ise 149.22° olarak bulunmuştur. Üst-üste binmiş optimize ve deneysel yapının şekli göz önüne alındığında sulfamethazin ligantında bulunan benzen halkası deneysel yapıdan sapsmış durumdadır. RMSE değeri 0.895’dir. Bu RMSE değeri metal kompleksler için uygun aralıktadır [36].



Şekil 2. Kompleksin (a) deneysel yapısı [35], (b) optimize yapısı, (c) optimize (kırmızı) ve deneysel (siyah) yapıların üst-üste binmiş görüntüsü.

Tablo 1.  $[Cu(smz)_2bipy]$  kompleksinin optimize ve deneysel yapılarının bazı bağ uzunlukları (Å), bağ açıları (°) ve torsiyon açıları (°)

Bağ uzunlukları (Å)	Optimize yapı	Deneysel yapı[35]
Cu1-N1	2.038	2.019 (2)
Cu1-N2	2.064	2.014 (2)
Cu1-N11	2.027	2.007 (2)
Cu1-N11A	2.092	2.016 (2)
Cu1-N13	2.363	2.450 (2)
Cu1-N13A	2.369	2.485 (2)
N11-C11	1.394	1.332 (4)
N11-C14	1.359	1.382 (3)
N13-C14	1.362	1.338 (3)
N13-S1	1.797	1.595 (2)
O11-S1	1.640	1.442 (2)
O12-S1	1.636	1.434 (2)
C1-N1	1.349	1.327 (3)
C5-N1	1.364	1.350 (3)
C6-N2	1.363	1.347 (3)
C10-N2	1.349	1.336 (3)
C5-C6	1.481	1.471 (4)
C18-N14	1.395	1.373 (5)
<b>Bağ açıları (°)</b>		
N1-Cu1-N11A	153.11	158.79 (8)
N2-Cu1-N11	166.96	156.97 (9)
N13-Cu1-N13A	163.54	165.30
N11-Cu1-N13	61.48	58.93 (8)
N11A-Cu1-N13A	60.34	59.22 (8)
N1-Cu1-N2	80.18	80.89 (9)
N2-Cu1-N11A	95.48	93.82 (9)
N1-Cu1-N11	96.73	93.88 (9)
N11-Cu1-N11A	92.85	98.48 (9)
C14-N13-S1	117.09	122.40 (18)
C11-N11-C14	119.71	119.1 (2)
O12-S1-O11	119.97	114.43 (14)
N13-C14-N11	110.32	111.5 (2)
<b>Torsiyon açıları (°)</b>		
Cu1-N13A-S1A-C15A	149.22	-92.90
Cu1-N13-S1-C15	5.96	-3.1
Cu1-N11A-C14A-N13A	8.00	11.20
Cu1-N11-C14-N13	2.29	1.40
Cu1-N11A-C14A-N12A	-172.21	-168.00
Cu1-N11-C14-N12	-177.17	-178.20
Cu1-N2-C6-C5	9.11	-0.4
Cu1-N1-C5-C6	-12.93	1
N2-C6-C5-N1	2.69	-0.4
C7-C6-C5-C4	3.04	-1.2
C14-N13-S1-C15	-179.74	179.10
C14A-N13A-S1A-C15A	69.9	-59.10

**Sınır Moleküler Orbitalleri (FMOs)**

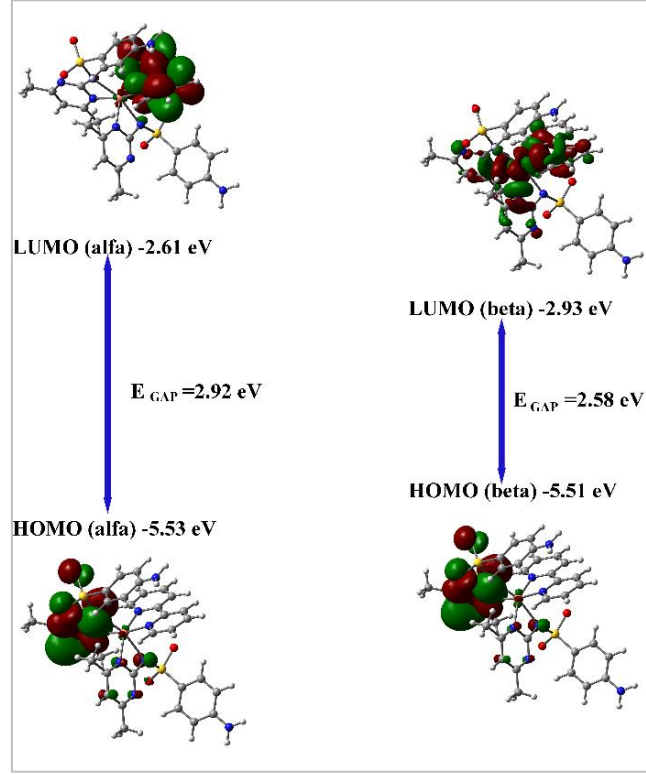
Sınır moleküler orbitalleri olan HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital/En Yüksek Dolu Moleküler Orbital) ve LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital/ En Düşük Dolu Olmayan Moleküler Orbital) moleküler etkileşimlerde oldukça önemlidir.  $E_{\text{HOMO}}$  bir elektron verme enerjisi iken  $E_{\text{LUMO}}$  bir elektron alma enerjisini temsil eder.  $E_{\text{HOMO}}$  ve  $E_{\text{LUMO}}$  arasındaki enerji boşluğu, moleküler elektron geçişini temsil eden elektron iletkenliği için önemli bir parametredir [37].  $E_{\text{HOMO}}-E_{\text{LUMO}}$  farkı ne kadar küçük olursa etkileşim o kadar kolay olacaktır [38]. Böylece reaktantların etkileşimi ve reaksiyona girmesi o kadar kolay olacaktır. Enerji boşlukları moleküllerin kimyasal ve spektroskopik özelliklerinden de sorumludur. Popüler Koopmans teoremine göre, İyonlaşma potansiyeli (I), elektron ilgisi (Y), mutlak elektronegatiflik ( $\Phi$ ) [39], kimyasal sertlik ( $\Psi$ ) [40], mutlak yumuşaklık (S) [41], elektrofilik indeks ( $\omega$ ) [42], nükleofilik indeks ( $\varepsilon$ ) [43], elektron kabul etme gücü ( $\omega^+$ ), elektron verme gücü ( $\omega^-$ ) ve net elektrofiliklik ( $\Delta\omega^\pm$ ) [44], HOMO ve LUMO değerleri kullanılarak tanımlanır (Tablo 2).

**Tablo 2.** [Cu(smz)<sub>2</sub>bipy] ve sulfamethazin ligantının hesaplanan kuantum kimyasal tanımları

Kuantum kimyasal parametreler	[Cu(smz) <sub>2</sub> bipy]		Sulfamethazin
	DFT-B3LYP/LanL2DZ	DFT-B3LYP/LanL2DZ	DFT-B3LYP/6-311G
$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	$\alpha$ -5.53	$\beta$ -5.51	-6.29
$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	-2.61	-2.93	-1.67
$\Delta E = E_{\text{LUMO}}-E_{\text{HOMO}}$ (eV)	2.92	2.58	4.62
$Y = -E_{\text{LUMO}}$ (elektron ilgisi) (eV)	2.61	2.93	1.67
$I = -E_{\text{HOMO}}$ (İyonlaşma potansiyeli) (eV)	5.53	5.51	6.29
$\Phi = \frac{Y+I}{2}$ (Mutlak elektronegatiflik) (eV)	4.07	4.22	3.98
$\Psi = \frac{I-Y}{2}$ (Kimyasal sertlik) (eV)	1.46	1.29	2.31
$S = \frac{1}{\Psi}$ (Mutlak yumuşaklık) (1/eV)	0.68	0.78	0.43
$\omega = \frac{\Phi^2}{2\Psi}$ (Elektrofilik indeks) (eV)	5.67	6.90	3.43
$\varepsilon = \frac{1}{\omega}$ (Nükleofilik indeks) (1/eV)	0.18	0.14	0.29
$\omega^+ = \frac{(I+3Y)^2}{16(I-Y)}$ (Elektron kabul etme gücü) (eV)	3.82	4.95	1.73
$\omega^- = \frac{(3I+Y)^2}{16(I-Y)}$ (Elektron verme gücü) (eV)	7.89	9.17	5.71
$\Delta\omega^\pm = \omega^+ + \omega^-$ (Net elektrofiliklik) (eV)	11.70	14.12	7.44

Elektronegatiflik bir fonksiyonel grubun veya atomun, elektronlarını veya elektron yoğunluğunu kendine çekme özelliğidir. Kimyasal yumuşaklık ve sertlik ise bir ligantın veya kompleksin kinetik kararlılığını veya kimyasal reaktivitesini tanımlayan kritik bir ölçüttür. Küçük enerji boşluklarına sahip moleküller “yumuşak moleküller”, büyük enerji boşluklarına sahip moleküller ise “sert moleküller” olarak tanımlanır [45]. Dolayısıyla yumuşak moleküllerin sert moleküllere göre daha kararsız olduğu söylenebilir. Elektrofilik indeks, HOMO-LUMO orbitallerinin arasındaki maksimum elektron akışına

bağlı azalan bir enerjiyi ifade eder [46]. Eğer elektrofilik indeksi yüksek veya nükleofilik indeksi küçük ise o ligant veya kompleks için yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. Cu(II)-kompleksinin  $\beta$  spinli orbitali için  $E_{HOMO}=-5.51$  eV,  $E_{LUMO}=-2.93$  eV, sulfamethazin ligantı için  $E_{HOMO}=-6.29$  eV,  $E_{LUMO}=-1.67$  eV olarak bulunmuştur (Şekil 3).



**Şekil 3.** Kompleksin HOMO ve LUMO değerleri için DFT/LanL2DZ yöntemi kullanılarak elde edilen enerji seviyeleri ve moleküler orbital yüzeyleri

$\Delta E$  değerleri bakır kompleks için 2.58 eV, ve ligant için 4.62 eV olarak bulunmuştur. Sınır moleküler enerji değerlerine ait veriler Tablo 2' de listelenmiş ve bu veriler için şu şekilde çıkarımlar yapılabilir;

1. En küçük sertliğe ve en büyük yumuşaklığa Cu(II) kompleksi sahiptir. Buna göre Cu(II) kompleksi sulfamethazin ligantına göre daha kararsızdır, dolayısıyla kompleks düşük stabiliteye ve kimyasal aktiviteye sahiptir.
2. Kompleksin serbest liganda göre elektron çekme yeteneği fazladır. Yani daha çok elektronegatifdir.
3. Cu(II) kompleksinin elektrofilik indeksi Hsmz'e göre yüksek, nükleofilik indeksi ise daha düşüktür. Böylece kompleksin serbest ligant durumuna göre biyolojik aktivitesinin arttığı söylenebilir.
4. En yüksek elektron alma ve verme gücü bakır kompleksindedir. Doğal olarak en fazla net elektrofilikliğe sahiptir. Tüm bunlar göz önüne alındığında Cu(II)-kompleksinin, serbest ligant halinde bulunan sulfamethazin ligantına göre kimyasal ve biyolojik aktivitesinde artış gözlenmiştir.

**Mulliken Popülasyon Analizi (MPA)**

Popülasyon analizlerinden biri olan Mulliken analizi, etkin atomik yükleri hesaplamaktadır [47]. Elektronca zengin (nükleofilik) veya elektronca fakir (elektrofilik) indeksleri hakkında kesin bir sonuç vermiyor olsa da yorum yapılmasına olanak sağlayan Mulliken yük analizi, MEP (moleküler elektrostatik potansiyel), elektron yoğunluk dağılımı ve kimyasal tepkimeye yatkın bölgeler hakkında ön bilgi vermektedir. Mulliken popülasyon analizi ile elde edilen kompleksin atomik yükleri Tablo 3’de verilmiştir. Tablo 3’teki veriler hidrojenlerin tümünün pozitif yüklü olduğunu ve 0.2-0.3 e aralığında değiştiğini göstermektedir. Ayrıca, N14 ve N14A atomları diğer N atomlarına göre en yüksek negatif değerlere sahiptir. Bunun nedeni moleküller arası hidrojen bağlarının (N14—H14B $\cdots$ O11A<sup>i</sup>, N14A—H14C $\cdots$ O11<sup>ii</sup> ve N14A—H14D $\cdots$ O5<sup>iii</sup>); (i)  $-x+1$ ,  $y+1/2$ ,  $-z+1/2$ ; (ii)  $x-1$ ,  $-y+3/2$ ,  $z-1/2$ ; (iii)  $x-1$ ,  $y$ ,  $z-1$ ) varlığı olabilir [35]. Moleküldeki diğer atomlara göre; S1 ve S1A atomları ise en yüksek pozitif yüklere sahiptir (sırasıyla 1.0027 e ve 0.9793 e). En yüksek negatif yüklere sahip olan N14 ve N14A atomlarına bağlı C18 ve C18A atomları da sterik etkiden dolayı diğer karbon atomlarına göre en yüksek pozitif yüklere sahiptir (sırasıyla 0.4892 e ve 0.4935 e).

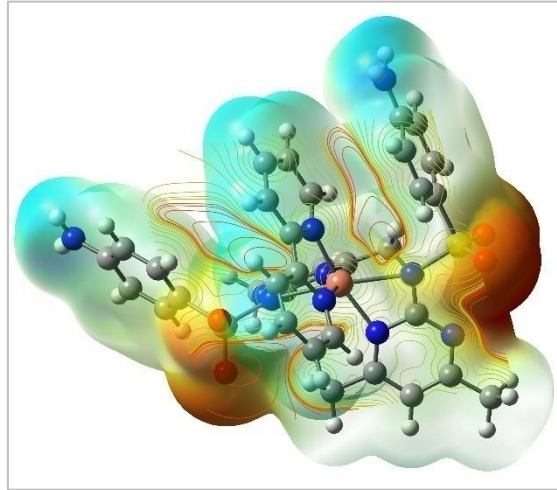
**Tablo 3. Kompleksin Mulliken atomik yükleri**

Atom	MPA	Atom	MPA	Atom	MPA	Atom	MPA
C1	-0.161741	C13A	0.341548	C18	0.493457	N1	-0.211482
H1	0.255957	C13	0.323326	C19A	-0.394959	N2	-0.216711
C2	-0.162989	C12A	-0.438628	H19A	0.216238	N11A	-0.338851
H2	0.239439	H12A	0.242750	C19	-0.401706	N11	-0.317593
C3	-0.171643	C12	-0.423366	H19	0.218057	N12A	-0.005664
H3	0.240706	H12	0.242599	C20A	-0.193688	N12	-0.036936
C4	-0.264606	C11A	0.199129	H20A	0.273513	N13A	-0.551669
H4	0.224942	C11	0.222837	C20	-0.140071	N13	-0.569982
C5	0.269815	C14A	0.197972	H20	0.274493	N14A	-0.704759
C6	0.268002	C14	0.182148	C130	-0.737242	H14A	0.300369
C7	-0.275322	C15A	-0.095089	H13A	0.239712	H14B	0.299819
H7	0.230511	C15	-0.117301	H13B	0.218564	N14	-0.700501
C8	-0.177522	C16A	-0.171996	H13C	0.215954	H14C	0.303726
H8	0.237785	H16A	0.266031	C30A	-0.748068	H14D	0.306174
C9	-0.164137	C16	-0.178004	H13D	0.294592	O11A	-0.594137
H9	0.234637	H16	0.266987	H13E	0.228181	O11	-0.581311
C10	-0.173804	C17A	-0.394489	H13F	0.220674	O12A	-0.583040
H10	0.256330	H17A	0.213258	C10A	-0.734752	O12	-0.612818
C110	-0.757060	C17	-0.393503	H11D	0.260177	S1A	0.979312
H11A	0.293268	H17	0.214708	H11E	0.208471	S1	1.002.715
H11B	0.213574	C18A	0.489210	H11F	0.217247	Cu1	0.516501
H11C	0.241726						



### Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP)

Moleküler Elektrostatik Potansiyel haritası, elektrostatik potansiyel bölgelerini, nükleofilik veya elektrofilik olarak aktif bölgelerini renk derecelendirmesi yaparak gösteren yararlı bir araçtır [48, 49]. Kompleksin MEP 3D grafiği Şekil 4'te verilmiştir. MEP haritasında yer alan renkler, farklı elektrostatik potansiyel değerlerini göstermektedir; kırmızı en negatif bölgeyi, mavi en pozitif bölgeyi ve yeşil, sıfır potansiyel bölgesini temsil eder. Sırasıyla potansiyel renk değişimi; mavi>yeşil>sarı>turuncu>kırmızı şeklindedir. Kompleksin MEP haritasındaki renk kodu -0.113 a.u ve +0.113 a.u. arasında değişmektedir. En güçlü çekici atomlar mavi ile gösterilirken, en güçlü itici atomlar kırmızı ile gösterilir [50, 51]. Oksijen atomlarının (O11A, O11, O12A, O12) etrafı Şekil 4'te görüldüğü gibi kırmızı renk ile gösterilmektedir yani negatif potansiyel bölgeleridir. Pozitif potansiyel bölgeleri ise azot ve hidrojen atomlarıdır. Kompleks hem nükleofilik hem de elektrofilik reaksiyonlara uygundur. MEP kontör haritaları, pozitif ve negatif potansiyel çizgilerini iki boyutlu olarak gösteren haritalardır (Şekil 4). En yoğun çizgilerin yer aldığı oksijen atomları ve çevresindekiler elektronca zengin bölgelerdir ve molekülün potansiyel aktif bölgesi olduğu söylenebilir.

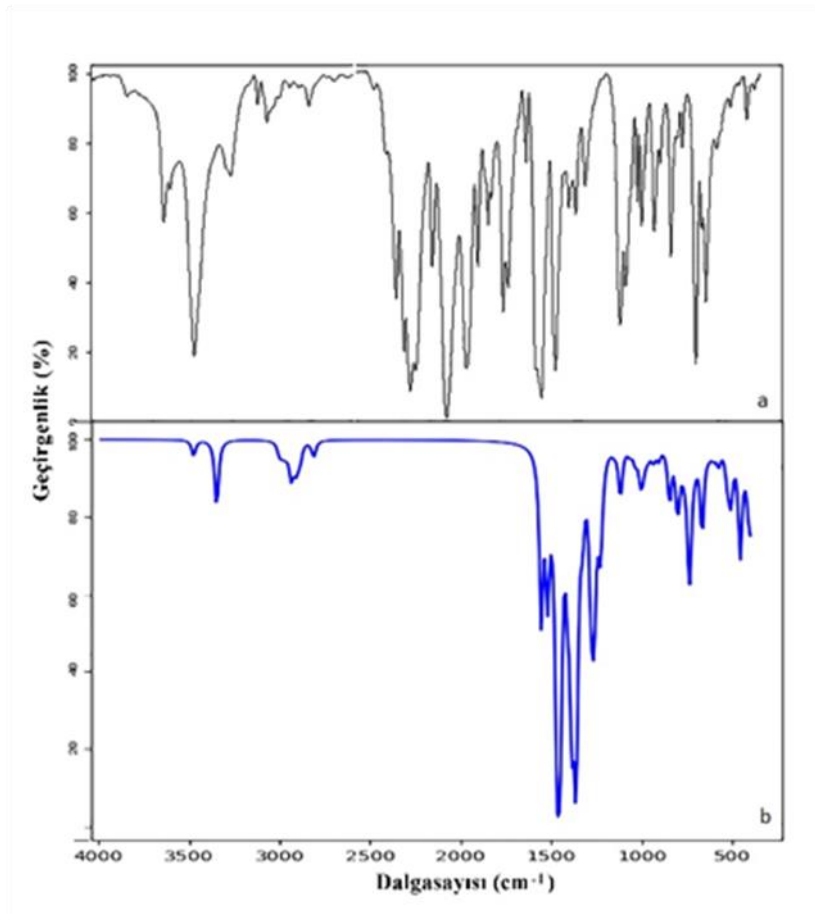


Şekil 4. Cu(II)-Kompleksin üst-üste binmiş MEP ve MEP kontör haritası

### Titreşim Spektrumu

Hsmz ligantının ve kompleksin teorik hesaplamaları sonucunda hesaplanan titreşim frekansları Tablo 4' de verilmektedir. Bu değerler arasında sapmaların oldukça küçük olduğu görülmektedir. Bu sapmalar korelasyon katsayısı (0.918) kullanılarak düzeltilir. Böylece teorik ve deneysel değerlerin uyumlu olduğu görülmektedir (Şekil 5). Kompleksin Öztürk [35] tarafından yapılan analiz sonucunda amino grubunun  $\nu_{as}(\text{NH}_2)$  ve  $\nu_s(\text{NH}_2)$  titreşim bantları  $3470 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3445 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3355 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3234 \text{ cm}^{-1}$  ve  $3216 \text{ cm}^{-1}$ 'de, serbest Sulfamethazinin ise  $3442 \text{ cm}^{-1}$  ve  $3342 \text{ cm}^{-1}$  de gözlenmiştir [35]. Bu titreşim bantlarının yüksek frekanslara kaymasının nedeni;  $\text{NH}_2$  ve  $\text{SO}_2$  grupları arasındaki hidrojen bağından kaynaklanmaktadır (Tablo 4) [36, 52, 53]. Teorik hesaplamalar sonucunda komplekse ait smz ligantına ait asimetrik ve simetrik  $\text{NH}_2$  titreşim pikleri  $3779 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3773 \text{ cm}^{-1}$  ve  $3640 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3635 \text{ cm}^{-1}$  de iken, serbest Hsmz' nin  $\text{NH}_2$  asimetrik ve simetrik titreşim banları sırası ile  $3748 \text{ cm}^{-1}$  ve  $3620 \text{ cm}^{-1}$ , Hsmz'ye

ait N-H pik değeri ise  $3571 \text{ cm}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Kompleks koordinasyonunda Hsmz ligantın –  $\text{SO}_2\text{NH}$ – bölümün deproton olmasi ile sulfonamido grubunun NH piki IR spektrumunda görülmediği bildirilmiştir [35]  $3114\text{-}2920 \text{ cm}^{-1}$  bölgesinde titreşim bantları, sulfamethazin  $\text{CH}_3$  gruplarının simetrik ve asimetrik titreşim modları, fenil ve pirimidin halkaları ile 2,2'-bipiridin ligantının C–H titreşim batlarında olduğu ifade edilmiştir [35]. Teorik hesaplamalar sonucunda  $3265\text{-}3051 \text{ cm}^{-1}$  aralığında olduğu görülmüştür. Kompleksteki  $-\text{SO}_2$  grubunun simetrik ve asimetrik gerilme bantları sırasıyla  $1384 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1308 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1142 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1123 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir. Teorik hesaplama sonucunda korelasyon değerinin 0.918 olduğu görülmektedir. Kompleksin  $\text{SO}_2$  asimetrik ve simetrik titreşim değerlerinin daha yüksek frekanslarda olması beklenilmektedir. Deneysel olarak elde edilen X-ışını analizi sonuçları incelendiğinde kompleksin S2-O11 ve S2-O12 bağ uzunlarının  $1.442 \text{ Å}$  ve  $1.434 \text{ Å}$ , S1A-O11A ve S1A-O12A bağ uzunlarının  $1.455 \text{ Å}$  ve  $1.422 \text{ Å}$  olduğu belirtilmiştir [18]. Teorik hesaplamalar sonucunda bağ uzunluklarının ise sırası ile  $1.63531 \text{ Å}$ ,  $1.64080 \text{ Å}$ ,  $1.63652 \text{ Å}$ ,  $1.63997 \text{ Å}$  olarak elde edilmiştir.  $\text{SO}_2$ 'nin asimetrik ve simetrik titreşim piklerindeki deneysel ve teorik değerler arasındaki farklılığın nedenin teorik hesaplamaların gaz fazında moleküller arası etkileşimlerin göz ardı edildiği izole bir molekül olduğu gerçeği dikkate alındığında asimetrik ve simetrik  $\text{SO}_2$  titreşim piklerinin deneysel ve teorik değerleri arasındaki farklılığın anlaşılması mümkündür. Bağ uzunluklarında gözlenen bu uzamanın titreşim frekanslarının düşük frekansları kaymasına neden olması ile açıklanabilir [52-54].



Şekil 1. Kompleksin (a) deneysel ve (b) hesaplanan FT-IR spektrumları

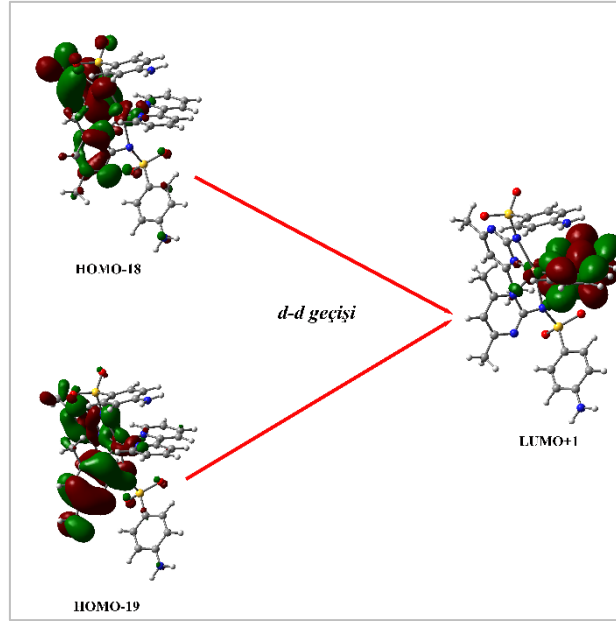
Tablo 4. Kompleksin ve Hsmz ligantının hesaplanan ve deneysel titreşim pikleri ( $\text{cm}^{-1}$ ) değerleri

Titreşim	Hsmz (den)	Hsmz(hes)	[Cu(smz) <sub>2</sub> bipy]·0.8H <sub>2</sub> O [52]	[Cu(smz) <sub>2</sub> bipy]·(hes)
$\nu(\text{H}_2\text{O})$	-	-	3611wb	-
$\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2)$	3442ç	3748	3470ş, 3445o	3779 3773
$\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2)$	3342ç	3620	3355ç, 3234om, 3216o	3640 3635
$\nu(\text{NH})$	3241ç	3571	-	-
$\nu(\text{CH})$ (bipy)	-	-	-	3265, 3264, 3253 3247, 3241, 3238, 3220, 3217
$\nu(\text{CH})$ (phenyl) + $\nu(\text{CH})$ (pyrimidine)	3094o 3067o 3059om 3039o	3228-3173	3114z-2920z	3251, 3245, 3244, 3231, 3228, 3224, 3195, 3191, 3191, 3188
$\nu(\text{CH}_3)$	3003çz 2963çz 2922çz	3117-3029	-	3176-3051
$\delta(\text{OH})$	-	-	1661om	3311-3197
$\delta(\text{NH}_2)$	1640ç	1710	1626ş	1689, 1688
Ring str(phenyl)	1597ç	1634	1597ş, 1578ç, 1558ş	1653, 1650, 1630, 1627, 1532, 1530
Ring str(bipy)	-	-	-	1647, 1646, 1622, 1611, 1532
Ring str(pyrimidine)	1578ş 1556ş	1604	-	1596, 1589, 1578, 1569
$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$	1507ş	1571-1514	1500ş	1513-1497
$\delta(\text{NH})$	1477o, 1189ş	1474, 1317	-	-
$\delta(\text{CH})$ (bipy)	-	-	1452ç	1499
$\delta(\text{CN})$	-	1473	-	1483, 1478
$\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$	1386ç 1303ç	889	1384ş, 1308ş	920,917
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	1341ş	1457-1447	1344ş	1445-1396
$\gamma(\text{NH})$	1326ş	1013	-	-
$\delta(\text{CH})$ (bipy)	-	-	1256ş, 1241ş	1475
$\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$	1146ç	742	1142om, 1123ş	803, 801
$\nu(\text{CN})$	1092ş,10 72ş	-	1076ş	1368
$\nu(\text{CN})$ (bipy)	-	-	-	1365
$\nu(\text{CC})$ (bipy)	-	-	1029z	1335, 1320
$\nu(\text{SN})$	974ş	977	974ş	949

(ç: çok şiddetli; ş: şiddetli; o: orta şiddetli; z: zayıf; çz: çok zayıf; om: omuz; s: simetrik; as: asimetrik; hs: halka soluklanma;  $\nu$ : gerilme;  $\delta$ : düzlem-içi açı bükülme;  $\gamma$ : düzlem-dışı açı bükülme;  $\omega$ : dalgalanma; t: kıvrıma; r: sallanma titreşimlerinin temsilidir).

### UV-Vis Spektroskopisi ve HOMO-LUMO Analizi

Kompleks ve Hsmz ligantının hesaplanan UV-Vis spektrumlarını analiz etmek için HOMO ve LUMO enerjilerinden faydalanılmaktadır [55]. Cu (II)-kompleksinin en büyük katkısı, HOMO( $\beta$ )(H-18 ve H-19)ve LUMO( $\beta$ ) (L+1) moleküler orbitallerinden gelir (Şekil 6). Bu orbitaller arası geçişlerin 760 nm ve 670 nm de olduğu hesaplanmıştır (Tablo 5).



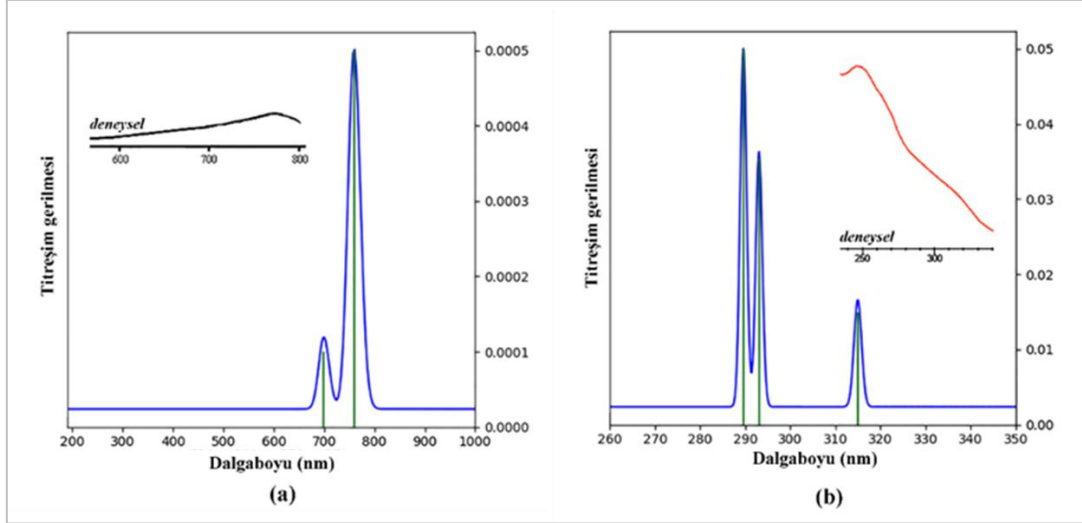
Şekil 6. Optimize Cu(II) katkılı kompleksin elektronik d-d geçişlerinin HOMO-LUMO gösterimi

Tablo 5. Optimize Cu(II) komplekslerinin ve sulfamethazin serbest ligantının elektronik geçişleri

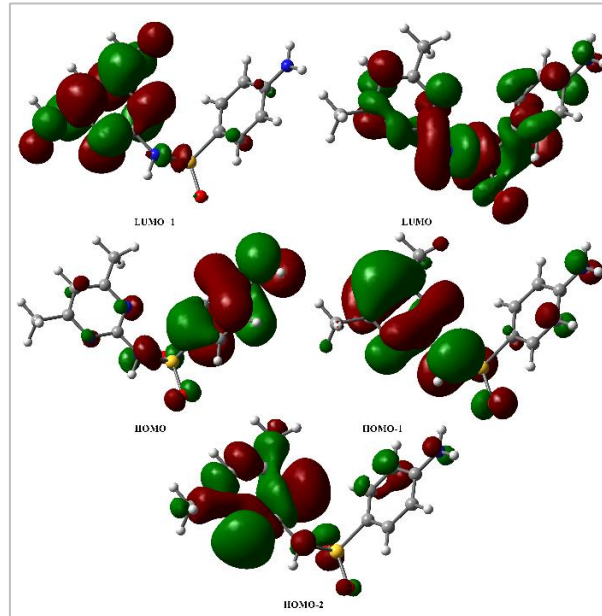
Geçiş Türü		DFT/B3LYP with 6-31G+LANL2DZ				
		$\lambda$ (nm)	Titreşim gerilmesi (f)	Büyük Katkılar		
Hsmz	ILCT	315	0.0149	H→L (%90)		
		293	0.0355	H-2→L (%38)	H-1→L (%51)	-
		289	0.0499	H-2→L (%30)	H-2→L+1(%26)	H-1→L (%34)
Cu(II)-	d-d	760	0.0005	H-20(B)→L+1(B) (%12)	H-18(B)→L+1(B) (%30)	H(B)→L(B) (%11)
		670	0.0001	H-23(B)→L+1(B) (%13)	H-22(B)→L+1(B) (%16)	H-19(B)→L+1(B) (%28)

ILCT: Inter Ligand Charge Transition (Ligantlar arası yük geçişi)  $\pi \rightarrow \pi^*$  and  $n \rightarrow \pi^*$

Deneysel değerlerle de karşılaştırıldığında bu geçişlerin d-d geçişleri olduğu söylenebilir (Şekil 7a). Bu absorpsiyon piklerinin konumu, literatür ile karşılaştırıldığında Cu(II) iyon çevresinin bozulmuş oktahedral koordinasyona sahip olduğu söylenebilir [56, 57]. Hsmz ligantının TD-SCF hesaplaması ile elde edilen spektrumunda, elektronik geçişler 315-289 nm dalga boyu aralığında gözlenmiştir (Şekil 7b). Bu dalga boyları  $\pi \rightarrow \pi^*$  ve  $n \rightarrow \pi^*$  (HOMO (H-2, H-1 ve H)' dan LUMO (L ve L+1)' a doğru) geçişlerine karşılık gelir (Şekil 8). Bu geçişe "Ligantlar Arası Yük Geçişi (ILCT)" denir.



Şekil 7. Simule edilmiş (a) Cu(II)-Kompleksinin (b) Hsmz ligandının UV-Vis spektrumu.

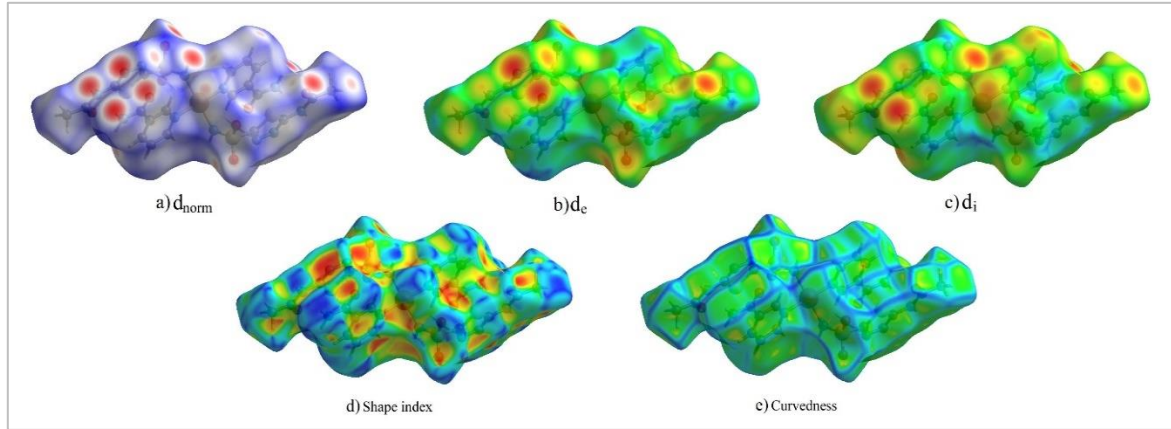


Şekil 8. Optimize Hsmz ligandının  $\pi \rightarrow \pi^*$  ve  $n \rightarrow \pi^*$  geçişlerine ait HOMO-LUMO gösterimleri.

### Hirshfeld Yüzey Analizi

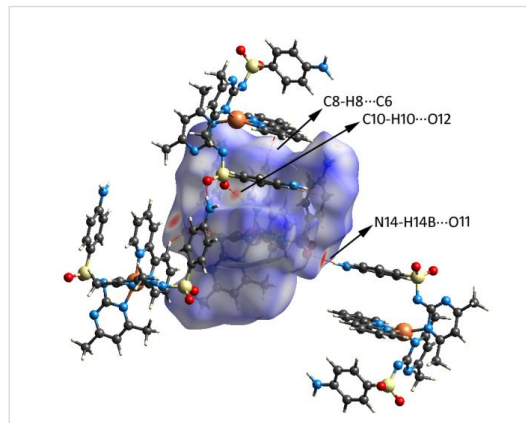
Hirshfeld yüzey analizi, moleküller arası etkileşimleri görselleştirir. Ayrıca moleküller arası etkileşimler hakkında bilgi edinmemizi sağlar. Hedef molekül ile karşılık gelen reseptör arasında moleküller arası etkileşimleri gözlemleyebilmemiz sayesinde biyolojik aktivitelerin anlaşılması açısından çok önemlidir. Ayrıca, iki boyutlu parmak izi analizi atom moleküller arası etkileşimlerinin yüzde katkısını da hesaplamaktadır. Hirshfeld yüzeyi ve iki boyutlu parmak izi grafikleri, X-ışını kristal yapı analizi sonucu elde edilen CIF dosyası kullanılarak Crystal Explorer programı ile hesaplanarak moleküller arası etkileşimlerini görsel olarak ortaya koymaktadır [58-64]. Hirshfeld yüzeyindeki her nokta için,  $d_i$  (iç mesafe); Hirshfeld yüzeyinin içindeki en yakın atomunun çekirdeğinden yüzeye olan mesafeyi,  $d_e$  (dış mesafe) ise Hirshfeld yüzeyinin dış kısmındaki en yakın atomun çekirdeğinden yüzeye olan mesafeyi

tanımlar [62, 63].  $d_{norm}$  kırmızı, beyaz ve mavi renklerden oluşur.  $d_{norm}$  değeri Van der Waals (vdW) yarıçaplarından kısaysa negatif, daha uzunsu pozitifdir. Moleküller arası etkileşimler Van der Waals yarıçaplarının toplamından kısa ise Hirshfeld yüzeyi üzerinde kırmızı bir nokta olarak gösterilir. Ayrıca, Van der Waals yarıçaplarının toplamından daha uzunsu mavi, yakın bir değer ise beyaz renk ile gösterilir [65].  $d_e$  ve  $d_i$  kombinasyonuna sahip bir 2D parmak izi grafiği, kristaldeki moleküller arası temasların bir özetini ifade eder.  $d_{norm}$ ,  $d_i$ ,  $d_e$ , yüzey indeksi ve eğrilik indeksi haritaları Şekil 9’da verilmiştir.  $d_{norm}$ ,  $d_i$  ve  $d_e$  yüzeylerinin indeksleri sırasıyla -0.4241 ile 1.6711, 0.8592 ile 2.9827 ve 0.8603 ile 2.8011 arasında elde edilmiştir. Şekil indeksi ve eğrilik indeksi sırasıyla -1&1 ve -4&0.4 arasında gözlemlenmiştir.



Şekil 9. Hirshfeld yüzeyine ait a)  $d_{norm}$  b)  $d_e$  c)  $d_i$  d) yüzey indeksi e) eğrilik indeksi

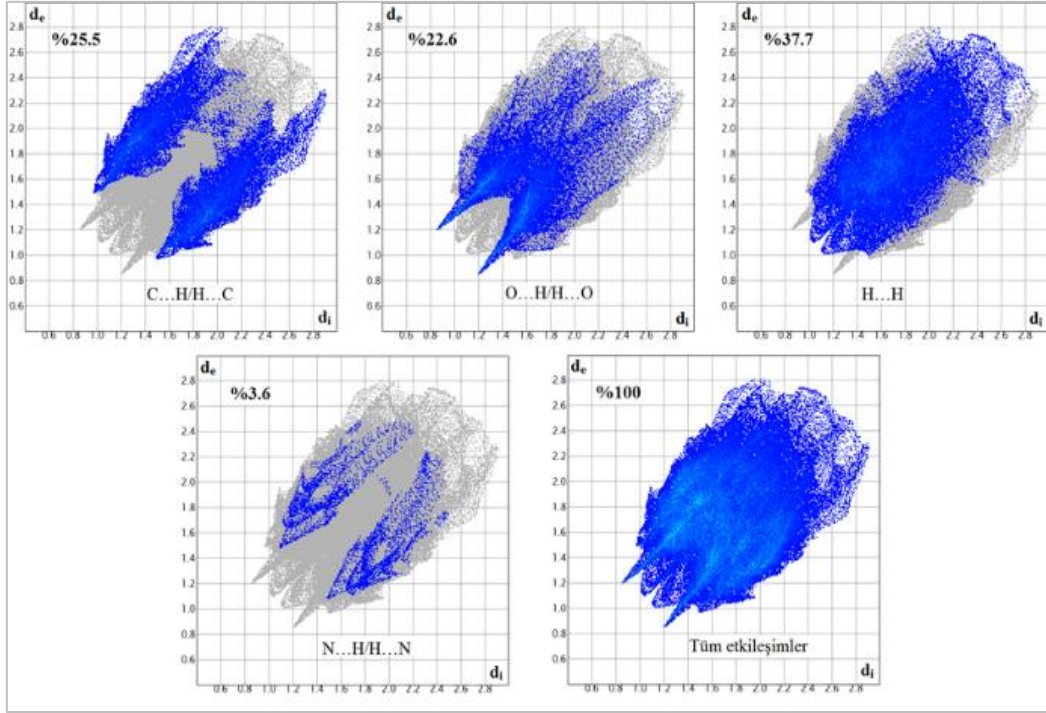
Kompleksin  $d_{norm}$  yüzeyi üzerinde moleküller arası etkileşimler Şekil 10’da sunulmaktadır. Şekil 10’u incelediğimizde, C8-H8...C6, C10-H10...O12, N14-H14B...O11 verici alıcı etkileşimlerini gösteren kırmızı noktalar belirgindir. Tablo 6’da kompleksin XRD ve Hirshfeld sonuçlarına göre kısa moleküller arası etkileşimleri verilmektedir.



Şekil 10. Moleküle ait  $d_{norm}$  yüzeyi üzerinde 3-boyutlu paket yapı görünümü.

2 boyutlu parmak izinin gösterimi Şekil 11’de verilmiştir. Toplam Hirshfeld yüzeyinin katkıları C...H/H...C (%21.6), O...H/H...O (%24.1), N...H/H...N (%7) ve H...H/H...H (%45.6) etkileşimlerine aittir.





Şekil 11. Hirshfeld yüzeyine ait 2-boyutlu parmak izi gösterimi

Tablo 6. Komplekste XRD ve Hirshfeld sonuçlarına göre kısa moleküller arası etkileşimler

Etkileşimler	H...A (XRD) Å	H...A (Hirshfeld) Å
N14—H14B...O11	2.170	2.199
C10-H10...O12	2.418	2.448

### Moleküler Kenetleme Çalışması

Sulfa grubu içeren antibakteriyel ilaçlar, insanlarda *E. coli* den dolayı oluşan bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde en çok tercih edilen etkili ilaçlardandır. Literatürde yer alan  $[Cu(smz)_2(pyridine)_2]$  [66] kompleksinin antibakteriyel çalışması göz önüne alındığında, kompleksin ve Hsmz ligantının *E. coli* üzerinde aktif olduğu anlaşıldı.  $[Cu(smz)_2(pyridine)_2]$  [66] çalışmasına benzer olarak  $[Cu(smz)_2bipy]$  kompleksinde *E. coli* üzerinde aktif olduğu düşünülerek, PDB’den Giraz tip IIA topoisomeras (PDB: 3UC1) ve DNA giraz A (PDB: 3LPX) enzimleri indirildi. Moleküler kenetleme sonuçları incelendiğinde, bakır kompleksinin, Giraz tip IIA topoisomeras için LEU714, GLU658, ARG607, GLU522, LEU712, ALA609, VAL660, ALA814 ve HIS557 DNA Giraz için ise VAL103, ALA93, LYS198, ASP104, PHE513, MET101 ve ILE130en aktif bölgelerde yer alan kalıntılardır. Tablo 7’ de Hsmz ligantının aktif bölgeleri listelenmiştir. Kompleksin ve ligantın bu enzimler ile hangi bölgelerde ne tür etkileşimler yaptığı Şekil 12’ de detaylı olarak verilmiştir.

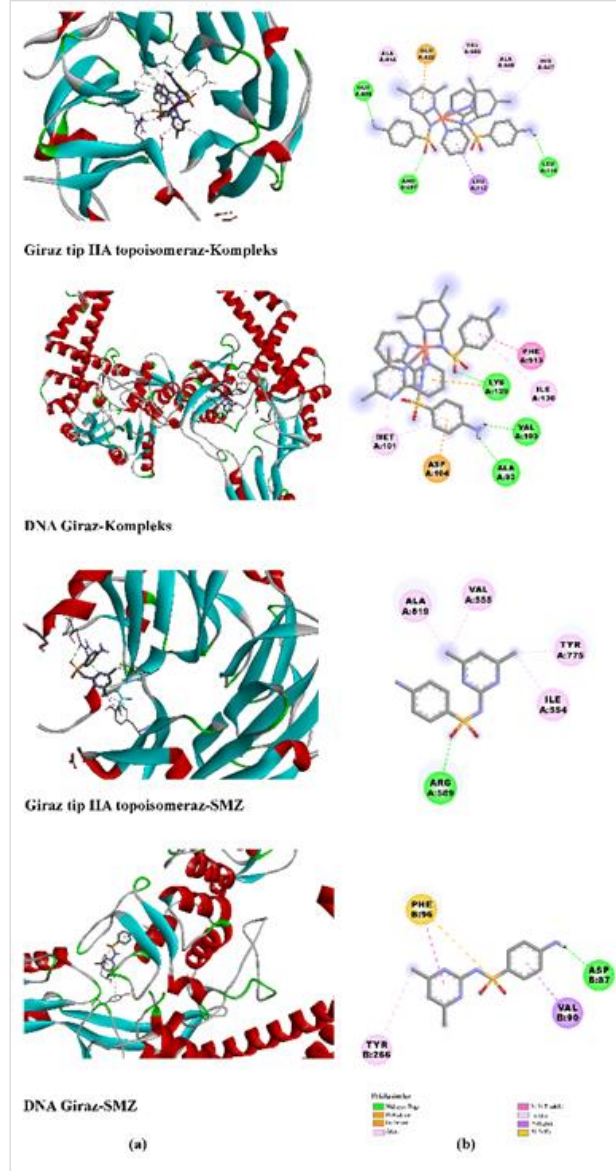
Tablo 7. Moleküler kenetleme çalışmasında kompleksin ve sulfamethazin DNA Giraz (3LPX) ve Giraz tip IIA topoisomeraz (3UC1) ile etkileşim detayları

Reseptör	Ligant	Ligant ve reseptörlerin bağlanma bölgeleri	Bağlanma Tipi	Uzaklık (Å)
Giraz tip IIA topoisomeraz (3UC1)	[Cu(smz) <sub>2</sub> bipy]	smz anyonunun NH <sub>2</sub> grubu- A:LEU714:O	H-Bağı	2.4086
		smz anyonunun NH <sub>2</sub> grubu - A:GLU658:OE2	H-Bağı	1.8163
		A:ARG607:HH22 - sulfo grubunun O atomu	H-Bağı	2.9613
		A:GLU522:OE1- smz anyonunun pirimidin pi halkası	Pi-Anyon	3.6532
		A:LEU712:CD1 – bipy ligantının piridin pi halkası	Pi-Sigma	3.8767
		bipy ligantının piridin pi halkası - A:ALA609	Pi-Alkil	5.1970
		bipy ligantının piridin pi halkası - A:VAL660	Pi-Alkil	4.5561
		smz anyonunun pirimidin pi halkası- A:ALA814	Pi-Alkil	4.5742
	A:HIS557 - smz anyonunun metil grubu	Pi-Alkil	4.8885	
	Hsmz	A:ARG589:HE -sulfo grubunun O atomu	H-Bağı	2.7373
		A:ALA819 – pirimidin halkasındaki metil grubu-1	Alkil	4.1864
		pirimidin halkasındaki metil grubu-1 - A:VAL555	Alkil	4.5856
		pirimidin halkasındaki metil grubu-2- A:ILE554	Alkil	4.6857
		A:TYR775 - pirimidin halkasındaki metil grubu-2	Pi-Alkil	4.3065
DNA Giraz (3LPX)	[Cu(smz) <sub>2</sub> bipy]	smz anyonunun NH <sub>2</sub> grubu - A:VAL103:O	H-Bağı	2.2820
		smz anyonunun NH <sub>2</sub> grubu - A:ALA93:O	H-Bağı	2.3598
		A:LYS129:HZ2 - sulfo grubunun O atomu	H-Bağı	2.4124
		A:LYS129:NZ - bipy ligantının piridin pi halkası	Pi-Katyon	3.7028
		A:ASP104:OD1 - smz anyonunun benzen pi halkası	Pi-Anyon	3.3336
		smz anyonunun benzen pi halkası - A:PHE513	Pi-Pi istif	4.9630
		smz anyonunun benzen pi halkası- A:MET101	Pi-Alkil	4.8472
		smz anyonunun benzen pi halkası- A:ILE130	Pi-Alkil	5.4096
	bipy ligantının piridin pi halkası- A:MET101	Pi-Alkil	5.4963	
	Hsmz	NH <sub>2</sub> grubu - B:ASP87:OD1	H-Bağı	1.9093
		B:VAL90:CG1 - benzen pi halkası	Pi-Sigma	3.8356
		sulfo grubunun S atomu - B:PHE96	Pi-Sulfur	5.7060
		pirimidin pi halkası - B:PHE96	Pi-Pi	4.7768
		B:TYR266 - pirimidin halkasındaki metil grubu	Pi-Alkil	4.8023

Kompleksin ve ligantın her iki enzime bağlanma enerjileri incelendi ve kompleks ile Giraz tip IIA topoisomeraz arasındaki Gibbs enerjisinin diğer etkileşimlere göre en fazla olduğu görülmüştür. Gibbs enerjisine bağlı inhibisyon sabitleri hesaplandı ve 3UC1 ve 3LPX kodlu enzimler için sırasıyla, kompleks için 0.028  $\mu$ M ve 0.832  $\mu$ M, ligant için 12.250  $\mu$ M ve 6.268  $\mu$ M olarak hesaplandı (Tablo 8). İnhibisyon sabiti ne kadar küçük olursa, enzim aktivitesini inhibe etmek için daha az ilaca ihtiyaç duyulur [36]. Buna göre kompleks ile Giraz tip IIA topoisomeraz arasındaki etkileşimden hesaplanan inhibisyon sabiti 0.028  $\mu$ M olarak en düşük K<sub>i</sub> seviyesine yani yüksek afiniteye sahiptir. Günümüzde



antibiyotikler düzensiz ve bilinçsiz kullanımından dolayı antibiyotiklere karşı direnç oluşmaktadır. Özellikle *E. coli*' nin antibakteriyel ilaçlara hızla direnç geliştirdiği bilinmektedir. Moleküler kenetleme çalışmasından elde edilen hesaplamalar sonucunda Cu (II)-kompleksinin ilaç sektöründe sulfo grubu içeren antibiyotiklere alternatif olabileceği söylenebilir.



Şekil 12. Giraz tip IIA topoisomerez (3UC1) ve DNA Giraz (3LPX) ile Cu(II)-kompleksinin ve sulfamethazin ligantının yörelerinin (a) 3D görüntüsü, (b) 2D görüntüsü

Tablo 8. Bahsedilen proteinler ile kompleksin (K) ve sulfamethazin ligantının (L)  $\Delta G_B$  ve  $K_i$  değerleri

Protein ID	Serbest Bağlanma Enerjisi $\Delta G_B$ (kcal/mol)	İnhibisyon Sabiti, $K_i$ ( $\mu M$ )
X-3LPX	-8.3	0.832
X-3UC1	-10.3	0.028
L-3LPX	-7.1	6.268
L-3UC1	-6.7	12.250

**ADME ve Toksikoloji**

ADME, ilacın insanlar üzerinde etki mekanizması ve farmakokinetik özelliklerini inceler. İlaç, düzgün dağılmalı, yavaş metabolize edilmeli ve doğru ve zararsız bir şekilde atılmalıdır. ADME özellikleri zayıfsa, o ilaç muhtemelen başarısız olmuştur [67]. Lipinski' nin [68] beş kuralı, ilaç benzeri özelliklere sahip olup ve olmadığını ayırt etmek için önemlidir [68] Lipinski'nin [68] beş kuralı şu şekildedir;

1. molekül ağırlığı 500g/mol'den az olmalı,
2. LogP değeri 5'ten küçük olmalı,
3. H-bağı alıcı sayısı 10'dan az olmalı,
4. H-bağı verici sayısı 5'ten az olmalıdır
5. Molar refraktivite 40 ile 130 arasında olmalıdır.

Bu kurallardan iki veya daha fazlasına uyan bileşikler yüksek ilaç benzerliğine sahiptir. İkidenden az ise, daha az ilaç benzerliği gösterirler. Her iki bileşik de Lipinski'nin beş kuralına [68] göre değerlendirildiğinde, üç kurala uyarken (2, 3 ve 4), iki kuralına uymaz (1 ve 5). Bileşiğin fizikokimyasal özellikleri, ilaca benzerliği ve farmakokinetik özellikleri Tablo 9'da verilmiştir.

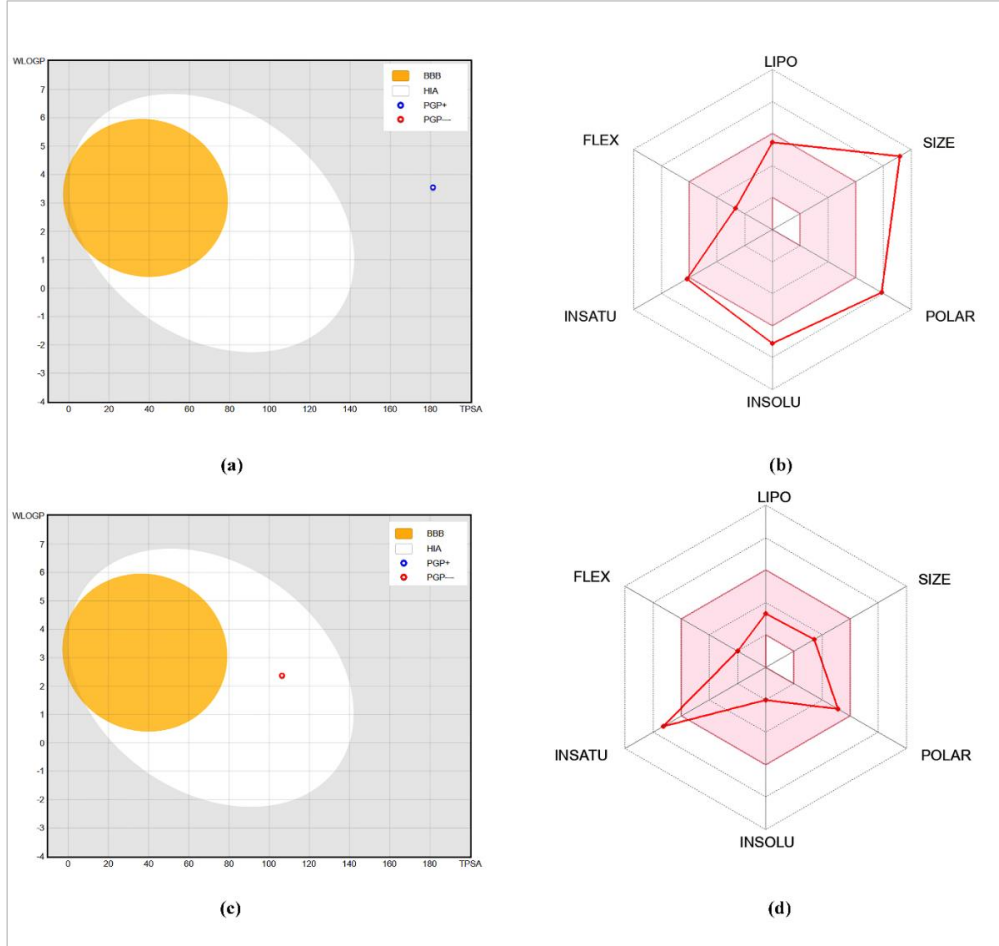
**Tablo 9.** Bileşiklerin SwissADME tahmini ile fizikokimyasal özellikleri, ilaca benzerliği ve farmakolojik özellikleri

Fizikokimyasal Özellikler	İlaç özellikleri		Farmokinetik Özellikler					
	Kompleks	Hsmz	Kompleks	Hsmz	Kompleks	Hsmz		
MA	778.41	278.33	WLogP	3.55	2.37	GI	Düşük	Yüksek
H-A	8	4	iLOGP	0	1.73	BBB	Hayır	Hayır
H-D	2	2	XLOGP3	3.55	0.28	P-gp substrat	Evet	Hayır
TPSA	181.24	106.35	SA	6.78	2.48	CYP1A2 inhibitör	Hayır	Hayır
Dönebilen bağlar	4	3	ESOL	-7.1	-2.0			
MR	223.38	73.48				CYP2D6 inhibitör	Hayır	Hayır
Kırılma Csp3	0.24	0.17				CYP3A4 inhibitör	Evet	Hayır
N atom	51	19				LogK <sub>p</sub>	-8.19	-7.80

MA: Moleküler ağırlık (g/mol); H-A: H-bağı alıcı sayısı; H-D: H-bağı verici sayısı; ESOL: çözünürlük; TPSA: Toplam polar yüzey alanı; MR: Molar kırılma; Natoms: atom sayısı; WLogP, iLOGP, XLOGP3: lipofiliklik; SA: Sentetik Erişilebilirlik; GI: gastrointestinal; BBB: Kan beyin bariyeri; P-gp: P-glikoprotein; CYP1A2: sitokrom P450 ailesi 1 alt aile A üyesi 2 (PDB: 2HI4); CYP2D6: sitokrom P450 ailesi 2 alt aile D üyesi 6 (PDB:5TFT); CYP3A4: sitokrom P450 ailesi 3 alt aile 4 (PDB:4D75), Log K<sub>p</sub>: Cilt geçirgenliği (cm/s)

Hem kompleksin hem de ana liganın kan-beyin penetrasyonu (BBB) ve gastrointestinal absorpsiyon (GI) özellikleri BOILED-Egg (The Brain Or Intestinal EstimateD) permeasyon yöntemi ile incelenmiştir. Bu yöntem, ilaç keşfi ve geliştirilmesinde oldukça önemlidir. Bileşiğin BOILED-Egg radarı Şekil 13'a da gösterilmiştir. Sarı bölge, gastrointestinal sistemin yüksek emilimini temsil ederken, beyaz bölge, kan-beyin bariyerine erişilebilirliği temsil eder. Nokta, sarı bölgedeyse bileşik, merkezi sinir sistemine (CNS) ilaç taşınmasında sorun yaşayan kan beyin bariyerini (BBB) geçebilir [69]. Komplekste nokta hem sarı hem de beyaz bölgenin dışında kalmaktadır. Bu nedenle düşük GI

absorpsiyonu gösterir ve önemli BBB geçirgenliği göstermezler. Hsmz ligandında ise nokta beyaz bölgededir (Şekil 13c). Bu da ligandın yüksek GI absorpsiyonu gösterdiğini ve BBB penetrasyonu sergilediğini gösterir. P-gp'nin substratı olma olasılığı daha yüksekse yani belirli bir CYP' nin inhibitörü (Komplekste CYP3A4 inhibitörü ki bu inhibitör ilaçların önemli bir bölümünü metabolize ederler.) ise Tablo 9'daki gibi "evet" olarak yazılır. BOILED-Egg grafiklerindeki mavi ve kırmızı nokta bulunması sırasıyla kompleksin P-gp substratı olduğunu, ligandın ise P-gp substratı olmadığını öngörür.



**Şekil 13.** Kompleksin (a) BOILED-Egg radarı (b) Radar grafiği; Ligandın (c) BOILED-Egg radarı (d) Radar grafiği (LIPO: Lipofilisite (WLogP), BOYUT: Moleküler Ağırlık (MA), POLAR: Polarite (TPSA), INSOLU: Çözünürlük (LogS), INSATU: Doymamışlık (Fraction Csp3), FLEX: Esneklik (Dönebilen bağlar))

Kompleksin radar grafiği (Şekil 13b), kompleksin doymamışlığı ve lipofilikliği makul sınırlar içinde olmasına rağmen çözünürlüğü, esnekliği, boyutu ve polaritesi sınırların dışında kalmaktadır. Çözünür bir moleküle sahip olmak, kullanım ve formülasyon kolaylığı olmak üzere birçok ilaç geliştirme faaliyetini büyük ölçüde kolaylaştırır. Ayrıca, oral uygulamayı hedefleyen keşif projeleri için çözünürlük, emilimi etkileyen önemli bir özelliktir. Bu nedenle kompleksin oral kullanım için çok uygun olmadığı söylenebilir. Kompleks ve Ligandın WLOGP değerleri sırasıyla 3.55 ve 2.37 olarak bulundu. 5' den küçük olduğu için bu bileşikler lipofilik karaktere sahiptir, bu nedenle hücre zarından kolayca geçebilir ve yağda çözülerek kullanılabilir.  $\log K_p$  değeri ne kadar negatif olursa, molekül o kadar az

deri geçirgenliğine sahiptir. Kompleks, cilt yoluyla nispeten ortalama  $-8.19$  cm/s, ligant ise  $-7.80$  cm/s hızında emilebilir. Buna göre kompleks serbest liganda göre daha az deri geçirgenliğine sahiptir. Kompleks ve ligandın TPSA değerleri sırasıyla  $181\text{\AA}^2$  ve  $106\text{\AA}^2$  olarak bulunmuştur. Buna göre her ikisinin de oldukça arzu edilen bir polar yüzey alanına sahip olduğu söylenemez (Şekil 13d). Bu özellikler, kompleksin yan etkileri açısından soruna yol açacağını göstermektedir. CADD aktivitelerinin kilit yönlerinden biri de sentezlenecek ve biyolojik tahlillere veya diğer deneylere sunulacak en umut verici sanal moleküllerin seçimine yardımcı olmaktır. Bu amaçla sentetik erişilebilirlik (SA) faktörü, bu seçim sürecinde dikkate alınmalıdır. SA faktörü 1 (çok kolay) ile 10 (çok zor) arasında değişir. Yüksek SA skoruna sahip moleküllerin sentezlenmesi zordur, oysa düşük SA skor değerlerine sahip moleküllere sentetik olarak kolayca erişilebilir. Zaten tahmin edilebileceği gibi Cu(II) kompleksi büyük bir yapıya sahip olmasından dolayı SA skoru  $6.78$  olarak bulundu. Sentetik erişilebilirliği serbest liganda ( $2.48$ ) göre daha zordur. Tüm bunlar göz önüne alındığında sentezlenen Cu(II) kompleksi lipofilikliği açısından uygun olmasına rağmen suda çözünürlük polaritesi, büyüklüğü açısından ilaç olarak çok uygun değildir. Aynı zamanda sentetik açılarından erişilebilirliği düşünüldüğünde öncelik başka ilaçlara verilebilir. Buna rağmen P-gp substratı olduğunu düşünülürse uygun koşullar sağlandığında ilaç olma özelliği hiç yok denilemez. Daha doğru sonuçlar elde etmek için *in vitro* ve *in vivo* deneysel çalışmalarla desteklenebilir. Kompleksin LD50 değeri, ProTox-II sunucusu kullanılarak  $1000$  mg/kg olarak, Hsmz ligantı ise  $5000$  olarak bulundu. LD50 değeri ne kadar düşüğe öldürücü değer o kadar yüksektir. Buna göre kompleksin toksisitesi Hsmz' e göre daha fazladır. Kompleks yutulması halinde zararlı olabilecek olan sınıf 4' tedir ( $300 < LD50 \leq 2000$ ). Hsmz ise tam sınırdadır. Yani toksik etkisi varsa da çok az olduğu sınıf 5' e dahildir ( $2000 < LD50 \leq 5000$ ). Hem kompleks hem de Hsmz ligantı hepatotoksosite, mutajenite, immünotoksitesisi, hepatotoksitesisi ve sitotoksitesisi inaktif bulunurken, kanserojenlikher ikisinde de aktif olduğu bulundu (Tablo 10).

**Tablo 10. Pro-TOX II ile hesaplanan kompleks ve Hsmz'nin toksisite tahmin değerleri ve sonuçları**

Toksosite (olasılık yüzdesi)						
Bileşik	Hepatotoksosite	Kanserojenlik	İmmünotoksosite	Mutajenite	Sitotoksosite	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
<b>Kom.</b>	İnaktif (%65)	Aktif (%57)	İnaktif (%97)	İnaktif (%66)	İnaktif (%60)	1000 (%17)
<b>Hsmz</b>	İnaktif (%75)	Aktif (%81)	İnaktif (%99)	İnaktif (%97)	İnaktif (%81)	5000 (%100)

## Sonuç

Öztürk ve ark. [35] tarafından tek kristal XRD analizi ile aydınlatılan  $[\text{Cu}(\text{smz})_2\text{bipy}]$  kompleksinin DFT hesaplamaları B3LYP/LanL2DZ baz seti kullanılarak, Hsmz ligantı ise B3LYP/6-311G baz seti kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar, gaz fazında, yani moleküller arası etkileşimlerin ihmal edildiği izole bir ortamda gerçekleşir. TD-SCF hesaplamaları sonucunda, elektronik geçişler elde edilmiştir.  $550\text{-}750$  nm aralığında görülen bu bantlar d-d geçişlerine atfedilmiştir. Bu geçişler literatür

ile karşılaştırıldığında; Cu (II) iyonunun çevresinin bozulmuş oktahedral koordinasyona sahip olduğunu göstermektedir. Kompleksteki en yüksek negatif yükler Mulliken popülasyon analizi ile hesaplanmış ve bu negatif bölgelerin kimyasal tepkimeye en uygun bölgeler olduğu söylenebilir. Öztürk ve ark. [35] tarafından gerçekleştirilen deneysel çalışma incelendiğinde, bu bölgelerin hidrojen bağı yapan elektrofilik ve nükleofilik bölgeler olduğu görülmüştür. Sınır moleküler orbitalleri (FMOs) incelendiğinde kompleksin Hsmz'e göre daha yüksek reaktivite ve daha yüksek biyolojik aktivite gösterdiği görülmüştür. Hirshfeld analizi ile moleküller arası etkileşimler ve atomların birbiri ile olan etkileşimlerinin % katkısını hesaplanmıştır. Bu katkıların en etkin olanları C•••H/H•••C (%21.6), O•••H/H•••O (%24.1) olarak gözlenmiştir. Moleküler modelleme çalışmasında, kompleksin Giraz Tip IIA Topoizomeraz proteini ile skoru oldukça yüksek bulunmuştur. Buna bağlı olarak inhibisyon sabiti oldukça küçüktür. Yani Hsmz' e göre çok daha az verilen bir ilaç ile etkisi daha yüksek olacaktır. Buna bağlı olarak yapılan ADME çalışmasında Cu(II)-kompleksinin P-gp substratı olduğu görülmüş, aynı zamanda hali hazırda kanser tedavisinde kullanılan Hsmz ligantı gibi kompleksin de kansere karşı aktif olduğu ancak toksikolojik açıdan daha çok toksik olduğu tespit edilmiştir.

#### **Teşekkür -**

**Fon/Finansman bilgileri** - Herhangi bir kurum veya kuruluş tarafından desteklenmemiştir.

**Etik Kurul Onayı ve İzinler** Çalışma, etik kurul izni veya herhangi bir özel izin gerektirmemektedir

**Çıkar çatışmaları/Çatışan çıkarlar**- Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

**Yazarların Katkısı**- Yazarlar çalışmaya eşit oranda katkı sağlamıştır.

#### **Kaynaklar**

- [1] Tekeli, Y., Lolak, N., Sonmez, G. D., Tekeli, T. & Akocak, S. (2022). Antibacterial, antioxidant and DNA cleavage activity evaluation of substituted phenylureido sulfaguanidine and sulfamethazine derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 56(3), 345-349. <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02654-7>
- [2] Scozzafava, A., Owa, T., Mastrolorenzo, A. & Supuran, C. T. (2003). Anticancer and antiviral sulfonamides. *Current Medicinal Chemistry*, 10(11), 925-953. <https://doi.org/10.2174/0929867033457647>
- [3] Mansour, A. M., Abdel-Ghani, N. T. & Ragab, M. S. (2020). DNA/bovine serum albumin binding and cytotoxicity of transition metal ternary complexes based on sulfamethazine and bromazepam drugs. *Applied Organometallic Chemistry*, 34(12), e5995. <https://doi.org/10.1002/aoc.5995>
- [4] Timerbaev, A. R., Hartinger, C. G., Aleksenko, S. S. & Keppler, B. K. (2006). Interactions of antitumor metallodrugs with serum proteins: advances in characterization using modern analytical methodology. *Chemical Reviews*, 106(6), 2224-2248. <https://doi.org/10.1021/cr040704h>
- [5] Baenziger, N. & Struss, A. W. (1976). Crystal structure of 2-sulfanilamidopyrimidinesilver (I). *Inorganic Chemistry*, 15(8), 1807-1809.

- [6] Cook, D. S. & Turner, M. F. (1975). Crystal and molecular structure of silver sulphadiazine (N 1-pyrimidin-2-ylsulphanilamide). *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (10), 1021-1025. <https://doi.org/10.1021/ic50162a014>
- [7] Baenziger, N., Modak, S. & Fox, C. (1983). Diamminebis (2-sulfanilamidopyrimidinato) zinc (II), [Zn (C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S) 2 (NH<sub>3</sub>) 2]. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 39(12), 1620-1623. <https://doi.org/10.1107/S0108270183009506>
- [8] Ferrer, S., Borrás, J. & Garcia-España, E. (1990). Complex formation equilibria between the acetazolamide ((5-acetamido-1, 3, 4-thiadiazole)-2-sulphonamide), a potent inhibitor of carbonicanhydrase, and Zn (II), Co (II), Ni (II) and Cu (II) in aqueous and ethanol-aqueous solutions. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 39(4), 297-306. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(90\)80028-V](https://doi.org/10.1016/0162-0134(90)80028-V)
- [9] Supuran, C. T., Mincione, F., Scozzafava, A., Briganti, F., Mincione, G. & Ilies, M. A. (1998). Carbonic anhydrase inhibitors—part 52. Metal complexes of heterocyclic sulfonamides: a new class of strong topical intraocular pressure-lowering agents in rabbits. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 33(4), 247-254. [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(98\)80059-7](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(98)80059-7)
- [10] Scozzafava, A., Menabuoni, L., Mincione, F., Briganti, F., Mincione, G. & Supuran, C. T. (1999). Carbonic anhydrase inhibitors. Synthesis of water-soluble, topically effective, intraocular pressure-lowering aromatic/heterocyclic sulfonamides containing cationic or anionic moieties: is the tail more important than the ring? *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(14), 2641-2650. <https://doi.org/10.1021/jm9900523>
- [11] Öztürk, F., Aycan, T. & Özdemir, N. (2019). Cu (II)-sulfamethazine complex with N-(2-hydroxyethyl)-ethylenediamine: synthesis, spectroscopic, structural characterization and antimicrobial activity. *Journal of Coordination Chemistry*, 72(19-21), 3359-3370. <https://doi.org/10.1080/00958972.2019.1692201>
- [12] Barboiu, M., Cimpoesu, M., Guran, C. & Supuran, C. T. (1996). 1, 3, 4-Thiadiazole derivatives. part 91. synthesis and biological activity of metal complexes of 5-(2-aminoethyl)-2-amino-1, 3, 4-thiadiazole. *Metal-Based Drugs*, 3(5), 227-232.
- [13] Briganti, F., Scozzafava, A. & Supuran, C. (1997). Sulfonylamido derivatives of aminoglutethimide and their copper (II) complexes: a novel class of antifungal compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 32(11), 901-910. [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(97\)82776-6](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(97)82776-6)
- [14] Tiwari, R., Haridas, M. & Singh, T. (1984). Structure of 4-amino-N-(4, 6-dimethyl-2-pyrimidinyl) benzenesulphonamide (sulfadimidine), C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 40(4), 655-657. <https://doi.org/10.1107/S0108270184005229>
- [15] Giuseppetti, G., Tadini, C. & Bettinetti, G. (1994). 1: 1 Molecular complex of trimethoprim and sulfametrole. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 50(8), 1289-1291. <https://doi.org/10.1107/S0108270193013253>
- [16] Koyanagi, N., Nagasu, T., Fujita, F., Watanabe, T., Tsukahara, K., Funahashi, Y., Fujita, M., Taguchi, T., Yoshino, H. & Kitoh, K. (1994). In vivo tumor growth inhibition produced by a novel sulfonamide, E7010, against rodent and human tumors. *Cancer Research*, 54(7), 1702-1706.
- [17] Mansour, A. M. (2013). Molecular structure and spectroscopic properties of novel manganese (II) complex with sulfamethazine drug. *Journal of Molecular Structure*, 1035, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.09.048>

- [18] Öztürk, F., *Sulfonamid türevlerinin metal komplekslerinin sentezi, yapı analizi, spektroskopik ve elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi / Synthesis, structural, spectroscopic and electrochemical investigation of metal complexes of sulfonamide derivatives*, Physics, [Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs University], 2015, p. 78.
- [19] Frisch, M., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B. & Petersson, G. e. (2014). Gaussian~ 09 Revision D. 01.
- [20] Dennington II, R., Keith, T. & Millam, J. (2009). GaussView 5.0, Wallingford, CT.
- [21] Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648-5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
- [22] Lee, C., Yang, W. & Parr, R. G. (1988). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 37(2), 785-789. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>.
- [23] Chiodo, S., Russo, N. & Sicilia, E. (2006). LANL2DZ basis sets recontracted in the framework of density functional theory. *The Journal of Chemical Physics*, 125(10), 104107. <https://doi.org/10.1063/1.2345197>. 10.1063/1.2345197
- [24] Check, C. E., Faust, T. O., Bailey, J. M., Wright, B. J., Gilbert, T. M. & Sunderlin, L. S. (2001). Addition of polarization and diffuse functions to the LANL2DZ basis set for p-block elements. *The Journal of Physical Chemistry A*, 105(34), 8111-8116. <https://doi.org/10.1021/jp0119451>
- [25] Frisch, M. J., Pople, J. A. & Binkley, J. S. (1984). Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. *The Journal of Chemical Physics*, 80(7), 3265-3269. <https://doi.org/10.1063/1.447079>.
- [26] O'boyle, N. M., Tenderholt, A. L. & Langner, K. M. (2008). CcLib: a library for package-independent computational chemistry algorithms. *Journal of Computational Chemistry*, 29(5), 839-845. <https://doi.org/10.1002/jcc.20823>
- [27] Turner, M., McKinnon, J., Wolff, S., Grimwood, D., Spackman, P., Jayatilaka, D. & Spackman, M. (2017). CrystalExplorer17, The University of Western Australia Perth, WA, Australia.
- [28] Trott, O. & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [29] BIOVIA, D. S. (2015). BIOVIA Discovery Studio Visualizer, v16. 1.0. 15350, San Diego: Dassault Systemes.
- [30] Daina, A., Michielin, O. & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7(1), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- [31] Norinder, U. & Bergström, C. A. (2006). Prediction of ADMET properties. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 1(9), 920-937. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200600155>
- [32] Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K. & Preissner, R. (2018). ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W257-W263. <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>

- [33] Banerjee, P., Dehnostel, F. O. & Preissner, R. (2018). Prediction is a balancing act: importance of sampling methods to balance sensitivity and specificity of predictive models based on imbalanced chemical data sets. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00362>.
- [34] Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R. & Preissner, R. (2014). ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Research*, 42(W1), W53-W58. <https://doi.org/10.1093/nar/gku401>
- [35] Öztürk, F., Bulut, I. & Bulut, A. (2015). Structural, spectroscopic, magnetic and electrochemical studies of monomer N-substituted-sulfanilamide copper (II) complex with 2, 2'-bipyridine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 138, 891-899. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.10.065>
- [36] Öztürk, F. & Aycan, T. (2021). Çinko (II)–Sulfatiazol-Dietilentriamin Kompleksinin hesaplamalı kimya yöntemi ile spektroskopik özelliklerinin incelenmesi: Moleküler modelleme çalışması. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21(1), 65-83. <https://doi.org/10.35414/akufemubid.823025>
- [37] İnkaya, E., Günnaz, S., Özdemir, N., Dayan, O., Dinçer, M. & Çetinkaya, B. (2013). Synthesis, spectroscopic characterization, X-ray structure and DFT studies on 2,6-bis(1-benzyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)pyridine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 103, 255-263. doi:<https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.11.039>
- [38] Parr, R. G. & Yang, W. (1984). Density functional approach to the frontier-electron theory of chemical reactivity. *Journal of the American Chemical Society*, 106(14), 4049-4050. <https://doi.org/10.1021/ja00326a036>
- [39] Parr, R. G., Donnelly, R. A., Levy, M. & Palke, W. E. (1978). Electronegativity: the density functional viewpoint. *The Journal of Chemical Physics*, 68(8), 3801-3807. <https://doi.org/10.1063/1.436185>
- [40] Parr, R. G. & Pearson, R. G. (1983). Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *Journal of the American Chemical Society*, 105(26), 7512-7516.
- [41] Srivastava, H., Pasha, F. & Singh, P. (2005). Atomic softness-based QSAR study of testosterone. *International Journal of Quantum Chemistry*, 103(3), 237-245. <https://doi.org/10.1063/1.436185>
- [42] Parr, R. G., Szentpály, L. v. & Liu, S. (1999). Electrophilicity index. *Journal of the American Chemical Society*, 121(9), 1922-1924. <https://doi.org/10.1021/ja983494x>
- [43] Chattaraj, P. K., Maiti, B. & Sarkar, U. (2003). Philicity: a unified treatment of chemical reactivity and selectivity. *The Journal of Physical Chemistry A*, 107(25), 4973-4975. <https://doi.org/10.1021/jp034707u>
- [44] Cakmak, S., Aycan, T., Yakan, H., Veyisoglu, A., Tanak, H. & Evecen, M. (2023). Preparation, spectroscopic, X-ray crystallographic, DFT, antimicrobial and ADMET studies of N-[(4-fluorophenyl) sulfanyl]phthalimide. *Acta Crystallographica Section C*, 79(6), 249-256. <https://doi.org/10.1107/S2053229623003418>
- [45] Temel, E., Alaşalvar, C., Eserci, H. & Açar, E. (2017). Experimental (X-ray, IR and UV–vis.) and DFT studies on cocrystallization of two tautomers of a novel Schiff base compound. *Journal of Molecular Structure*, 1128, 5-12. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.08.038>



- [46] Xavier, R. J. & Dinesh, P. (2014). Spectroscopic (FTIR, FT-Raman, <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR) investigation, molecular electrostatic potential, polarizability and first-order hyperpolarizability, FMO and NBO analysis of 1-methyl-2-imidazoethiol. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 118, 999-1011. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.09.120>
- [47] Arshad, M. N., Asiri, A. M., Alamry, K. A., Mahmood, T., Gilani, M. A., Ayub, K. & Birinji, A. S. (2015). Synthesis, crystal structure, spectroscopic and density functional theory (DFT) study of N-[3-anthracen-9-yl-1-(4-bromo-phenyl)-allylidene]-N-benzenesulfonohydrazine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 142, 364-374. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.01.101>
- [48] Saka, E. T., Uzun, S. & Çağlar, Y. (2016). Synthesis, structural characterization, catalytic activity on aerobic oxidation of novel Co (II) and Fe (II) phthalocyanines and computational studies of 4-[2-(2, 3-dichlorophenoxy) ethoxy] phthalonitrile. *Journal of Organometallic Chemistry*, 810, 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.jorgchem.2016.03.005>
- [49] Dani, R., Bharty, M., Kushawaha, S., Prakash, O., Singh, R. K. & Singh, N. (2013). Ni (II), Cu (II) and Zn (II) complexes of (Z)-N'(1, 3, 4-thiadiazol-2-yl) acetimidate: Synthesis, spectral, solid state electrical conductivity, X-ray diffraction and DFT study. *Polyhedron*, 65, 31-41. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.08.015>
- [50] Luque, F. J., López, J. M. & Orozco, M. (2000). Perspective on "Electrostatic interactions of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects". *Theoretical Chemistry Accounts*, 103(3-4), 343-345. <https://doi.org/10.1007/s002149900013>
- [51] Ersanlı, C. C. (2017). Synthesis, X-ray and Quantum Chemical Characterizations Studies on (E)-2-Bromo-4-chloro-6-[(4-chloro-2, 5-dimethoxyphenylimino) methyl] phenol Compound. *Gazi University Journal of Science*, 30(4), 531-543.
- [52] Öztürk, F., Bulut, İ., Bekiroğlu, Y. & Bulut, A. (2016). Spectroscopic, structural, electrochemical and antimicrobiological studies of Cu (II)-sulfathiazole complex with diethylenetriamine ligand. *Polyhedron*, 119, 420-428. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2016.07.019>
- [53] Al-Dawood, A. Y., El-Metwaly, N. M. & El-Ghamry, H. A. (2016). Molecular docking and DFT studies on some nano-meter binuclear complexes derived from hydrazine-carbothioamide ligand, synthesis, thermal, kinetic and spectral characterization. *Journal of Molecular Liquids*, 220, 311-323. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.04.079>
- [54] Aycan, T., Hekzaakua-bis(sulfat) içeren nikotinamitli kobalt(II) ve çinko(II) koordinasyon bileşikleri: sentezlenmesi, yapısal, spektroskopik ve termal özelliklerinin incelenmesi, in: C.C. Ersanlı, E. Tezel Ersanlı, C. Başlak (Eds.), *Geleceğin Dünyasında Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar 2020/ Fen Bilimleri I*, Ekin Basım Yayın Dağıtım, Bursa, 2020, pp. 94-111.
- [55] Ranjith, P. K., Mary, Y. S., Panicker, C. Y., Anto, P. L., Armaković, S., Armaković, S. J., Musiol, R., Jampirek, J. & Van Alsenoy, C. (2017). New quinolone derivative: Spectroscopic characterization and reactivity study by DFT and MD approaches. *Journal of Molecular Structure*, 1135, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.01.045>
- [56] Kalarani, R., Sankarganesh, M., Kumar, G. V. & Kalanithi, M. (2020). Synthesis, spectral, DFT calculation, sensor, antimicrobial and DNA binding studies of Co (II), Cu (II) and Zn (II) metal complexes with 2-amino benzimidazole Schiff base. *Journal of Molecular Structure*, 1206, 127725. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127725>

- [57] Tabbi, G., Giuffrida, A. & Bonomo, R. P. (2013). Determination of formal redox potentials in aqueous solution of copper (II) complexes with ligands having nitrogen and oxygen donor atoms and comparison with their EPR and UV–Vis spectral features. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 128, 137-145. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.07.035>
- [58] Spackman, M. A. & Jayatilaka, D. (2009). Hirshfeld surface analysis. *CrystEngComm*, 11(1), 19-32. <https://doi.org/10.1039/B818330A>
- [59] Hirshfeld, F. (1977). Synthesis, crystal structure, and hirshfeld surface analysis of a new mixed ligand copper (II) complex. *Theoretical Chemistry Accounts*, 44, 129-138. <https://doi.org/10.17344/acsi.2015.2024>
- [60] Clausen, H. F., Chevallier, M. S., Spackman, M. A. & Iversen, B. B. (2010). Three new co-crystals of hydroquinone: crystal structures and Hirshfeld surface analysis of intermolecular interactions. *New Journal of Chemistry*, 34(2), 193-199. <https://doi.org/10.1039/B9NJ00463G>
- [61] Rohl, A. L., Moret, M., Kaminsky, W., Claborn, K., McKinnon, J. J. & Kahr, B. (2008). Hirshfeld surfaces identify inadequacies in computations of intermolecular interactions in crystals: pentamorphic 1, 8-dihydroxyanthraquinone. *Crystal Growth and Design*, 8(12), 4517-4525. <https://doi.org/10.1021/cg8005212>
- [62] Spackman, M. A. & McKinnon, J. J. (2002). Fingerprinting intermolecular interactions in molecular crystals. *CrystEngComm*, 4(66), 378-392. <https://doi.org/10.1021/cg8005212>
- [63] Parkin, A., Barr, G., Dong, W., Gilmore, C. J., Jayatilaka, D., McKinnon, J. J., Spackman, M. A. & Wilson, C. C. (2007). Comparing entire crystal structures: structural genetic fingerprinting. *CrystEngComm*, 9(8), 648-652. <https://doi.org/10.1039/B704177B>
- [64] Wolff, S., Grimwood, D., McKinnon, J., Turner, M., Jayatilaka, D. & Spackman, M. (2012). Crystal explorer, University of Western Australia Crawley, Australia.
- [65] Samanta, T., Dey, L., Dinda, J., Chattopadhyay, S. & Seth, S. (2014). Structural characterization and Hirshfeld surface analysis of a CoII complex with imidazo [1, 2-a] pyridine. *Journal of Molecular Structure*, 1068, 58-70. <https://doi.org/10.1107/S2056989018003857>
- [66] Tailor, S. M. & Patel, U. H. (2015). Synthesis, spectroscopic characterization, antimicrobial activity and crystal structure of silver and copper complexes of sulfamethazine. *Journal of Coordination Chemistry*, 68(13), 2192-2207. <https://doi.org/10.1080/00958972.2015.1055258>
- [67] Hodgson, J. (2001). ADMET—turning chemicals into drugs. *Nature Biotechnology*, 19(8), 722-726. <https://doi.org/10.1080/00958972.2015.1055258>
- [68] Lipiński, E. (2001). Semitic languages: outline of a comparative grammar, Peeters Publishers.
- [69] İslamoğlu, F. & Hacifazlıoğlu, E. (2022). Investigation of the usability of some triazole derivative compounds as drug active ingredients by ADME and molecular docking properties. *Moroccan Journal of Chemistry*, 10(3). <https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v10i3.30855>



## Examination of Dark and Bright Solitons of (2+1)-Dimensional Kundu-Mukherjee-Naskar Equation Via Unified Solver Technique

Volkan ALA<sup>1</sup>

How to cite: Ala, V. (2023). Examination of Dark and Bright Solitons of (2+1)-Dimensional Kundu-Mukherjee-Naskar Equation Via Unified Solver Technique. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 65-74. <https://doi.org/10.33484/sinopfbfd.1292996>

### Research Article

**Corresponding Author**  
Volkan ALA  
volkanala@mersin.edu.tr

**ORCID of the Authors**  
V.A: 0000-0002-8499-9979

**Received:** 05.05.2023  
**Accepted:** 18.07.2023

### Abstract

In this study, dark and bright solitons of the (2+1)-dimensional Kundu-Mukherjee-Naskar equation are constructed with unified solver in terms of He's variations method. In accordance with basic properties of proposed technique, some dark and bright solitons are obtained. Moreover, giving specific values to the achieved solutions, 2D and 3D graphics are plotted with the help of software package. The unified solver technique extract vital solutions in explicit way. It is an easy-to-use method applied to obtain various exact solutions of nonlinear partial differential equations arising in fluid mechanics, nuclear, plasma and particle physics.

**Keywords:** Wave transformation, unified solver technique, solitons

### (2+1)-Boyutlu Kundu-Mukherjee-Naskar Denkleminin Birleşik Çözücü Teknik Yoluyla Dark ve Bright Solitonlarının İncelenmesi

<sup>1</sup>Mersin University, Science Faculty,  
Mathematics Department, Mersin,  
Türkiye

This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution 4.0  
International License

### Öz

Bu çalışmada, (2+1)-boyutlu Kundu-Mukherjee-Naskar denkleminin dark ve bright soliton çözümleri varyasyonel metot aracılığıyla birleştirilmiş çözücü teknikle inşa edilmiştir. tekniğin temel özelliklerine uygun olarak dark ve bright soliton çözümleri elde edilmiştir. Ayrıca elde edilen çözümlere spesifik değerler verilerek, çözümlerin iki ve üç boyutlu grafikleri paket program aracılığıyla çizilmiştir. Birleşik çözüm tekniği, akışkanlar mekaniği, nükleer, plazma ve parçacık fiziğindeki kısmi diferansiyel denklemlerin çeşitli tam çözümlerini elde etmek için uygulanabilen kullanımı kolay bir yöntemdir.

**Anahtar Kelimeler:** Dalga dönüşümü, birleştirilmiş çözücü teknik, solitonlar

### Introduction

Solitons are the solutions to a broad variety of weakly nonlinear dispersive partial differential equations that describe physical systems. The transfer of information in optical communication lines is based on soliton propagation in the study of Doran and Blow [1], Hausand and Wong [2]. For more than a decade the dynamic of solitons has received considerable interest in fibers [3–5]. Kundu-Mukherjee-Naskar

(KMN) is a significant equation that explains solitons in optical fibers and contains mixed forms of nonlinear effects. It is provided as follows:

$$i\psi_t + \alpha\psi_{xy} + i\beta\psi(\psi\psi_x^* - \psi^*\psi_x) = 0, \quad i = \sqrt{-1}, \quad (1)$$

here  $\psi(x, y, t)$  is wave function in nonlinear sense for optical solitons with the independent variables  $x, y$  and  $t$ , asterisk sign shows complex conjugation. While  $t$  denotes a temporal variable,  $x$  and  $y$  symbolize spatial variables. The parameter  $\alpha$  represents the dispersion term while  $\beta$  ensures the presence of the distinct cases of nonlinearity media that does not fall into any of the forms non-Kerr and Kerr medias. This model can be used to explain the movement of oceanic rogue waves, optical fiber waves and ion-acoustic waves in a magnetic plasma [7–9]. First time, Kundu and Mukherjee [6] presented this equation in 2013.

In literarute Biswas, Vega-Guzman and et al. [10], Yıldırım and Mirzazadeh [11] used Sine–Gordon equation method; Yıldırım [12] used trial equation; Rizvi, Afzal and et al. [13] used tanh–coth; Al-Ghafri [14] used the ansatz approach; Mamedov, Demirbilek and et al. [15] used improved Bernoulli sub-equation function; Önder, Seçer and et al. [16] used Sardar sub-equation; Kumar, Paul and et al. [17] used new auxiliary equation; Günerhan, Khodadad and et al. [18] used extended direct algebraic; Kudryashov [19] and Petrovic [20] used the Weierstrass and Jacobi elliptic functions methods; Ekici, Sönmezoğlu and et al. [21] used extended trial function approach; Rezazadeh, Kurt and et al. [22] used functional variable technique; Çakıcıoğlu, Çınar and et al. [23] used modified extended tanh method; Mohammed, Al-Askar and et al. [24] used  $G'/G$ -expansion to get optical solitons of KMN equation.

In this work, optical soliton solutions of (1) are given via unified solver technique. Considered equation has still infant stage, therefore future research on it can focus on its potential applications in a variety of physical fields.

In the organization of this paper, in first section, basic structure of the unified solver technique is expressed. In second section, considered method is successfully applied to the governing model and graphical simulations of the solutions are plotted. Finally, some important conclusions and physical meanings of solutions are given in last section.

### Essential Framework of Unified Solver Method

This section contains description of unified solver technique. Consider the nonlinear partial differential equation (NPDE) of the following form:

$$F(\phi, \phi_t, \phi_x, \phi_{tt}, \phi_{xx}, \dots). \quad (2)$$

Applying the wave transformation  $\phi(x, y, t) = \phi(\xi)$ ,  $\xi = k_1x + k_2y + k_3t$ , (where  $k_i = \overline{1, 3}$  are velocity of the wave ) into (2) the following equation is obtained:

$$N(\phi, \phi^2, \phi', \phi'', \dots) = 0, \quad (3)$$

here  $N$  is a nonlinear ordinary differential equation (NODE) that has partial derivatives of  $\phi$  dependent on  $\xi$ . Based on He's semi-inverse method [25–27], the variational model for (3) can be obtained by the

semi-inverse method [27] which reads:

$$I(\phi) = \int \mathcal{L} d\xi, \quad (4)$$

where  $\mathcal{L}$  is Lagrangian function connected with the derivative of  $\phi$  given in the form:

$$\mathcal{L} = \frac{1}{2} (\phi')^2 - Q, \quad (5)$$

here  $Q$  is the potential function. We look for a solitary wave solution in the form

$$\phi(x, y, t) = \lambda \operatorname{sech}(\mu\xi), \phi(x, y, t) = \lambda \operatorname{sech}^2(\mu\xi), \phi(x, y, t) = \lambda \tanh(\mu\xi), \quad (6)$$

where  $\lambda$  and  $\mu$  are constants to be determined later. Assume that systems of equations can be reduced to the form:

$$\Omega_1 \phi'' + \Omega_2 \phi^3 + \Omega_3 \phi = 0, \quad (7)$$

in which  $\Omega_i, i = \overline{1, 3}$  are real coefficients. Multiplying (7) by  $\phi'$  and taking integral with respect to  $\xi$ :

$$\frac{1}{2} (\phi')^2 + \gamma_2 \frac{\Omega_2}{4\Omega_1} \phi^4 + \frac{\Omega_3}{2\Omega_1} \phi^2 + \Omega_0 = 0, \quad (8)$$

where  $\Omega_0$  is a constant of integration. Thus (7) can be written in the form:

$$\phi'' = -\frac{\partial Q}{\partial \phi}, \quad Q = -(\gamma_2 \phi^4 + \gamma_1 \phi^2 + \gamma_0), \quad (9)$$

where

$$\gamma_2 = -\frac{\Omega_2}{4\Omega_1}, \quad \gamma_1 = -\frac{\Omega_3}{2\Omega_1}, \quad \gamma_0 = -\Omega_0. \quad (10)$$

Implementing the semi-inverse method [25–27] to solve (7) that constructs the following variational formulation from (8):

$$I = \int \left[ \frac{1}{2} (\phi')^2 + \gamma_2 \phi^4 + \gamma_1 \phi^2 + \gamma_0 \right] d\xi. \quad (11)$$

Substituting (6) into (11) then making  $I$  stationary according to  $\lambda$  and  $\mu$ :

$$\frac{\partial I}{\partial \lambda} = 0; \quad \frac{\partial I}{\partial \mu} = 0. \quad (12)$$

Solving (12), we get  $\lambda$  and  $\mu$ . Thus the solitary wave solution given by (6) is well determined.

### The first family

The first family of solution is as follows:

$$\phi(\xi) = \lambda \operatorname{sech} \theta, \quad \theta = \mu \xi, \quad (13)$$

Substituting (13) into (11), we get

$$I = \frac{1}{\mu} \int_0^{\infty} \left[ \frac{1}{2} \lambda^2 \mu^2 \operatorname{sech}^2 \theta \tanh^2 \theta + \gamma_2 \lambda^4 \operatorname{sech}^4 \theta + \gamma_1 \lambda^2 \operatorname{sech}^2 \theta + \gamma_0 \right] d\theta.$$

Taking  $\gamma_0 = 0$  as an integration constant, it is obtained:

$$I = \frac{\lambda}{12\mu} [2\lambda\mu^2 + 8\gamma_2\lambda^3 + 12\gamma_1\lambda]. \quad (14)$$

Making  $I$  stationary in relation to  $\lambda$  and  $\mu$  results in

$$\frac{\partial I}{\partial \lambda} = \frac{1}{12\mu} [32\gamma_2\lambda^3 + 24\gamma_1\lambda + 4\lambda\mu^2] = 0, \quad (15)$$

$$\frac{\partial I}{\partial \mu} = -\frac{\lambda}{12\mu^2} [8\gamma_2\lambda^3 + 12\gamma_1\lambda - 2\lambda\mu^2] = 0. \quad (16)$$

Solving these equations and using (13), the solution of (9) takes the form:

$$\phi(\xi) = \pm \sqrt{\frac{-\gamma_1}{\gamma_2}} \operatorname{sech} \left( \pm \sqrt{2\gamma_1} \xi \right). \quad (17)$$

Using (10), the first family of solution can be written as:

$$\phi(\xi) = \pm \sqrt{\frac{-2\Omega_3}{\Omega_2}} \operatorname{sech} \left( \pm \sqrt{\frac{-\Omega_3}{\Omega_1}} \xi \right). \quad (18)$$

### The second family

The second family of solution is as follows:

$$\phi(\xi) = \lambda \operatorname{sech}^2 \theta, \quad \theta = \mu \xi. \quad (19)$$

The substitution of (19) into (11) leads to

$$I = \frac{\lambda}{\mu} \int_0^{\infty} \left[ 2\lambda\mu^2 \operatorname{sech}^4 \theta \tanh^2 \theta + \gamma_2 \lambda^3 \operatorname{sech}^8 \theta + \gamma_1 \lambda \operatorname{sech}^4 \theta + \frac{\gamma_0}{\lambda} \right] d\theta. \quad (20)$$

Suppose that  $\gamma_0 = 0$  then

$$I = \frac{2\lambda^2}{105\mu} [14\lambda\mu^2 + 24\gamma_2\lambda^3 + 35\gamma_1\lambda]. \quad (21)$$

Making  $I$  stationary in relation to  $\lambda$  and  $\mu$  results in

$$14\lambda\mu^2 + 48\gamma_2\lambda^3 + 35\gamma_1\lambda = 0, \quad (22)$$

$$14\lambda\mu^2 - 24\gamma_2\lambda^3 - 35\gamma_1\lambda = 0. \quad (23)$$

Solving (22)-(23) and using (19), solutions of (9) and (7) have following format:

$$\phi(\xi) = \pm \sqrt{\frac{-35\gamma_1}{36\gamma_2}} \operatorname{sech}^2 \left( \pm \sqrt{\frac{5}{6}\gamma_1\xi} \right) \quad (24)$$

Using (10), the second family of solution can be written as:

$$\phi(\xi) = \pm \sqrt{\frac{-35\Omega_3}{18\Omega_2}} \operatorname{sech}^2 \left( \pm \sqrt{-\frac{5\Omega_3}{12\Omega_1}\xi} \right). \quad (25)$$

### The third family

Third family of solution is as follows:

$$\phi(\xi) = \lambda \tanh(\theta), \theta = \mu\xi. \quad (26)$$

Substituting (26) into (11), we have

$$\begin{aligned} I &= \frac{1}{\mu} \int_0^{\infty} \left[ \frac{1}{2} \lambda^2 \mu^2 \operatorname{sech}^4 \theta + \gamma_2 \lambda^4 \tanh^4 \theta + \gamma_1 \lambda^2 \tanh^2 \theta + \gamma_0 \right] d\theta \\ &= \frac{1}{\mu} \int_0^{\infty} \left[ \lambda^2 \left( \gamma_2 \lambda^2 + \frac{1}{2} \mu^2 \right) \operatorname{sech}^4 \theta - \lambda^2 (2\gamma_2 \lambda^2 + \gamma_1) \operatorname{sech}^2 \theta \right] d\theta \\ &\quad + \frac{1}{\mu} (\gamma_2 \lambda^4 + \gamma_1 \lambda^2 + \gamma_0) \int_0^{\infty} d\theta. \end{aligned}$$

Under the condition

$$\gamma_0 = -\lambda^2 (\gamma_2 \lambda^2 + \gamma_1), \quad (27)$$

we find that

$$I = \frac{-\lambda^2}{3\mu} [4\gamma_2 \lambda^2 + 3\gamma_1 - \mu^2]. \quad (28)$$

By resolving the two requirements, the values of  $\lambda$  and  $\mu$  that makes  $I$  to be stationary with respect to  $\lambda$  and  $\mu$  are found:

$$\frac{\partial I}{\partial \lambda} = \frac{-\lambda}{3\mu} [16\gamma_2 \lambda^2 + 6\gamma_1 - 2\mu^2] = 0, \quad (29)$$

$$\frac{\partial I}{\partial \mu} = -\frac{\lambda^2}{3\mu^2} [4\gamma_2\lambda^2 + 3\gamma_1 + \mu^2] = 0. \quad (30)$$

Solving (29)-(30) and using (26), solution of (9) take the form:

$$\phi(\xi) = \pm \sqrt{\frac{-\gamma_1}{2\gamma_2}} \tanh(\pm \sqrt{-\gamma_1}\xi). \quad (31)$$

Resultantly, the third family of solution in (7) has the following structure:

$$\phi(\xi) = \pm \sqrt{\frac{-\Omega_3}{\Omega_2}} \tanh\left(\pm \sqrt{\frac{\Omega_3}{2\Omega_1}}\xi\right). \quad (32)$$

### Application of The Proposed Method

Let us take the following stance to obtain the precise exact solutions of (1):

$$\psi(x, y, t) = u(\xi) e^{i\Phi(x, y, t)}, \quad (33)$$

$u(\xi)$ ,  $\Phi(x, y, t)$  represent the amplitude and phase portion in the order given,

$$\xi = \delta_1 x + \delta_2 y - \delta_3 t, \quad \Phi(x, y, t) = -\eta_1 x - \eta_2 y + \eta_3 t, \quad (34)$$

where  $\delta_i, \eta_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ) are real parameters different than zero. Also  $\delta_1$  and  $\delta_2$  are the width of the soliton along  $x$ - and  $y$ - directions respectively, whereas  $\delta_3$  is the velocity of the soliton. The parameters  $\eta_1$  and  $\eta_2$  indicate the soliton frequencies in the  $x$ - and  $y$ - directions respectively,  $\eta_3$  represents the soliton wave number. Taking (34) and (33) into (1) produces imaginary and real parts as:

$$\delta_3 = -\alpha(\eta_2\delta_1 + \eta_1\delta_2), \quad (35)$$

$$\alpha\delta_1\delta_2\psi'' - (\eta_3 + \alpha\eta_1\eta_2)\psi - 2\beta\eta_1\psi^3 = 0. \quad (36)$$

If we compare (36) with (7) it can be easily seen that

$$\Omega_1 = \alpha\delta_1\delta_2, \quad \Omega_2 = -(\eta_3 + \alpha\eta_1\eta_2), \quad \Omega_3 = -2\beta\eta_1. \quad (37)$$

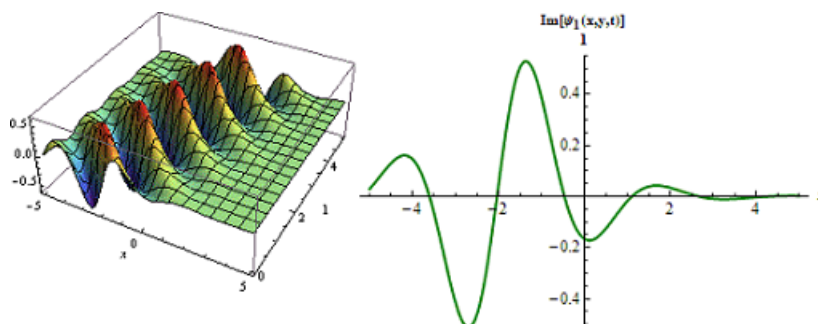
Having described the unified solver in previous section, below the formulae can be used to provide solutions to (1):



### The first family solution

Taking into account (18), (32) and (33) the first family solution of (1) is get as:

$$\psi_{1,2}(x, y, t) = \pm i \sqrt{\frac{4\beta\eta_1}{(\eta_3 + \alpha\eta_1\eta_2)}} \operatorname{sech} \left( \pm \sqrt{\frac{2\beta\eta_1}{\alpha\delta_1\delta_2}} (\delta_1x + \delta_2y - \delta_3t) \right) e^{-i(\eta_1x - \eta_2y + \eta_3t)}. \quad (38)$$

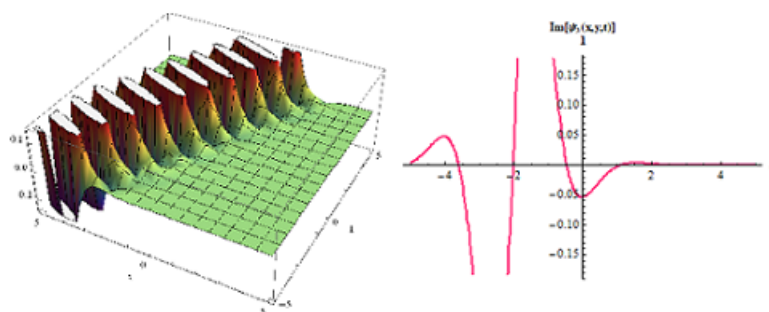


**Figure 1.** 3D graphs of  $\psi_1(x, y, t)$  for  $\alpha = 1$ ;  $\beta = 0.5$ ;  $\eta_1 = 2$ ;  $\eta_2 = 2.5$ ;  $\eta_3 = 5$ ;  $y = 1$ ;  $\delta_1 = 1$ ;  $\delta_2 = 2.5$ ;  $\delta_3 = 0.5$ ;  $-5 < x < 5$ ,  $-5 < t < 5$ , 2D plot for  $t = 1$ .

### The second family solution

Considering (25), (33) and (34) the second family solution of (1) is obtained as:

$$\psi_{3,4}(x, y, t) = \pm i \sqrt{\frac{4\beta\eta_1}{18(\eta_3 + \alpha\eta_1\eta_2)}} \operatorname{sech}^2 \left( \pm \sqrt{\frac{5\beta\eta_1}{6\alpha\delta_1\delta_2}} (\delta_1x + \delta_2y - \delta_3t) \right) e^{-i(\eta_1x - \eta_2y + \eta_3t)}. \quad (39)$$

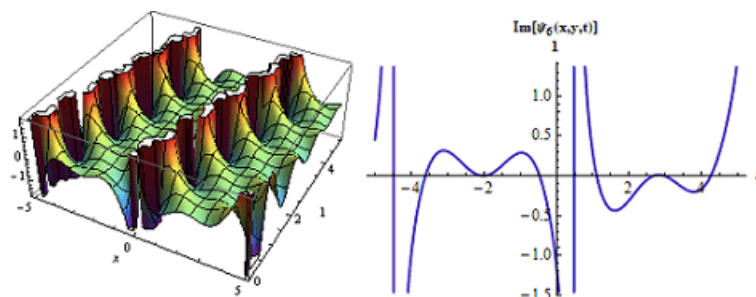


**Figure 2.** 3D graphs of  $\psi_3(x, y, t)$  for  $\alpha = 1$ ;  $\beta = 0.5$ ;  $\eta_1 = 2$ ;  $\eta_2 = 2.5$ ;  $\eta_3 = 5$ ;  $y = 1$ ;  $\delta_1 = 1$ ;  $\delta_2 = 2.5$ ;  $\delta_3 = 0.5$ ;  $-5 < x < 5$ ,  $0 < t < 5$ , 2D plot for  $t = 1$ .

### The third family solution

Considering (32), (33) and (34) the third family solution of (1) is obtained as:

$$\psi_{5,6}(x, y, t) = \pm \sqrt{\frac{2\beta\eta_1}{(\eta_3 + \alpha\eta_1\eta_2)}} \tanh \left( \pm i \sqrt{\frac{\beta\eta_1}{\alpha\delta_1\delta_2}} (\delta_1x + \delta_2y - \delta_3t) \right) e^{-i(\eta_1x - \eta_2y + \eta_3t)}. \quad (40)$$



**Figure 3.** 3D graphs of  $\psi_5(x, y, t)$  for  $\alpha = 1$ ;  $\beta = 0.5$ ;  $\eta_1 = 2$ ;  $\eta_2 = 2.5$ ;  $\eta_3 = 5$ ;  $y = 1$ ;  $\delta_1 = 1$ ;  $\delta_2 = 2.5$ ;  $\delta_3 = 0.5$ .,  $-5 < x < 5$ ,  $0 < t < 5$ , 2D plot for  $t = 1$ .

## Conclusion

This paper finds entirely soliton solutions for governing model with the help of unified solver technique. The acquired solutions are hyperbolic function solutions. These solutions explain some interesting physical phenomena in applied science and physics.

The hyperbolic secant (bright soliton) arises in the profile of a laminar jet, the hyperbolic tangent (dark soliton) arises in the calculation of magnetic moment. Indeed, the options given comprised bright and dark as well as soliton solutions. In this sense,  $\psi_{1,2}(x, y, t)$  and  $\psi_{3,4}(x, y, t)$  are bright solitons,  $\psi_{5,6}(x, y, t)$  are dark solitons of the considered model respectively.

By the selection of suitable values for the model's parameters, structures of solitons are clearly depicted. Graphs are presented to prescribe the dynamical behavior of selected solutions. Also the obtained solitons with special parameters in the figures satisfy the KMN equation.

In the light of this results, it seems that the unified solver method has been influential for the analytical solutions of nonlinear partial differential equations emerging in natural science.

## Acknowledgments -

**Funding/Financial Disclosure** The authors have no received any financial support for the research, authorship, or publication of this study.

**Ethics Committee Approval and Permissions** The work does not require ethics committee approval and any private permission.

**Conflict of Interests** The authors stated that there are no conflict of interest in this article.

**Authors Contribution** Authors contributed equally to the study.

## References

- [1] Doran, N., & Blow, K. (1983). Solitons in optical communications. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 19(12), 1883-1888. <https://doi.org/10.1109/JQE.1983.1071806>
- [2] Haus, H. A., & Wong, W. S. (1996). Solitons in optical communications. *Reviews of Modern Physics*, 68(2), 423-444. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.68.423>
- [3] Ataş, S. S., Ali, K. K., Sulaiman, T.A., & Bulut, H. (2022). Optical solitons to the Fokas system equation in monomode optical fibers. *Optical and Quantum Electronics*, 54(11), 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11082-022-04120-w>

- [4] Başkonuş, H. M., Sulaiman, T. A., & Bulut, H. (2018). Dark, bright and other optical solitons to the decoupled nonlinear Schrödinger equation arising in dual-core optical fibers. *Optical and Quantum Electronics*, 50, Article 165. <https://doi.org/10.1007/s11082-018-1433-0>
- [5] Al-Ghafri, K., Krishnan, E., & Biswas, A. (2021). W-shaped and other solitons in optical nanofibers. *Results in Physics*, 23, Article 103973. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2021.103973>
- [6] Kundu, A., & Mukherjee A. (2013). Novel integrable higher-dimensional nonlinear Schroedinger equation: properties, solutions, applications. arXiv:1305.4023v1 [nlinSI] <https://doi.org/10.48550/arXiv.1305.4023>
- [7] Kundu A, Mukherjee A, & Naskar T. (2014). Modelling rogue waves through exact dynamical lump soliton controlled by ocean currents. *Proceedings of the Royal Society A-Math Phys.*, 470(2164), 1-20. <https://doi.org/10.1098/rspa.2013.0576>
- [8] Mukherjee, A., & Kundu, A. (2019). Novel nonlinear wave equation: Regulated rogue waves and accelerated soliton solutions. *Physics Letters A*, 383(10), 985-990. <https://doi.org/10.1016/j.physleta.2018.12.023>
- [9] Mukherjee, A., Janaki, M., & Kundu, A. (2019). A new (2+1)-dimensional integrable evolution equation for an ion acoustic wave in a magnetized plasma. *Physics of Plasmas*, 22, Article 072302. <https://doi.org/10.1063/1.4923296>
- [10] Biswas, A., Vega-Guzman, J., Bansal, A., Kara, A. H., Alzahrani, A. K., Zhou, Q., & Belic, M. R. (2020). Optical dromions, domain walls and conservation laws with Kundu-Mukherjee-Naskar equation via traveling waves and Lie symmetry. *Results in Physics*, 16, 102850. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2019.102850>
- [11] Yıldırım, Y., & Mirzazadeh, M. (2019). Optical pulses with Kundu-Mukherjee-Naskar model in fiber communication systems. *Chinese Journal of Physics*, 64, 183-193. <https://doi.org/10.1016/j.cjph.2019.10.025>
- [12] Yıldırım, Y. (2019). Optical solitons to Kundu–Mukherjee–Naskar model with trial equation approach. *Optik*, 183, 1061–1065. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2019.02.117>
- [13] Rizvi, S. T. R., Afzal, I., & Ali, K. (2020). Dark and singular optical solitons for Kundu-Mukherjee-Naskar model. *Modern Physics Letters B*, 34(6), 1-9. <https://doi.org/10.1142/S0217984920500748>
- [14] Al-Ghafri, K. S. (2021). Soliton structures in optical fiber communications with Kundu–Mukherjee–Naskar model. *Open Physics*, 19, 679-682. <https://doi.org/10.1515/phys-2021-0074>
- [15] Mamedov, K. R., Demirbilek, U., & Ala, V. (2022). Exact solutions of the (2+1)-dimensional Kundu–Mukherjee–Naskar Model via IBSEFM. *Bulletin of the South Ural State University Series, Mathematical Modelling, Programming, Computer Software*, 15(2), 17–26. <https://doi.org/10.14529/mmp220202>

- [16] Önder, I., Seçer, A., Özışık, M., & Bayram, M. (2022). On the optical soliton solutions of Kundu–Mukherjee–Naskar equation via two different analytical methods. *Optik*, 257, Article 168761. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2022.168761>
- [17] Kumar, D., Paul, G. C., Biswas, T., Seadawy, A. R., Baowali, R., Kamal, M., & Rezazadeh, H. (2020). Optical solutions to the Kundu–Mukherjee–Naskar equation: mathematical and graphical analysis with oblique wave propagation. *Physica Scripta*, 96(2), Article 025218. <https://doi.org/10.1088/1402-4896/abd201>
- [18] Günerhan H., Khodadad F. S., Rezazadeh H., & Khate, M. M. A. (2020). Exact optical solutions of the (2+1) dimensions Kundu–Mukherjee–Naskar model via the new extended direct algebraic method. *Modern Physics Letters B*, 34(22), Article 2050225. <https://doi.org/10.1142/S0217984920502255>
- [19] Kudryashov, N. A. (2019). General solution of traveling wave reduction for the Kundu–Mukherjee–Naskar model. *Optik*, 186, 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2019.04.072>
- [20] Petrovic, N. (2022). Chirped solitary and traveling wave solutions for the Kundu–Mukherjee–Naskar equation using the Jacobi elliptic function expansion method. *Optical and Quantum Electronics*, 54(10), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11082-022-04024-9>
- [21] Ekici M., Sönmezoglu A., Biswas A., & Belic, M. R. (2019). Optical Solitons in (2+1)-Dimensions with Kundu–Mukherjee–Naskar Equation by Extended Trial Function Scheme. *Chinese Journal of Physics*, 57, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.cjph.2018.12.011>
- [22] Rezazadeh, H., Kurt A., Tozar A., Tasbozan, O., & Mirhosseini-Alizamini, S. M. (2021). Wave behaviors of Kundu–Mukherjee–Naskar model arising in optical fiber communication systems with complex structure. *Optical and Quantum Electronics*, 53, Article 317. <https://doi.org/10.1007/s11082-021-02926-8>
- [23] Çakıcıoğlu, H., Çınar M., Seçer A., & Bayram, M. (2023). Optical solitons for Kundu–Mukherjee–Naskar equation via enhanced modified extended tanh method. *Optical and Quantum Electronics*, 55, Article 400. <http://doi.org/10.1007/s11082-023-04686-z>
- [24] Mohammed, W. W., Al-Askar, F. M., Cesarano, C., & El-Morshedy, M. (2022). The optical solutions of the stochastic fractional Kundu–Mukherjee–Naskar Model by Two Different Methods. *Mathematics*, 10(9), Article 1465. <https://doi.org/10.3390/math10091465>
- [25] He, J. (1997). Semi-inverse method of establishing generalized variational principles for fluid mechanics with emphasis on turbo machinery aerodynamics. *International Journal of Turbo and Jet Engines*, 14, 23-28. <https://doi.org/10.1515/TJJ.1997.14.1.23>
- [26] He, J. (2006). Some asymptotic methods for strongly nonlinear equations. *International Journal of Modern Physics B*, 20, 1141-1199. <https://doi.org/10.1142/S0217979206033796>
- [27] Kudryashov, N. (2009). Seven common errors in finding exact solutions of nonlinear differential equations. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 14(9-10), 3507-3529. <https://doi.org/10.1016/j.cnsns.2009.01.023>



## On Quasi-para-Sasakian Structures On 5-Dimensions

Şirin AKTAY<sup>1</sup> and Ümmü KOCABAŞ<sup>1</sup>

How to cite: Aktay, Ş., & Kocabaş, Ü. (2023). On Quasi-para-Sasakian Structures On 5-Dimensions. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 75-86. <https://doi.org/10.33484/sinopfbd.1295803>

### Research Article

#### Corresponding Author

Şirin AKTAY  
sirins@eskisehir.edu.tr

#### ORCID of the Authors

Ş.A: 0000-0003-2792-3481  
Ü.K: 0000-0003-0946-5544

Received: 11.05.2023

Accepted: 18.07.2023

### Abstract

In this study, we investigate the existence of quasi-para-Sasakian structures on five dimensional nilpotent Lie algebras. There are six non-abelian nilpotent Lie algebras. We show that quasi-para-Sasakian structures exist only on one of these algebras. Quasi-para-Sasakian structures correspond to the class  $\mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8$  in the classification of almost paracontact metric structures. We show that a quasi-para-Sasakian structure on a five dimensional nilpotent Lie algebra is either in  $\mathbb{G}_5$  or  $\mathbb{G}_8$ .

**Keywords:** Almost Paracontact Metric Structure, 5-dimensional Nilpotent Lie Algebra, Quasi-para-Sasakian Structure

## 5-Boyutta Kuasi-para-Sasaki Yapılar Üzerine

<sup>1</sup>Department of Mathematics,  
Eskişehir Technical University,  
26470 Eskişehir, Türkiye

This work is licensed under a  
Creative Commons Attribution 4.0  
International License

### Öz

Bu çalışmada 5 boyutlu nilpotent Lie cebirleri üzerinde kuasi-para-Sasaki yapıların varlığı incelenmiştir. Birbirine izomorf olmayan altı tane Abelyen olmayan nilpotent Lie cebri vardır. Kuasi-para-Sasaki yapıların bu Lie cebirlerinden sadece birinde olduğu gösterilmiştir. Kuasi-para-Sasaki yapılar hemen-hemen parakontak metrik yapıların sınıflandırılmasına göre  $\mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8$  sınıfına karşılık gelmektedir. 5 boyutlu nilpotent bir Lie cebri üzerinde kuasi-para-Sasaki bir yapının  $\mathbb{G}_5$  veya  $\mathbb{G}_8$  sınıfından olduğu kanıtlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Hemen-hemen Parakontak Metrik Yapı, 5-boyutlu Nilpotent Lie Cebri, Kuasi-para-Sasaki Yapı

### Introduction

Almost paracontact structures on differentiable manifolds were introduced by [1] and after that many authors have made contribution, see for example [2–8] and references therein. Almost paracontact metric manifolds were classified according to symmetry properties of the structure tensor and there are 12 basic classes and thus  $2^{12}$  classes of almost paracontact metric structures. Definitions of each basic class and projections onto each subspace are obtained in [4] and [3]. An almost paracontact metric manifold is called quasi-para-Sasakian if the fundamental 2-form is closed and the structure is normal. It is known that the class of quasi-para-Sasakian structures is  $\mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8$  according to the classification in [3]. Our

aim is to study the existence of quasi-para-Sasakian structures on non-abelian five dimensional nilpotent Lie algebras classified in [9]. We prove that only one of the non-isomorphic non-abelian nilpotent Lie algebras admits quasi-para-Sasakian structures and a quasi-para-Sasakian structure on a five dimensional nilpotent Lie algebra is either in  $\mathbb{G}_5$  or  $\mathbb{G}_8$ . There is no quasi-para-Sasakian structure which is in  $\mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8$  properly. For the existence of some other classes of almost paracontact metric structures on 5-dimensional nilpotent Lie algebras, see [6]. For the almost contact case, see [10, 11].

## Preliminaries

In this section we give necessary preliminary information. One may also refer to [3] for definitions of basic concepts. An almost paracontact structure on an odd dimensional differentiable manifold  $M^{2n+1}$  is an ordered triple  $(\varphi, \xi, \eta)$ , where  $\varphi$  is an endomorphism,  $\xi$  a vector field and  $\eta$  a 1-form such that

$$\varphi^2 = I - \eta \otimes \xi, \quad \eta(\xi) = 1, \varphi(\xi) = 0, \quad (1)$$

there is a distribution

$$\mathbb{D} : p \in M \longrightarrow \mathbb{D}_p = \text{Ker}\eta.$$

$M$  is called an almost paracontact manifold. If an almost paracontact manifold  $M$  admits a semi-Riemannian metric  $g$  satisfying

$$g(\varphi(u), \varphi(v)) = -g(u, v) + \eta(u)\eta(v) \quad (2)$$

for all  $u, v \in \mathfrak{X}(M)$ , where  $\mathfrak{X}(M)$  denotes the set of smooth vector fields on  $M$ , in this case  $M$  is called an almost paracontact metric manifold. The 2-form defined by

$$\Phi(u, v) = g(\varphi u, v)$$

for all  $u, v \in \mathfrak{X}(M)$ , is said to be the fundamental 2-form. We denote the vector fields and tangent vectors by letters  $u, v, w$ . Let  $F$  be the tensor defined by

$$F(u, v, w) = g((\nabla_u \varphi)(v), w), \quad (3)$$

for all  $u, v, w \in T_p M$ , where  $T_p M$  is the tangent space at  $p$  and  $\nabla$  is the covariant derivative of  $g$ . Then  $F$  has properties

$$F(u, v, w) = -F(u, w, v), \quad (4)$$

$$F(u, \varphi v, \varphi w) = F(u, v, w) + \eta(v)F(u, w, \xi) - \eta(w)F(u, v, \xi). \quad (5)$$

The Lee forms associated with  $F$  are

$$\theta(u) = g^{ij} F(e_i, e_j, u), \quad \theta^*(u) = g^{ij} F(e_i, \varphi e_j, u), \quad \omega(u) = F(\xi, \xi, u),$$

where  $u \in T_pM$ ,  $\{e_i, \xi\}$  is a basis for  $T_pM$  and  $g^{ij}$  is the inverse of the matrix  $g_{ij}$ . Let  $\mathcal{F}$  be the set of  $(0, 3)$  tensors over  $T_pM$  which satisfy (4), (5).  $\mathcal{F}$  is the direct sum of twelve subspaces  $\mathbb{G}_i$ ,  $i = 1, \dots, 12$ , see [3, 4]. We give definitions of classes we use.

$$\begin{aligned} \mathbb{G}_5 : F(u, v, w) &= \frac{\theta_F(\xi)}{2n} \{g(\varphi u, \varphi w)\eta(v) - g(\varphi u, \varphi v)\eta(w)\} \\ \mathbb{G}_8 : F(u, v, w) &= -\eta(v)F(u, w, \xi) + \eta(w)F(u, v, \xi), \\ F(u, v, \xi) &= F(v, u, \xi) = -F(\varphi u, \varphi v, \xi), \quad \theta_F(\xi) = 0 \end{aligned} \quad (6)$$

An almost paracontact metric manifold is in the class  $\mathbb{G}_i \oplus \mathbb{G}_j$  if the tensor  $F$  is in the class  $\mathbb{G}_i \oplus \mathbb{G}_j$  over  $T_pM$  for all  $p \in M$ . An almost paracontact metric manifold is normal if [3, 12]

$$\varphi(\nabla_u \varphi)v - (\nabla_{\varphi u} \varphi)v + (\nabla_u \eta)(v)\xi = 0,$$

or equivalently,

$$F(u, v, \varphi w) + F(\varphi u, v, w) + F(u, \varphi v, \eta(w)\xi) = 0.$$

An almost paracontact metric manifold is said to be quasi-para-Sasakian if the fundamental 2-form is closed, that is,

$$d\Phi(u, v, w) = F(u, v, w) + F(v, w, u) + F(w, u, v) = 0 \quad (7)$$

and the structure is normal. In this case, the characteristic vector field  $\xi$  is Killing and the class of quasi-para-Sasakian manifolds is  $\mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8$  [3]. In addition, for a quasi-para-Sasakian manifold it is known that

$$(\nabla_u \varphi)(v) = -g(\nabla_u \xi, \varphi v)\xi - \eta(v)\varphi(\nabla_u \xi), \quad (8)$$

or equivalently,

$$F(u, v, w) = -g(\nabla_u \xi, \varphi v)\eta(w) + \eta(v)g(\nabla_u \xi, \varphi w), \quad (9)$$

see [7].

### Quasi-para-Sasakian Structures on $\mathfrak{g}_i$

Each left invariant almost paracontact metric structure  $(\varphi, \xi, \eta, g)$  on a connected odd dimensional Lie group  $G$  induces an almost paracontact metric structure on the Lie algebra  $\mathfrak{g}$  of  $G$ . We use the same notation for the structure on the Lie algebra. According to the classification of 5 dimensional nilpotent Lie algebras in [9], there are six non-abelian non-isomorphic nilpotent algebras  $\mathfrak{g}_i$  with basis  $\{e_1, \dots, e_5\}$

and non-zero brackets:

$$\mathfrak{g}_1 : [e_1, e_2] = e_5, [e_3, e_4] = e_5$$

$$\mathfrak{g}_2 : [e_1, e_2] = e_3, [e_1, e_3] = e_5, [e_2, e_4] = e_5$$

$$\mathfrak{g}_3 : [e_1, e_2] = e_3, [e_1, e_3] = e_4, [e_1, e_4] = e_5, [e_2, e_3] = e_5$$

$$\mathfrak{g}_4 : [e_1, e_2] = e_3, [e_1, e_3] = e_4, [e_1, e_4] = e_5$$

$$\mathfrak{g}_5 : [e_1, e_2] = e_4, [e_1, e_3] = e_5$$

$$\mathfrak{g}_6 : [e_1, e_2] = e_3, [e_1, e_3] = e_4, [e_2, e_3] = e_5.$$

First note the following.

**Proposition 1.** Let  $(M, \varphi, \xi, \eta, g)$  be a quasi-para-Sasakian manifold, that is  $M \in \mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8$ . If  $\theta_F(\xi) = 0$ , then  $M$  is in  $\mathbb{G}_8$ .

*Proof.* Let  $(M, \varphi, \xi, \eta, g)$  be quasi-para-Sasakian. Then (9) implies

$$\begin{aligned} -\eta(v)F(u, w, \xi) + \eta(w)F(u, v, \xi) &= -\eta(v)\{-g(\nabla_u \xi, \varphi(w))\} + \eta(w)\{-g(\nabla_u \xi, \varphi(v))\} \\ &= F(u, v, w). \end{aligned} \quad (10)$$

Since  $\xi$  is Killing, by (9)

$$F(\varphi u, \varphi v, \xi) = -g(\nabla_{\varphi u} \xi, \varphi^2 v) = -g(\nabla_{\varphi u} \xi, v) = g(\nabla_v \xi, \varphi u) = -F(v, u, \xi), \quad (11)$$

since  $\varphi(\nabla_u \xi) = \nabla_{\varphi u} \xi$  [7],

$$F(u, v, \xi) = -g(\nabla_u \xi, \varphi v) = g(\varphi(\nabla_u \xi), v) = g(\nabla_{\varphi u} \xi, v) = -g(\nabla_v \xi, \varphi u) = F(v, u, \xi). \quad (12)$$

If  $\theta_F(\xi) = 0$ , then defining relations (6) hold and as a consequence the quasi-para-Sasakian manifold is in  $\mathbb{G}_8$ .

We study the existence of quasi-para-Sasakian structures on 5 dimensional nilpotent Lie algebras and deduce the result below.

**Theorem 1.** A five dimensional nilpotent Lie algebra has a quasi-para-Sasakian structure if and only if its Lie algebra is isomorphic to  $\mathfrak{g}_1$ . Moreover, a quasi-para-Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_1$  is either in the class  $\mathbb{G}_5$  or  $\mathbb{G}_8$ .

Examples of quasi-para-Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_1$  are given in the proof of Theorem 1.

*Proof.* For the proof of Theorem 1, we investigate each Lie algebra separately. Assume that  $(\varphi, \xi, \eta, g)$  is a left invariant quasi-para-Sasakian structure on a connected Lie group  $G_i$  with corresponding Lie algebra  $\mathfrak{g}_i$ ,  $i = 1, \dots, 6$  and  $g$  is the metric such that the basis  $\{e_1, \dots, e_5\}$  is  $g$ -orthonormal and  $g(e_i, e_i) = \epsilon_i = \pm 1$ . Denote the corresponding quasi-para-Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_i$  by the same quadruple. The Levi-Civita covariant derivatives and also the subspaces of Killing vector fields are evaluated in [6].



**The algebra  $\mathfrak{g}_1$ :** Since  $\xi$  is Killing,  $\xi = \xi_5 e_5$  [6] and  $g(\xi, \xi) = \xi_5^2 \epsilon_5 = 1$  implies  $\epsilon_5 = 1$ ,  $\xi_5^2 = 1$ . Let the endomorphism  $\varphi$  of the quasi-para-Sasakian structure be given by

$$\begin{aligned}\varphi(e_1) &= a_1 e_1 + \dots + a_5 e_5, & \varphi(e_2) &= b_1 e_1 + \dots + b_5 e_5, \\ \varphi(e_3) &= c_1 e_1 + \dots + c_5 e_5, & \varphi(e_4) &= d_1 e_1 + \dots + d_5 e_5, & \varphi(e_5) &= 0.\end{aligned}$$

Since  $\Phi$  is a 2-form,  $\Phi(e_i, e_i) = g(\varphi(e_i), e_i) = 0$ , and we have  $a_1 = b_2 = c_3 = d_4 = 0$ . Also  $g(\varphi(e_i), e_5) = -g(e_i, \varphi(e_5)) = 0$  implies  $a_5 = b_5 = c_5 = d_5 = 0$ . We evaluate  $F(e_i, e_j, e_k)$  both from (9) and (3) by using the Levi-Civita covariant derivatives in [6] and find the possible nonzero structure constants:

$$\begin{aligned}F(e_1, e_1, e_5) &= \frac{1}{2} a_2 = -F(e_1, e_5, e_1), & F(e_1, e_3, e_5) &= \frac{1}{2} c_2 = -F(e_1, e_5, e_3), \\ F(e_1, e_4, e_5) &= \frac{1}{2} d_2 = -F(e_1, e_5, e_4), & F(e_2, e_2, e_5) &= -\frac{1}{2} b_1 = -F(e_2, e_5, e_2), \\ F(e_2, e_3, e_5) &= -\frac{1}{2} c_1 = -F(e_2, e_5, e_3), & F(e_2, e_4, e_5) &= -\frac{1}{2} d_1 = -F(e_2, e_5, e_4), \\ F(e_3, e_1, e_5) &= \frac{1}{2} a_4 = -F(e_3, e_5, e_1), & F(e_3, e_2, e_5) &= \frac{1}{2} b_4 = -F(e_3, e_5, e_2), \\ F(e_3, e_3, e_5) &= \frac{1}{2} c_4 = -F(e_3, e_5, e_3), & F(e_4, e_1, e_5) &= -\frac{1}{2} a_3 = -F(e_4, e_5, e_1), \\ F(e_4, e_2, e_5) &= -\frac{1}{2} b_3 = -F(e_4, e_5, e_2), & F(e_4, e_4, e_5) &= -\frac{1}{2} d_3 = -F(e_4, e_5, e_4).\end{aligned}$$

From (9), it is obvious that  $F(e_5, e_j, e_k) = 0$ . On the other hand evaluating  $F(e_5, e_j, e_k)$  from (3) and comparing with (9) implies

$$a_2 + \epsilon_1 \epsilon_2 b_1 = 0, \tag{13}$$

$$a_4 + \epsilon_2 \epsilon_3 b_3 = 0, \tag{14}$$

$$\epsilon_1 \epsilon_4 a_4 + b_3 = 0, \tag{15}$$

$$-a_3 + \epsilon_2 \epsilon_4 b_4 = 0, \tag{16}$$

$$-\epsilon_1 \epsilon_3 a_3 + b_4 = 0, \tag{17}$$

and

$$c_4 + \epsilon_3 \epsilon_4 d_3 = 0, \tag{18}$$

$$-c_1 + \epsilon_2 \epsilon_4 d_2 = 0, \tag{19}$$

$$-\epsilon_1 \epsilon_3 c_1 + d_2 = 0, \tag{20}$$

$$c_2 + \epsilon_1 \epsilon_4 d_1 = 0, \tag{21}$$

$$\epsilon_2 \epsilon_3 c_2 + d_1 = 0. \tag{22}$$

In addition calculating (7) for basis elements gives

$$c_2 = a_4 = a, \quad d_2 = -a_3 = b, \quad c_1 = -b_4 = c, \quad d_1 = b_3 = d. \tag{23}$$

The normality condition is satisfied, it does not give any restriction on structure constants. Now we show

that a quasi-para-Sasakian structure in  $\mathfrak{g}_1$  is either in the class  $\mathbb{G}_5$  or  $\mathbb{G}_8$ . There is no quasi-para-Sasakian structure which is strictly in  $\mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8$ , that is

$$\mathbb{G}_5 \oplus \mathbb{G}_8 = \mathbb{G}_5 \cup \mathbb{G}_8$$

for quasi-para-Sasakian structures in  $\mathfrak{g}_1$ . By direct calculation,

$$\theta_F(\xi) = g^{ij}F(e_i, e_j, \xi) = \frac{\xi_5}{2}\{\epsilon_1 a_2 - \epsilon_2 b_1 + \epsilon_3 c_4 - \epsilon_4 d_3\}, \quad (24)$$

where  $\{e_1, e_2, \dots, \xi = \xi_5 e_5\}$  is the  $g$ -orthonormal basis. Comparing (14) and (15), we get  $a_4 = -\epsilon_2 \epsilon_3 b_3 = -\epsilon_1 \epsilon_4 b_3$ , thus  $\epsilon_2 \epsilon_3 = \epsilon_1 \epsilon_4$ . Multiply both sides by  $\epsilon_2 \epsilon_4$ . Then we also have  $\epsilon_1 \epsilon_2 = \epsilon_3 \epsilon_4$ . By (13) and (18), if  $\epsilon_1 \epsilon_2 = \epsilon_3 \epsilon_4 = 1$ , then  $a_2 = -b_1$ ,  $c_4 = -d_3$  and the Lee form (24) is

$$\theta_F(\xi) = \frac{\xi_5}{2}\{(\epsilon_1 + \epsilon_2)a_2 + (\epsilon_3 + \epsilon_4)c_4\}. \quad (25)$$

If  $\epsilon_1 \epsilon_2 = \epsilon_3 \epsilon_4 = -1$ , then  $a_2 = b_1$ ,  $c_4 = d_3$  and (24) becomes

$$\theta_F(\xi) = \frac{\xi_5}{2}\{(\epsilon_1 - \epsilon_2)a_2 + (\epsilon_3 - \epsilon_4)c_4\}. \quad (26)$$

We know that  $\epsilon_5 = 1$ . For other  $\epsilon_i$  there are six cases: Since  $\epsilon_1 \epsilon_2 = \epsilon_3 \epsilon_4 = \pm 1$  and the signature is (3, 2),

1.  $\epsilon_1 = 1, \epsilon_2 = 1, \epsilon_3 = -1, \epsilon_4 = -1$ . In this case,  $\theta_F(\xi) = \xi_5(a_2 - c_4)$ . By (13–23), we have  $a_2 = -b_1, c_4 = -d_3, c_2 = a_4 = d_1 = b_3 = a$  and  $-a_3 = d_2 = b_4 = -c_1 = b$  and thus

$$\begin{aligned} \varphi(e_1) &= a_2 e_2 - b e_3 + a e_4, & \varphi(e_2) &= -a_2 e_1 + a e_3 + b e_4, \\ \varphi(e_3) &= -b e_1 + a e_2 + c_4 e_4, & \varphi(e_4) &= a e_1 + b e_2 - c_4 e_3, & \varphi(e_5) &= 0. \end{aligned}$$

From (1),  $\varphi^2(e_1) = e_1$  and this implies

$$\begin{aligned} -a_2^2 + b^2 + a^2 &= 1, & (27) \\ a(a_2 - c_4) &= 0, \\ b(a_2 - c_4) &= 0. \end{aligned}$$

If  $a_2 - c_4 = 0$ , then  $\theta_F(\xi) = \xi_5(a_2 - c_4) = 0$  and by Proposition 1, a quasi-para-Sasakian structure is in  $\mathbb{G}_8$ . If  $a_2 - c_4 \neq 0$ , then equations (27) imply  $a = b = 0$  and  $-a_2^2 = 1$ , which can not hold. So for these  $\epsilon_i$ , a quasi-para Sasakian structure can not be in the class  $\mathbb{G}_5$ . In this case a quasi-para Sasakian structure has the property that  $\theta_F(\xi) = 0$  and is in  $\mathbb{G}_8$ .

2.  $\epsilon_1 = -1, \epsilon_2 = -1, \epsilon_3 = 1, \epsilon_4 = 1$  Similar to case 1, a quasi-para Sasakian structure is in the class  $\mathbb{G}_8$ .
3.  $\epsilon_1 = 1, \epsilon_2 = -1, \epsilon_3 = 1, \epsilon_4 = -1$   $\theta_F(\xi) = \xi_5(a_2 + c_4)$ . Equations (13–23) yield  $a_2 = b_1$ ,

$c_4 = d_3, c_2 = a_4 = d_1 = b_3 = a, -a_3 = d_2 = -b_4 = c_1 = b$  and endomorphism  $\varphi$  is of the form

$$\begin{aligned}\varphi(e_1) &= a_2e_2 - be_3 + ae_4, \quad \varphi(e_2) = a_2e_1 + ae_3 - be_4, \\ \varphi(e_3) &= be_1 + ae_2 + c_4e_4, \quad \varphi(e_4) = ae_1 + be_2 + c_4e_3, \quad \varphi(e_5) = 0.\end{aligned}$$

Then  $\varphi^2(e_1) = e_1$  implies

$$\begin{aligned}a_2^2 - b^2 + a^2 &= 1, \\ a(a_2 + c_4) &= 0, \\ b(a_2 + c_4) &= 0.\end{aligned}\tag{28}$$

If  $a_2 + c_4 = 0$ , then by Proposition 1, the quasi-para-Sasakian structure is in  $\mathbb{G}_8$ . If  $a_2 + c_4 \neq 0$ , then by (28),  $a = b = 0$  and  $a_2^2 = 1$ . Since  $\varphi^2(e_3) = e_3$ , we also have  $c_4^2 = 1$ . Since  $a_2 + c_4 \neq 0$ ,  $a_2$  and  $c_4$  are both equal to 1 or both equal to  $-1$ . Then the quasi-para-Sasakian structure  $(\varphi, \xi, \eta, g)$  such that  $\epsilon_1 = 1, \epsilon_2 = -1, \epsilon_3 = 1, \epsilon_4 = -1, \epsilon_5 = 1, \xi = e_5, \eta = e^5, \varphi(e_1) = e_2, \varphi(e_2) = e_1, \varphi(e_3) = e_4, \varphi(e_4) = e_3, \varphi(e_5) = 0$  satisfies the defining relation of the class  $\mathbb{G}_5$ . Also for  $a_2 = c_4 = -1$ , structure  $(\varphi, \xi, \eta, g)$ , where  $\epsilon_1 = 1, \epsilon_2 = -1, \epsilon_3 = 1, \epsilon_4 = -1, \epsilon_5 = 1, \xi = e_5, \eta = e^5, \varphi(e_1) = -e_2, \varphi(e_2) = -e_1, \varphi(e_3) = -e_4, \varphi(e_4) = -e_3, \varphi(e_5) = 0$  is in  $\mathbb{G}_5$ . Similarly for cases below, a quasi-para Sasakian structure is either in the class  $\mathbb{G}_8$  or  $\mathbb{G}_5$ .

4.  $\epsilon_1 = -1, \epsilon_2 = 1, \epsilon_3 = 1, \epsilon_4 = -1$

5.  $\epsilon_1 = 1, \epsilon_2 = -1, \epsilon_3 = -1, \epsilon_4 = 1$

6.  $\epsilon_1 = -1, \epsilon_2 = 1, \epsilon_3 = -1, \epsilon_4 = 1$  Now we give an example of a quasi-para-Sasakian structure in  $\mathbb{G}_8$ . The quasi-para Sasakian structure  $(\varphi, \xi, \eta, g)$  satisfying  $\epsilon_1 = 1, \epsilon_2 = 1, \epsilon_3 = -1, \epsilon_4 = -1, \epsilon_5 = 1, \xi = e_5, \eta = e^5, \varphi(e_1) = e_4, \varphi(e_2) = e_3, \varphi(e_3) = e_2, \varphi(e_4) = e_1, \varphi(e_5) = 0$  satisfies the defining relation of the class  $\mathbb{G}_8$ , so in  $\mathfrak{g}_1$ , there are quasi-para Sasakian structures of type  $\mathbb{G}_5$  or  $\mathbb{G}_8$ , however there are no quasi-para Sasakian structures which contain parts from both  $\mathbb{G}_5$  and  $\mathbb{G}_8$ .

**The algebra  $\mathfrak{g}_2$ :** Since  $\xi$  is Killing,  $\xi = \xi_5 e_5$  [6] and  $g(\xi, \xi) = \xi_5^2 \epsilon_5 = 1$  implies  $\epsilon_5 = 1, \xi_5^2 = 1$ . Endomorphism  $\varphi$  of the quasi-para-Sasakian structure is of the form

$$\begin{aligned}\varphi(e_1) &= a_1e_1 + \dots + a_5e_5, \quad \varphi(e_2) = b_1e_1 + \dots + b_5e_5, \quad \varphi(e_3) = c_1e_1 + \dots + c_5e_5, \\ \varphi(e_4) &= d_1e_1 + \dots + d_5e_5, \quad \varphi(e_5) = 0\end{aligned}$$

and  $a_1 = b_2 = c_3 = d_4 = 0$  since  $g(\varphi(e_i), e_i) = 0$ . In addition  $g(\varphi(e_i), e_5) = -g(e_i, \varphi(e_5)) = 0$  gives  $a_5 = b_5 = c_5 = d_5 = 0$ . We evaluate the possible nonzero structure constants  $F(e_i, e_j, e_k)$  of the tensor

$F$  by (9):

$$\begin{aligned} F(e_1, e_1, e_5) &= \frac{1}{2}a_3 = -F(e_1, e_5, e_1), & F(e_1, e_2, e_5) &= \frac{1}{2}b_3 = -F(e_1, e_5, e_2), \\ F(e_1, e_4, e_5) &= \frac{1}{2}d_3 = -F(e_1, e_5, e_4), & F(e_2, e_1, e_5) &= \frac{1}{2}a_4 = -F(e_2, e_5, e_1), \\ F(e_2, e_2, e_5) &= \frac{1}{2}b_4 = -F(e_2, e_5, e_2), & F(e_2, e_3, e_5) &= \frac{1}{2}c_4 = -F(e_2, e_5, e_3), \\ F(e_3, e_2, e_5) &= -\frac{1}{2}b_1 = -F(e_3, e_5, e_2), & F(e_3, e_3, e_5) &= -\frac{1}{2}c_1 = -F(e_3, e_5, e_3), \\ F(e_3, e_4, e_5) &= -\frac{1}{2}d_1 = -F(e_3, e_5, e_4), & F(e_4, e_1, e_5) &= -\frac{1}{2}a_2 = -F(e_4, e_5, e_1), \\ F(e_4, e_3, e_5) &= -\frac{1}{2}c_2 = -F(e_4, e_5, e_3), & F(e_4, e_4, e_5) &= -\frac{1}{2}d_2 = -F(e_4, e_5, e_4). \end{aligned}$$

Now from (7) we get

$$\begin{aligned} 0 &= F(e_1, e_2, e_5) + F(e_2, e_5, e_1) + F(e_5, e_1, e_2) = \frac{1}{2}\{b_3 - a_4\}, \\ 0 &= F(e_1, e_4, e_5) + F(e_4, e_5, e_1) + F(e_5, e_1, e_4) = \frac{1}{2}\{d_3 + a_2\}, \\ 0 &= F(e_2, e_3, e_5) + F(e_3, e_5, e_2) + F(e_5, e_2, e_3) = \frac{1}{2}\{c_4 + b_1\}, \\ 0 &= F(e_3, e_4, e_5) + F(e_4, e_5, e_3) + F(e_5, e_3, e_4) = \frac{1}{2}\{-d_1 + c_2\}, \end{aligned}$$

thus  $b_3 = a_4$ ,  $d_3 = -a_2$ ,  $c_4 = -b_1$  and  $c_2 = d_1$ . Set  $b_3 = a_4 = a$ ,  $d_3 = -a_2 = b$ ,  $c_4 = -b_1 = c$ ,  $c_2 = d_1 = d$ . Then

$$\begin{aligned} \varphi(e_1) &= -be_2 + a_3e_3 + ae_4, & \varphi(e_2) &= -ce_1 + ae_3 + b_4e_4, \\ \varphi(e_3) &= c_1e_1 + de_2 + ce_4, & \varphi(e_4) &= de_1 + d_2e_2 + be_3, & \varphi(e_5) &= 0. \end{aligned}$$

We evaluate  $F(e_i, e_j, e_k)$  from (3) and compare with (9):

$$\begin{aligned} 0 &= F(e_1, e_2, e_4) = g((\nabla_{e_1}\varphi)(e_2), e_4) = -\frac{c}{2}\epsilon_4, \\ 0 &= F(e_1, e_2, e_1) = g((\nabla_{e_1}\varphi)(e_2), e_1) = -\frac{c_1}{2}\epsilon_1 \end{aligned}$$

imply  $c = 0$ ,  $c_1 = 0$ . Similarly, since  $F(e_1, e_1, e_2) = 0$ ,  $F(e_1, e_1, e_3) = 0$ ,  $F(e_1, e_3, e_4) = 0$ ,  $F(e_1, e_4, e_3) = 0$ ,  $F(e_2, e_1, e_2) = 0$ , we get  $a_3 = 0$ ,  $b = 0$ ,  $b_4 = 0$ ,  $d_2 = 0$ ,  $d = 0$  respectively. Thus  $\varphi(e_4) = 0$  and (2) does not hold for  $u = v = e_4$ .

$$0 = g(\varphi(e_4), \varphi(e_4)) = -g(e_4, e_4) + \eta(e_4)\eta(e_4) = -\epsilon_4 \neq 0.$$

Thus there is no quasi-para Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_2$ .

**The algebra  $\mathfrak{g}_3$ :** In this Lie algebra if  $\xi$  is Killing,  $\xi = \xi_5 e_5$  [6] and  $g(\xi, \xi) = \xi_5^2 \epsilon_5 = 1$  implies  $\xi_5^2$ ,

$\epsilon_5 = 1$ . Similar to  $\mathfrak{g}_1$  and  $\mathfrak{g}_2$ ,  $\varphi$  is of the form

$$\begin{aligned}\varphi(e_1) &= a_2e_2 + a_3e_3 + a_4e_4, & \varphi(e_2) &= b_1e_1 + b_3e_3 + b_4e_4, \\ \varphi(e_3) &= c_1e_1 + c_2e_2 + c_4e_4, & \varphi(e_4) &= d_1e_1 + d_2e_2 + d_3e_3, & \varphi(e_5) &= 0.\end{aligned}$$

By (9), nonzero structure constants  $F(e_i, e_j, e_k)$  of the tensor  $F$  are

$$\begin{aligned}F(e_1, e_1, e_5) &= \frac{1}{2}a_4 = -F(e_1, e_5, e_1), & F(e_1, e_2, e_5) &= \frac{1}{2}b_4 = -F(e_1, e_5, e_2), \\ F(e_1, e_3, e_5) &= \frac{1}{2}c_4 = -F(e_1, e_5, e_4), & F(e_2, e_1, e_5) &= \frac{1}{2}a_3 = -F(e_2, e_5, e_1), \\ F(e_2, e_2, e_5) &= \frac{1}{2}b_3 = -F(e_2, e_5, e_2), & F(e_2, e_4, e_5) &= \frac{1}{2}d_3 = -F(e_2, e_5, e_4), \\ F(e_2, e_5, e_2) &= -\frac{1}{2}b_3 = -F(e_2, e_2, e_5), & F(e_3, e_1, e_5) &= -\frac{1}{2}a_2 = -F(e_3, e_5, e_1), \\ F(e_3, e_3, e_5) &= -\frac{1}{2}c_2 = -F(e_3, e_5, e_3), & F(e_3, e_4, e_5) &= -\frac{1}{2}d_2 = -F(e_3, e_5, e_4), \\ F(e_4, e_2, e_5) &= -\frac{1}{2}b_1 = -F(e_4, e_5, e_2), & F(e_4, e_3, e_5) &= -\frac{1}{2}c_1 = -F(e_4, e_5, e_3), \\ F(e_4, e_4, e_5) &= -\frac{1}{2}d_1 = -F(e_4, e_5, e_4).\end{aligned}$$

Then from (7) we get

$$\begin{aligned}0 &= F(e_1, e_2, e_5) + F(e_2, e_5, e_1) + F(e_5, e_1, e_2) = \frac{1}{2}\{b_4 - a_3\}, \\ 0 &= F(e_1, e_3, e_5) + F(e_3, e_5, e_1) + F(e_5, e_1, e_3) = \frac{1}{2}\{d_3 + a_2\}, \\ 0 &= F(e_2, e_4, e_5) + F(e_4, e_5, e_2) + F(e_5, e_2, e_4) = \frac{1}{2}\{d_3 + b_1\}, \\ 0 &= F(e_3, e_4, e_5) + F(e_4, e_5, e_3) + F(e_5, e_3, e_4) = \frac{1}{2}\{-d_2 + c_1\},\end{aligned}$$

thus  $b_3 = a_4$ ,  $c_4 = -a_2$ ,  $d_3 = -b_1$  and  $d_2 = c_1$ . Let  $b_4 = a_3 = a$ ,  $c_4 = -a_2 = b$ ,  $d_3 = -b_1 = c$ ,  $c_1 = d_2 = d$ . Then

$$\begin{aligned}\varphi(e_1) &= -be_2 + ae_3 + a_4e_4, & \varphi(e_2) &= -ce_1 + b_3e_3 + ae_4, \\ \varphi(e_3) &= de_1 + c_2e_2 + be_4, & \varphi(e_4) &= d_1e_1 + de_2 + ce_3, & \varphi(e_5) &= 0.\end{aligned}$$

By comparing (3) with (9) for basis elements, we have  $a = a_4 = d = c_2 = b = 0$ . Then  $\varphi(e_1) = 0$  and (2) does not hold. As a result there is no quasi-para Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_3$ .

**The algebra  $\mathfrak{g}_4$ :** The Killing characteristic vector field  $\xi$  is of the form  $\xi = \xi_5e_5$  and  $g(\xi, \xi) = \xi_5^2\epsilon_5 = 1$  gives  $\xi_5^2 = 1$ ,  $\epsilon_5 = 1$ .

$$\begin{aligned}\varphi(e_1) &= a_2e_2 + a_3e_3 + a_4e_4, & \varphi(e_2) &= b_1e_1 + b_3e_3 + b_4e_4, \\ \varphi(e_3) &= c_1e_1 + c_2e_2 + c_4e_4, & \varphi(e_4) &= d_1e_1 + d_2e_2 + d_3e_3, & \varphi(e_5) &= 0.\end{aligned}$$

By (9),

$$\begin{aligned} F(e_1, e_5, e_1) &= -\frac{1}{2}a_4 = -F(e_1, e_1, e_5), \quad F(e_1, e_5, e_3) = -\frac{1}{2}c_4 = -F(e_1, e_3, e_5), \\ F(e_4, e_5, e_2) &= \frac{1}{2}b_1 = -F(e_4, e_2, e_5), \quad F(e_4, e_5, e_3) = \frac{1}{2}c_1 = -F(e_4, e_3, e_5), \\ F(e_4, e_5, e_4) &= \frac{1}{2}d_1 = -F(e_4, e_4, e_5), \quad F(e_1, e_2, e_5) = \frac{1}{2}b_4 = -F(e_1, e_5, e_2). \end{aligned}$$

From (7),

$$\begin{aligned} 0 &= F(e_4, e_5, e_2) + F(e_5, e_2, e_4) + F(e_2, e_4, e_5) = \frac{1}{2}b_1, \\ 0 &= F(e_1, e_2, e_5) + F(e_2, e_5, e_1) + F(e_5, e_1, e_2) = \frac{1}{2}b_4, \end{aligned}$$

thus  $b_1 = 0$ ,  $b_4 = 0$  and  $\varphi(e_2) = b_3e_3$ . Also

$$\begin{aligned} 0 &= F(e_1, e_5, e_3) + F(e_5, e_3, e_1) + F(e_3, e_1, e_5) = -\frac{1}{2}c_4, \\ 0 &= F(e_4, e_5, e_3) + F(e_5, e_3, e_4) + F(e_3, e_4, e_5) = \frac{1}{2}c_1, \end{aligned}$$

thus  $c_4 = 0$ ,  $c_1 = 0$  and  $\varphi(e_3) = c_2e_2$ . (3) and (9) yield

$$0 = F(e_1, e_2, e_4) = g((\nabla_{e_1}\varphi)(e_2), e_4) = \frac{b_3}{2}\epsilon_4,$$

thus  $b_3 = 0$  and  $\varphi(e_2) = 0$ . Then (2) is not satisfied and there is no quasi-para Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_4$ .

**The algebra  $\mathfrak{g}_5$ :** Since  $\xi$  is Killing,  $\xi = \xi_4e_4 + \xi_5e_5$ .

$$\begin{aligned} \varphi(e_1) &= a_1e_1 + \dots + a_5e_5, \quad \varphi(e_2) = b_1e_1 + \dots + b_5e_5, \\ \varphi(e_3) &= c_1e_1 + \dots + c_5e_5, \quad \varphi(e_4) = d_1e_1 + \dots + d_5e_5, \quad \varphi(e_5) = f_1e_1 + \dots + f_5e_5. \end{aligned}$$

Since  $g(\varphi(e_i), e_i) = 0$ , we have  $a_1 = b_2 = c_3 = d_4 = f_5 = 0$ . In addition,  $0 = g(\varphi(e_4), \xi)$  gives  $d_5 = 0$  and  $0 = g(\varphi(e_5), \xi)$  implies  $f_4 = 0$ . We calculate  $F(e_i, e_j, e_k)$  by (9) and by (3). By (3), we have

$$F(e_2, e_1, e_i) = g(\epsilon_1\epsilon_4 \frac{a_4}{2}e_1 + \frac{1}{2}\{d_1e_1 + d_2e_2 + d_3e_3\}, e_i).$$

By (9),  $F(e_2, e_1, e_i) = 0$  for  $i = 1, 2, 3$ . Comparing these two equations we get  $a_4 = \pm d_1$ ,  $d_2 = 0$  and  $d_3 = 0$  from  $i = 1, 2, 3$  respectively. Also by (9),  $F(e_1, e_1, e_2) = F(e_1, e_1, e_3) = 0$  and by (3),  $F(e_1, e_1, e_2) = -\frac{a_4}{2}\epsilon_4$  and  $F(e_1, e_1, e_3) = -\frac{a_5}{2}\epsilon_5$  and thus  $a_4 = a_5 = 0$ . In addition  $a_4 = \pm d_1 = 0$ . Thus  $\varphi(e_4) = 0$ . The equation (2) for  $u = v = e_4$  implies  $0 = -\epsilon_4 + \xi_4^2$  and thus  $\xi_4^2 = \epsilon_4 = 1$ . Now since  $g(\xi, \xi) = \xi_4^2\epsilon_4 + \xi_5^2\epsilon_5 = 1$ , we have  $\xi_5 = 0$ . Since  $\xi = \xi_4e_4$  and  $0 = g(\varphi(e_i), \xi)$ , we get  $b_4 = c_4 = 0$ . The equation (9) implies  $F(e_3, e_1, e_1) = F(e_3, e_1, e_2) = F(e_3, e_1, e_3) = 0$ . Comparing with (3), we get  $f_1 = f_2 = f_3 = 0$  and thus  $\varphi(e_5) = 0$ . Thus (2) is not satisfied for  $u = v = e_5$ . So there is no quasi-para Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_5$ .

**The algebra  $\mathfrak{g}_6$ :** Since  $\xi$  is Killing,  $\xi = \xi_4 e_4 + \xi_5 e_5$ .

$$\varphi(e_1) = a_1 e_1 + \dots + a_5 e_5, \quad \varphi(e_2) = b_1 e_1 + \dots + b_5 e_5,$$

$$\varphi(e_3) = c_1 e_1 + \dots + c_5 e_5, \quad \varphi(e_4) = d_1 e_1 + \dots + d_5 e_5, \quad \varphi(e_5) = f_1 e_1 + \dots + f_5 e_5.$$

Since  $g(\varphi(e_i), e_i) = 0$ , we have  $a_1 = b_2 = c_3 = d_4 = f_5 = 0$ . Also since  $0 = g(\varphi(e_4), \xi)$ , we get  $d_5 = 0$  and  $0 = g(\varphi(e_5), \xi)$  implies  $f_4 = 0$ . We calculate  $F(e_i, e_j, e_k)$  by (9) and by (3). From (9),  $F(e_1, e_2, e_1) = 0$  and comparing this with (3) implies  $c_1 = 0$ . Similarly,  $F(e_1, e_2, e_3) = 0$  yields  $b_4 = 0$ . In addition,

$$\begin{aligned} F(e_2, e_1, e_1) &= F(e_2, e_1, e_2) = F(e_2, e_1, e_3) = F(e_1, e_3, e_1) = F(e_3, e_1, e_2) = F(e_2, e_3, e_1) \\ &= F(e_3, e_2, e_3) = F(e_4, e_2, e_1) = F(e_1, e_2, e_5) = F(e_5, e_1, e_3) = F(e_5, e_2, e_4) = 0 \end{aligned}$$

imply  $a_3 = c_2 = a_5 = d_1 = d_2 = f_1 = f_3 = b_3 = c_5 = a_2 = c_4 = 0$  respectively. Then  $\varphi(e_3) = 0$  and (2) does not hold. Thus there is no quasi-para Sasakian structure on  $\mathfrak{g}_6$ .

#### **Acknowledgments -**

**Funding/Financial Disclosure** This study is supported by Eskişehir Technical University Scientific Research Projects Commission under the Grant No: 22 ADP 011.

**Ethics Committee Approval and Permissions** The work does not require ethics committee approval and any private permission.

**Conflict of Interests** The authors stated that there are no conflict of interest in this article.

**Authors Contribution** Authors contributed equally to the study.

#### **References**

- [1] Kaneyuki, S., & Williams, F. L. (1985). Almost paracontact and parahodge structures on manifolds. *Nagoya Mathematical Journal*, 99, 173–187.
- [2] Zamkovoy, S. (2009). Canonical connections on paracontact manifolds. *Annals of Global Analysis and Geometry*, 36(37). <https://doi.org/10.1007/s10455-008-9147-3>
- [3] Zamkovoy, S., & Nakova, G. (2018). The decomposition of almost paracontact metric manifolds in eleven classes revisited. *Journal of Geometry*, 109(1), 1–23. <https://doi.org/10.1007/s00022-018-0423-5>
- [4] Nakova, G., & Zamkovoy, S. (2009). Almost paracontact manifolds. arXiv:0806.3859v2 [math.DG].
- [5] Zamkovoy, S. (2018). On para-Kenmotsu manifolds. *Filomat*, 32(14), 4971–4980. <https://doi.org/10.2298/FIL1814971Z>
- [6] Özdemir, N., Solgun, M., & Aktay, Ş. (2020). Almost paracontact metric structures on 5-dimensional nilpotent Lie algebras. *Fundamental Journal of Mathematics and Applications*, 3(2), 175–184. <https://doi.org/10.33401/fujma.800222>

- [7] Erken, I. K. (2019). Curvature properties of quasi-para-sasakian manifolds. *International Electronic Journal of Geometry*, 12(2), 210–217. <https://doi.org/10.36890/iejg.628085>
- [8] Özdemir, N., Aktay Ş., & Solgun M. (2018). Almost paracontact structures obtained from  $G_{2(2)}^*$  structures. *Turkish Journal of Mathematics*, 42 , 3025–3022. <https://doi.org/10.3906/mat-1706-10>
- [9] Dixmier, J. (1958). Sur les représentations unitaires des groupes de Lie nilpotentes III. *Canadian Journal of Mathematics*, 10, 321–348.
- [10] Özdemir, N., Solgun, M., & Aktay, Ş. (2016). Almost contact metric structures on 5-dimensional nilpotent Lie algebras. *Symmetry*, 8, 76. <https://doi.org/10.3390/sym8080076>
- [11] Özdemir, N., Aktay Ş., & Solgun M. (2019). Quasi-Sasakian structures on 5-dimensional nilpotent Lie algebras. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series A1: Mathematics and Statistics*, 68(1), 326–333. <https://doi.org/10.31801/cfsuasmas.416563>
- [12] Welyczko, J. (2009). On Legendre curves in 3-dimensional normal almost paracontact metric manifolds. *Results in Mathematics*, 54(3), 377–387. <https://doi.org/10.1007/s00025-009-0364-2>





## Tekstil Atıksularının Elektrokoagülasyon Prosesiyle Arıtımının İncelenmesi

Kasım ATMACA<sup>1</sup>

How to cite: Atmaca, K. (2023). Tekstil atıksularının elektrokoagülasyon prosesiyle arıtımının incelenmesi. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 87-100. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1225094>

### Derleme

#### Sorumlu Yazar

Kasım ATMACA  
katmaca@sinop.edu.tr

#### Yazarlara ait ORCID

K.A: 0000-0002-6570-4127

Received: 27.12.2022

Accepted: 05.06.2023

### Öz

Bu çalışmada, Elektrokoagülasyon (EC) prosesinin temel mekanizması, prosesi etkileyen işletme parametrelerinin tekstil atıksuyundan kirletici giderimi üzerine etkileri tartışılmıştır. Tekstil endüstrisinin gelişmesiyle beraber oluşan kirleticilerin konsantrasyonları artmış ve bu durum çeşitli çevresel problemler oluşturmuştur. Tekstil atıksuları, yüksek askıda katı madde içeriği, bulanıklık, kimyasal oksijen ihtiyacı ve renk ile karakterize edilir. Oluşan atıksuların çevreye deşarjı öncesi etkili ve verimli arıtma proseslerine ihtiyaç vardır. EC, çok yönlülüğü, kurulum kolaylığı ve çevre dostu olması nedeniyle son yıllarda endüstriyel atıksuların arıtılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. EC prosesi için enerji gereksinimi ve oluşan çamur miktarı diğer arıtma proseslerine göre çok daha azdır. Bu gibi avantajlarından dolayı EC nin tekstil atıksularının arıtımında kullanımı yaygın olarak kabul görmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Elektrokoagülasyon, proses, arıtım, tekstil atıksuyu

## Investigation of Textile Wastewater Treatment by Electrocoagulation Process

<sup>1</sup>Sinop Üniversitesi, Mühendislik-  
Mimarlık Fakültesi, Çevre  
Mühendisliği Bölümü,  
Sinop/Türkiye

Bu çalışma Creative Commons  
Attribution 4.0 International  
License ile lisanslanmıştır

### Abstract

In this study, the basic mechanism of the Electrocoagulation (EC) process and the effects of operating parameters affecting the process on pollutant removal from textile wastewater are discussed. With the development of the textile industry, the concentrations of pollutants have increased and this has created various environmental problems. Textile wastewater is characterized by high suspended solids content, turbidity, chemical oxygen demand and color. There is a need for effective and efficient treatment processes before the resulting wastewater is discharged to the environment. EC has been widely used in the treatment of industrial wastewater in recent years due to its versatility, ease of installation and environmental friendliness. The energy requirement and the amount of sludge formed for the EC process are much less than other treatment processes. Due to such advantages, the use of EC in the treatment of textile wastewater is widely accepted.

**Keywords:** Electrocoagulation, process, treatment, textile wastewater

## Giriş

Günümüz dünyası bir sürdürülebilirlik çağına girmiş olup, çevre kirliliğinin getirdiği zorluklarla acilen başa çıkmak gerekmektedir. Atıksular, oluştuktan sonra arıtılmadan alıcı ortama deşarj edilmesi durumunda hem su rezervlerinin tükenmesine neden olur hem de gelecek nesiller için tehdit oluşturur [1]. Su kaynaklarının korunması yirmi birinci yüzyılın en büyük zorluklarından biridir. Nüfus artışı, ormanların yok edilmesi, hızlı kentleşme, sanayileşme ve küresel iklim değişikliği gibi çeşitli sorunlarla mücadele etmek gerekmektedir. Günümüzde, sağlıklı içme suyuna erişim sınırlıdır ve stres altındadır; su kirliliği, su ekosistemlerini ve sağlıklı tatlı suyun mevcudiyetini ciddi şekilde etkilemektedir. Bu nedenle, atıksuların arıtılması ve yönetilmesi, su kalitesinin korunması için verimli teknolojiler ve yaklaşımlar geliştirmeye ihtiyaç vardır [2]. Tekstil atıksuları, endüstriyel atıksular arasında kirlilik yükü fazla olan atıksulardandır. Yüksek oranda kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), toplam organik karbon (TOK), bulanıklık ve tuz içeriği tekstil atıksularının özelliklerindedir. Tekstil atıksularının karakterizasyonu Tablo 1’de verilmiştir.

**Tablo 1. Tekstil atıksularının karakterizasyonu [1]**

<b>Parametre</b>	<b>Konsantrasyon</b>
pH	9.5-12.5
Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı (mg/L)	25-433
Kimyasal Oksijen İhtiyacı (mg/L)	1835-3828
Toplam Organik Karbon (mg/L)	26.390-73.190
Amonyum (mg/L)	2-3
Klorür (mg/L)	1200-1375

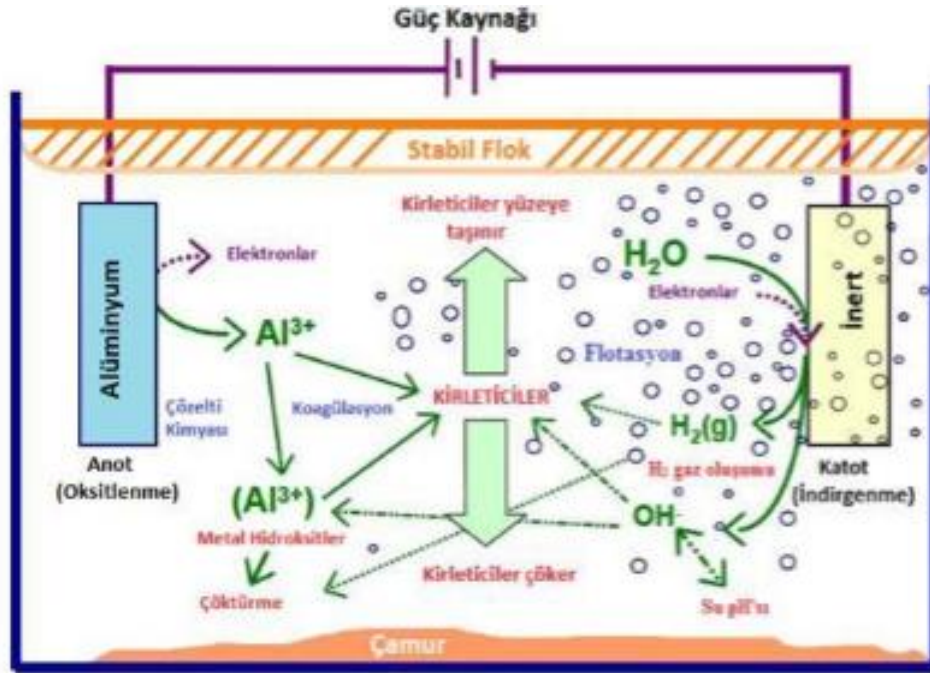
Uygun şekilde arıtılmadan alıcı ortama deşarj edilen tekstil atıksuları sucul ekosistemlerde yaşayan canlılar üzerinde ve insanlarda zararlı etkilere neden olabilir. Örneğin bazı tekstil boya ve bunların bozunmuş türevleri, suda yaşayan organizmaların büyümesini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca insanlarda, bağırsak kanserine, beyin anormalliklerine, üst solunum yollarında, gözde ve ciltte tahrişe neden olmaktadır [1]. Tekstil endüstrisi atıksuları, farklı işlemlerde kullanılan kimyasallar nedeniyle kirlenici bileşimi açısından büyük ölçüde farklılık gösterir. Dünya çapında çok çeşitli boya türleri üretilmekte ve tekstil, kozmetik, kağıt, deri, ilaç ve gıda endüstrisi gibi çeşitli endüstrilerde kullanılmaktadır. Boyalar asidik, bazik, direkt, azoik renkler, vat, kükürt, reaktif ve metal kompleks boyalar olarak sınıflandırılabilir. Tahmini yıllık üretimi  $7 \times 10^5$  tonun üzerinde olan 100.000'den fazla ticari olarak temin edilebilen boya vardır. Tekstil endüstrisi, ürünün gerekli şekil ve özelliklerini üretmek için çok çeşitli makine ve süreçleri içerir. Haşılama, yıkama, ağartma, merserize etme, boyama, baskı ve terbiye gibi çeşitli işlemlerde büyük miktarlarda atıksu üretilir. Bu atıksu esas olarak yan ürünler, artık boya, tuzlar, asit/alkali, yardımcı kimyasallar ve temizleme solventleri içerir. Literatürde fiziksel veya fizikokimyasal, kimyasal, biyolojik ve elektrokimyasal olarak sınıflandırılabilen renk giderme teknikleri ile ilgili çeşitli çalışmalar rapor edilmiştir. Renk giderme mekanizmaları, fiziksel

boya ayrımı, boyaların parçalanması ve adsorpsiyon/biyodegradasyon yoluyla renk gidermedir. Fiziksel veya fizikokimyasal teknikler arasında koagülasyon/flokülasyon, adsorpsiyon ve membran filtrasyon yöntemleri yer alır. Koagülasyon, kükürtlü ve dispersif boyaların gideriminde etkilidir. Bununla birlikte, koagülasyon yönteminde büyük miktarlarda çamur oluşumu gözlemlenmiştir. Adsorpsiyon, atıksudaki çözülmüş organiklerin konsantrasyonunu düşürmek için etkili bir yöntemdir. Ancak adsorbent rejenerasyonu pahalıdır ve adsorbent kaybını içerir. Membran filtrasyon yönteminde ise, uygun membran her türlü boyayı giderebilir. Alan gereksinimleri daha azdır ve çamur oluşumu yoktur. Ancak, membranların ve ekipmanın yüksek maliyeti, membranın kirlenmesi nedeniyle zamanla azalan verimlilik ve konsantrelerin atılması yöntemin dezavantajlarındandır [3]. Biyolojik arıtma metotları arasında anaerobik prosesler, oksidasyon havuzları, damlatmalı filtreler, aktif çamur prosesi sayılabilir. Mikrobiyal biyokütle, endüstriyel atıkların arıtılması için de yaygın olarak kullanılmaktadır. Algler, mantarlar, bakteriler ve mayalar gibi mikroorganizmalar, belirli tipteki boyaları bozabilir. Ancak biyolojik arıtmanın geniş bir arazi alanı gerektirmesi, bazı kimyasalların toksisitesine karşı hassasiyeti ve arıtma süresinin çok uzun olması nedeniyle uygulamaları sınırlıdır. Ayrıca, bazı boyalar genellikle toksiktir ve biyolojik işleme kolayca biyolojik olarak bozunmazlar [4]. Koagülasyon, sularda bulunan ve kendi ağırlıklarıyla çökelemeyen koloidal partiküllerin çeşitli kimyasallar yardımıyla çökebilir hale getirilmesi işlemidir [5]. Atıksu arıtımında kullanılan kimyasal koagülantlar arasında alüminyum klorür [6, 7], alüminyum sülfat [8-10], demir klorür [11, 12], demir sülfat [13], polialüminyum klorür [14, 15] sayılabilir. Koagülasyon/flokülasyon ve EC arasındaki teori temelde aynıdır. Her iki yöntem de partiküllerin suda asılı kalmasını sağlayan itici kuvvetlerin kararsızlaştırılması/nötralle edilmesi yoluyla partiküllerin atıksudan uzaklaştırılmasını hedefler. İki proses arasındaki temel fark EC de koagülantın uygun bir anot malzemesinin elektrolitik oksidasyonu ile yerinde üretilmesidir [16]. Proseste genellikle kullanılan elektrotlar demir, alüminyum, yumuşak çelik ve paslanmaz çeliktir. Atıksuyun EC ile arıtılması, kimyasal koagülasyon ile karşılaştırıldığında %10 ila 15 oranında daha yüksektir ve ayrıca işlemde kaynaklanan çamur, kimyasal koagülasyona göre daha azdır. Bu işlemin bir diğer avantajı, bu yöntemin endüstriyel ölçekte olduğu kadar pilot ölçekli olarak da uygulanabilmesidir. EC prosesinin ek avantaj ve dezavantajları Tablo 2’de verilmiştir. Bu işlem sayesinde, geleneksel yöntemlere kıyasla koagülant miktarı önemli ölçüde azaltılabilir [1].

**Tablo 2. Elektrokoagülasyon işleminin avantaj ve dezavantajları [1]**

<b>Avantaj</b>	<b>Dezavantaj</b>
Basit donanımlı, işletimi kolay olması ve daha az bakım gerektirmesi,	Bakım ihtiyacı ve elektrotların düzenli olarak değiştirilmesi.
Sisteme herhangi bir harici kimyasal ilavesi olmadığından ikincil kirlilik yoktur.	Yüksek atıksu iletkenliği.
Renk, koku, KOİ vb kirleticiler içeren her türlü atıksuyu arıtmak için kullanılabilir.	Elektrot yüzeyinde oksit tabakası oluşumu elektrotun aşınmasına yol açar.
Elektroliz sırasında oluşan gaz kabarcıkları, kirleticiyi çözeltilerin yüzeyine taşıyarak giderebilir.	Bazı yerlerde elektrik kullanımının pahalı olması.

EC prosesinin genel dizayn görüntüsü Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. EC prosesinin genel görüntüsü

EC, su ve atıksu sistemlerindeki organik [17-19], inorganik [20-22], ve patojenik [23-25] kirlenmişleri arıtabilir. Geniş uygulama alanından dolayı EC evsel atıksu [26-28], kentsel atıksu [29], yeraltı suyu [30-32], deniz suyu [33, 34] ve endüstriyel atıksuların [35-37] arıtımında kullanılmaktadır.

### EC Prosesinin Mekanizması

EC, kirlenmişlerin giderilmesi için hem fiziksel hem de kimyasal mekanizmanın dahil olduğu bir ayırma tekniğidir. Bu işlem esas olarak, elektrotlar arasında elektrik akımı uygulayarak sulu ortamdaki askıda, çözünmüş veya emülsifiye edilmiş kirlenmişlerin kararsız hale getirilmesidir [1]. Elektrokoagülasyon prosesi temel olarak anotta metal katyonların çözünmesini ve katotta aynı anda hidroksil iyonları ve hidrojen gazı oluşumunu içerir:



Metal elektrottan geçen elektrik akımı, metali (M) kendi katyonuna ( $M^+$ ) oksitler (Denklem 1). Aynı anda su, hidrojen gazına ve hidroksil iyonuna ( $OH^-$ ) indirgenir (Denklem 2). EC sırasında, anotta oluşan yüksek yüklü katyonlar ( $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ), monomerik ve polimerik hidrokso kompleks türlerinin oluşumuyla koloidal partiküllerin dengesini bozar. Bu metal hidrokso kompleksleri, kirlenmişlerle güçlü agregalar oluşturan yüksek adsorpsiyon özelliklerine sahiptir. Metal hidrolizinin derecesi, toplam metal katyon konsantrasyonuna, pH'a ve çözeltide bulunan diğer türlerin tipine ve konsantrasyonuna bağlıdır.

Demir elektrot varlığında elektroliz sonucunda oluşan  $Fe^{2+}$  lar anodik oksidasyon neticesinde  $Fe(OH)_n$  üretir ve burada n 2 veya 3 olabilir.  $Fe(OH)_{n(s)}$  sulu fazda amorf bir süspansiyon olarak kalır, bu da kirleticileri atıksudan kompleksleştirme veya elektrostatik çekim ve ardından pıhtılaşma yoluyla giderir [35].

## **EC Prosesini Etkileyen Parametreler**

### **pH**

Çözeltinin pH'ı, elektrokoagülasyonda önemli bir operasyonel parametredir. Maksimum kirletici giderme verimliliği, belirli bir kirletici için optimum çözelti pH'ında elde edilir. Bir kirleticinin çökmesi belirli bir pH'da başlar. Kirletici giderim verimliliği, çözeltinin pH ını optimum pH dan artırarak veya azaltarak azalır [3]. Verma ve ark. [38] elektrokoagülasyon kullanarak sentetik çözeltiden altı değerlikli kromun giderimini incelemiş ve çözeltinin pH'ının Cr (VI) giderim verimliliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bulmuştur. Farklı pH da yapılan deneyler sonucunda pH 4'te maksimum krom giderme verimi elde etmişlerdir. Elektrokoagülasyon işlemi sırasında çözeltinin pH'ı değişir ve nihai pH genel arıtma performansını etkiler [39, 40]. Başlangıç pH değeri 4 ten düşük olduğunda (asidik) çıkış pH ının arttığı, başlangıç pH değeri 8'den yüksek olduğunda (bazik) azalma eğiliminde olduğu ve başlangıç pH değeri nötr aralıktayken (6-8 civarında) çıkış suyunun pH'ının çok az değiştiği bildirilmiştir. Bu durum, elektrokoagülasyon sırasında geleneksel kimyasal koagülasyondan farklı bir pH tamponlama etkisine işaret etmektedir. Bu pH tamponlama kapasitesi, elektrokoagülasyon sırasında hidroksil iyonlarının üretimi ve tüketimi ile çözünür alüminyum bileşiklerinin alüminyum hidroksitlere nihai dönüşümünden önce yük nötralizasyonu ihtiyacı arasındaki dengeye bağlanabilir. Öte yandan, EC sırasında nihai pH değerlerinin hızla arttığı ve EC sonunda ulaşılan nihai pH değerlerinin 8-9 dan büyük olduğu da bildirilmiştir. Bu durum, katotta sürekli hidroksil iyon üretimi meydana gelmesiyle ilişkilendirilebilir (Denklem 2). Alkali koşullar altında  $Al(OH)_4^-$  komplekslerinin oluşumu pH'daki düşüşün ana nedenidir [35]. Bener ve ark. [41], üç farklı pH değerinde (5, 8 ve 10) Al elektrotlar kullanarak gerçek tekstil atıksuyundan TOK giderme verimliliği üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Maksimum TOK giderimini (%65), pH 5 de elde etmişlerdir. Demirbaş ve Kobyay [42], metal işleme sıvısı atıksuyunda hem Fe-Fe hem de Al-Al elektrotların çeşitli pH koşullarında kullanımını araştırmıştır. Fe elektrotun pH 7.5 de en iyi sonucu verdiği, Al elektrotun ise pH 6.5 de daha iyi performans gösterdiği bulunmuştur.

### **Akım Yoğunluğu**

Akım yoğunluğu, EC prosesinin verimliliğini etkileyebilecek koagülant dozaj oranını, kabarcık üretim hızını, yumakların boyutunu ve büyümesini belirlediği için çok önemli bir parametredir. Akım yoğunluğunun artmasıyla anot çözünme hızı artar. Bu durum, metal hidroksit yumaklarının sayısında bir artışa yol açarak kirletici giderme veriminde artışa neden olur. Akım yoğunluğunda optimum akım

yoğunluğunun üzerinde bir artış, kirleticinin çökeltilmesi için yeterli sayıda metal hidroksit yumakları mevcut olduğundan, kirletici giderme verimliliğinde bir artışa neden olmaz [3]. EC prosesinde akım yoğunluğu, elektrotlardan metal iyonunun ayrışması sonucunda ortaya çıkan elektron salınım hızını düzenler [43]. EC prosesinde uygulanan akım yoğunluğu genel olarak 0.01 ile 880 A/m<sup>2</sup> arasında değişmektedir [44, 45]. Uygulanan akım yoğunluğunun, çözeltideki metal iyonlarının salınmasına ve ayrışmasına karşılık gelmesine rağmen, fazla akım, koloidal yükün oluşumu ile yerinde ikincil reaksiyonlara izin vererek EC işleminin performansını önemli ölçüde azaltabilir. Bu durum proses verimliliğini düşürerek elektrot ömrünü kısaltmaktadır. Bu nedenle, akım yoğunluğu, istenen artırım performansını elde etmek için optimize edilmesi gereken çok önemli bir parametredir [46]. Çeşitli çalışmalarda, farklı kirletici içeren atıksularda uygulanan akım yoğunluğunun etkisi araştırılmıştır [47, 48, 42]. Rahman ve ark. [49], turba atıksuyundan yapmış oldukları artırım çalışmasında 25 A/m<sup>2</sup> akım yoğunluğu değerinde %98.5 KOİ, %98 bulanıklık, %92 TOK ve %100 renk giderim verimliliği elde etmişlerdir.

### **Elektrotlar Arası Mesafe**

Elektrostatik alan anot ve katot arasındaki mesafeye bağlı olduğundan, elektrotlar arası mesafe EC de önemli bir rol oynar. Elektrotlar arasında optimum mesafe korunarak maksimum kirletici giderim verimliliği elde edilir. Elektrotlar arası mesafenin minimum olması durumunda kirletici giderim verimliliği düşüktür. Bunun nedeni, flok görevi gören ve kirleticiyi çökeltme yoluyla uzaklaştıran metal hidroksitlerin, yüksek elektrostatik çekim nedeniyle birbirleriyle çarpışarak bozulmasıdır [50]. Elektrotlar arası mesafenin minimumdan optimum mesafeye kadar artmasıyla kirletici giderim verimliliği artar. Bunun nedeni, elektrotlar arasındaki mesafeyi daha da artırarak, üretilen iyonların daha yavaş hareket etmesine neden olan elektrostatik etkilerde bir azalma olmasıdır. Elektrot mesafesi optimum elektrot mesafesinden daha fazla arttırıldığında, kirletici giderim verimliliğinde bir azalma olur. Bunun nedeni, elektrotlar arasındaki mesafenin artmasıyla iyonların hareket süresinin artmasıdır. Bu durum elektrostatik çekim kuvvetini azaltarak kirleticilerin çökmesi için daha az flok oluşumuyla açıklanabilir [3]. Pek çok çalışmada, farklı atıksular için optimum elektrotlar arası mesafe aralığının 0.5–1 cm olduğu bildirilmiştir [51-53]. Lakshmi ve Sivashanmugam [54], yağ tabaklama atıksuyundan KOİ giderimi üzerine (KOİ giriş: 25.000 mg/L) elektrotlar arası mesafenin etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda, 15 dakika sonunda >%90'lık en yüksek KOİ giderim verimliliğine ulaşmak için 15 mm'lik elektrotlar arası aralığın optimal olduğu sonucuna varılmıştır. Prajapati ve ark. [55], içki fabrikası atıksuyundan renk ve KOİ giderimi üzerine (KOİ giriş: 11500 mg/L) elektrotlar arası mesafenin etkisini incelemiştir. 10 mm elektrotlar arası mesafede ve 178.5 A/m<sup>2</sup> akım yoğunluğunda sırasıyla %90 KOİ ve %86 renk giderimi elde etmişlerdir.

**Literatür Çalışmalarından Örnekler**

Literatürde, EC prosesi ile tekstil atıksuyundan kirletici giderimi üzerine yapılmış bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir: Koby ve ark. [56], tekstil atıksuyundan kirletici giderimi üzerine yapmış oldukları çalışmada (KOİ giriş: 1940-2060 mg/L, TOK giriş: 450 mg/L) optimum deneysel koşullar altında (akım yoğunluğu: 65 A/m<sup>2</sup>, deneysel süre: 80 dakika) alüminyum elektrotlar için %77 KOİ ve %72 TOK giderimi elde ederken, demir elektrotlar için %85 KOİ ve %76 TOK giderimi elde etmişlerdir. Koby ve ark. [57], tekstil atıksuyundan KOİ ve TOK giderimi üzerine yapmış oldukları çalışmada (KOİ giriş: 2020 mg/L, TOK giriş: 480 mg/L), optimum deneysel koşullar için (Anot: Alüminyum, Katot: Alüminyum, pH: 5.6, Akım yoğunluğu: 52.5 A/m<sup>2</sup>, deneysel süre: 33.9 dakika) %68 KOİ ve %69 TOK giderimi elde ederken (Anot: Demir, Katot: Demir, pH: 5.5, akım yoğunluğu: 63.2 A/m<sup>2</sup>, deneysel süre: 30.4 dakika) %77 KOİ ve %82 TOK giderimi elde etmişlerdir. Tezcan ve Aytac [58], tekstil atıksuyundan yapmış oldukları KOİ giderim çalışmasında (KOİ giriş: 1953 mg/L, Anot: Demir, Katot: Demir, pH: 9.01, akım yoğunluğu: 20 mA/cm<sup>2</sup>) %96.88 KOİ giderimi elde etmişlerdir. Bayramoglu ve ark. [59], yapmış oldukları çalışmada (KOİ giriş: 3422 mg/L, bulanıklık: 5700 NTU) deneysel koşullar (Anot: Alüminyum, Katot: Alüminyum, pH:3, akım yoğunluğu: 200 A/m<sup>2</sup>) %61 KOİ giderimi elde edilirken, %100 bulanıklık giderimi elde ederken, demir elektrot çiftleri kullanarak yaptıkları deneyde ise (Anot: Demir, Katot: Demir, pH: 3, akım yoğunluğu: 200 A/m<sup>2</sup>) %47 KOİ giderimi elde ederken %75 bulanıklık giderimi elde etmişlerdir. Shin ve ark. [60], tekstil atıksuyundan KOİ giderimi için yapmış oldukları çalışmada, (KOİ giriş: 766 mg/L, Anot: Demir, Katot: Demir, akım yoğunluğu: 426 A/m<sup>2</sup>) %81 KOİ giderimi elde etmişlerdir. Cerqueira ve ark. [61], tekstil atıksuyundan EC metodu ile yaptıkları KOİ giderim çalışmasında, optimum koşullar altında (KOİ giriş: 1179-2553 mg/L, Anot: Alüminyum, Katot: Alüminyum, pH giriş: 5, akım yoğunluğu: 1.5 mA/cm<sup>2</sup>, deneysel süre: 30 dakika) %87 KOİ giderimi elde etmişlerdir. Zaroual ve ark. [62], gerçek tekstil atıksularından EC prosesiyle KOİ ve renk giderimi üzerine yaptıkları çalışmada (KOİ: 485 mg/L, BOİ<sub>5</sub>: 80mg/L, klorür: 27,069 mg/L, A<sub>620</sub>: 0.663 cm<sup>-1</sup>, A<sub>525</sub>: 0.415 cm<sup>-1</sup>, A<sub>436</sub>: 0,286 cm<sup>-1</sup>, pH: 10.6, Voltaj: 600 mV, deneysel süre: 3 dakika) %84 KOİ ve %100 renk giderimi elde etmişlerdir. Daneshvar ve ark. [63], asit orange 7 azo boyasından KOİ ve renk giderim çalışmasında, optimum deneysel koşullar altında (pH: 8, akım yoğunluğu: 3.5 mA/cm<sup>2</sup>) %84 KOİ ve %98 renk giderimi elde etmişlerdir. Can ve ark. [64], tekstil atıksuyu ile yaptıkları KOİ giderim çalışmasında (KOİ giriş: 3422 mg/L; TOK: 900 mg/L; iletkenlik: 3.99mS/cm; bulanıklık: 5700 NTU; pH: 6.95) alüminyum elektrotlar için pH: 5.5 ta %60-65 KOİ giderimi elde etmişlerdir. Zongo ve ark. [65], iki adet tekstil endüstrisi atıksuyundan EC prosesiyle yapmış oldukları KOİ giderim çalışmasında (1. Atıksu için: KOİ: 1790 mg/L; bulanıklık: 115 NTU; iletkenlik: 2.8mS/cm; pH: 7; ikinci atıksu için KOİ: 1240 mg/L; bulanıklık: 110 NTU, iletkenlik: 2,4mS/cm; pH: 9, akım yoğunluğu 5-20mA/cm<sup>2</sup>) 1. atıksu için %74, 2. atıksu için %88 KOİ giderimi sağlanmıştır. Bener ve ark. [41], tekstil atıksuyundan optimum deneysel koşullar altında (kullanılan elektrotlar: Al-Al, elektrotlar arası mesafe: 20 mm, akım yoğunluğu: 25mA/cm<sup>2</sup>, pH giriş: 5, deneysel süre: 120 dak) %18.6 KOİ, %83.5 bulanıklık

giderimi elde edilmiştir. Khemila ve ark. [66], tekstil atıksuyundan yaptıkları arıtım sonucunda (kullanılan elektrotlar: Al-Al, elektrotlar arası mesafe: 10 mm, akım yoğunluğu: 10-40 mA/cm<sup>2</sup>, pH giriş: 7) %99 bulanıklık ve %95 renk giderimi elde etmişlerdir. Verma [67], tekstil atıksuyundan KOİ ve renk giderimi üzerine yaptığı çalışmada (kullanılan elektrotlar: Fe-Al, elektrotlar arası mesafe: 30 mm, akım yoğunluğu: 2 mA/cm<sup>2</sup>, pH giriş: 8, deneysel süre: 80 dak) %90 KOİ ve %90 renk giderimi elde etmiştir. Mohamad ve ark. [68], tekstil atıksuyundan yaptıkları kirletici giderim çalışmasında, (kullanılan elektrotlar: Fe, akım yoğunluğu: 75 A/m<sup>2</sup>, deneysel süre: 45 dakika) %55 askıda katı madde, %82 bulanıklık ve %52 KOİ giderimi elde etmişlerdir. Naje ve ark. [69], tekstil atıksuyundan EC-EO prosesleriyle yaptıkları KOİ giderim çalışmasında, (akım: 0.6 A, pH: 6, elektrotlar arası mesafe: 1.0 cm, karıştırma hızı: 500 rpm) %93.5 KOİ, %97 toplam askıda katı madde ve %97.5 renk giderimi elde etmişlerdir. Naje [70], tekstil atıksuyuna EC-EO proseslerini uygulamış ve (akım: 0.6 A, pH: 6, deneysel süre: 90 dakika) %90 KOİ giderimi elde etmişlerdir. De Maman ve ark. [71], EC prosesiyle tekstil atıksuyu arıtım çalışmasında (akım: 0.3 A, deneysel süre:) %80 renk, %91 bulanıklık ve %30 KOİ giderimi elde etmişlerdir.

## **Sonuçlar**

EC, atıksu arıtma sistemlerinde ön arıtma ve arıtma işlemi olarak görev yapabilir. EC süreci, çok çeşitli kirleticileri gidermek için etkilidir ve operasyonel olarak uygundur. Maliyet etkinliği, daha az çamur oluşumu, çevresel uyumluluk ve güvenli süreç, EC sürecinin ek faydalarıdır. EC, diğer arıtma teknikleri ile birleştiğinde, arıtım verimliliğini artırabilir ve tek başına EC ile karşılaştırıldığında operasyon süresinin azaltılmasına yardımcı olur. EC prosesi ile ilgili en büyük problem çamur oluşumudur. Oluşan çamurun inşaat amaçlı özellikle yapı taşı, beton vb. yapımında kullanılmasıyla bu sorun aşılabılır. Kimyasal liç, termal ve diğer işlemler yoluyla EC çamurundan metal geri kazanımı, çamuru yönetebilen diğer bir seçenektir. EC süreçleri sadece pratik olarak uygulanabilir ve çevre dostu teknikler değil, aynı zamanda uygun maliyetli teknolojilerdir. Literatürde bildirilen çalışmaların çoğu, sentetik çözeltiler kullanılarak laboratuvar ölçeğinde gerçekleştirilmiştir. Gerçek endüstriyel atıkların arıtılması için EC kullanma olasılığını araştırmak için gerçek endüstriyel atık kullanarak pilot tesis ölçeğinde elektrokoagülasyon deneyleri yapmak için çaba gösterilmelidir.

***Teşekkür -***

***Fon/Finansman bilgileri -***

***Etik Kurul Onayı ve İzinler*** Çalışma etik kurul izni gerektirmemektedir.

***Çıkar çatışmaları/Çatışan çıkarlar-***

***Yazarların Katkısı-*** Yazar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.



**Kaynaklar**

- [1] Babu, D. S., Anantha Singh, T. S., Nidheesh, P. V., & Kumar, M. S. (2019). Industrial wastewater treatment by electrocoagulation process. *Separation Science and Technology*, 55(17), 3195-3227. <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1671866>
- [2] Hakizimana, J. N., Gourich, B., Chafi, M., Stiriba, Y., Vial, C., Drogui, P., & Naja, J. (2017). Electrocoagulation process in water treatment: A review of electrocoagulation modeling approaches. *Desalination*, 404, 1-21. <http://doi.org/10.1016/j.desal.2016.10.011>
- [3] Khandegar, V., & Saroha, A.K. (2013). Electrocoagulation for the treatment of textile industry effluent — A review. *Journal of Environmental Management*, 128, 949-963. <http://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.06.043>
- [4] Hao, O. J., Kim, H., & Chiang, P. C. (2000). Decolorization of wastewater. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 30(4), 449-505. <https://doi.org/10.1080/10643380091184237>
- [5] Samsunlu, A. (2011). *Atık Suların Arıtılması*. Birsen Yayınevi, İstanbul.
- [6] Wang, J. P., Chen, Y. Z., Ge, X. W., & Yu, H. Q. (2007). Optimization of coagulation-flocculation process for a paper-recycling wastewater treatment using response surface methodology. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 302(1-3), 204-210. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.02.023>
- [7] Lin, J., Couperthwaite, S. J., & Millar, G. J. (2017). Effectiveness of aluminium based coagulants for pre-treatment of coal seam water. *Separation and Purification Technology*, 177, 207-222. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.010>
- [8] Jiang, J. Q., Graham, N., André, C., Kelsall, G. H., & Brandon, N. (2002). Laboratory study of electro-coagulation-flotation for water treatment. *Water Research*, 36(16), 4064-4078. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00118-5)
- [9] Dotto, J., Fagundes-Klen, M. R., Veit, M. T., Palácio, S. M., & Bergamasco, R. (2019). Performance of different coagulants in the coagulation/flocculation process of textile wastewater. *Journal of Cleaner Production*, 208, 656-665. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.112>
- [10] Chawaloeshonsiya, N., Guiraud, P., & Painmanakul, P. (2018). Analysis of cutting-oil emulsion destabilization by aluminum sulphate. *Environmental Technology*, 39(11), 1450-1460. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1332101>
- [11] Amuda, O. S., & Amoo, I. A. (2007). Coagulation/flocculation process and sludge conditioning in beverage industrial wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 141(3), 778-783. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.044>
- [12] Mahdavi, M., Amin, M. M., Hajizadeh, Y., Farrokhzadeh, H., & Ebrahimi, A. (2017). Removal of different NOM fractions from spent filter backwash water by polyaluminum ferric chloride and ferric chloride. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 42, 1497-1504. <https://doi.org/10.1007/s13369-016-2364-3>
- [13] Georgiou, D., Aivazidis, A., Hatiras, J., & Gimouhopoulos, K. (2003). Treatment of cotton textile wastewater using lime and ferrous sulfate. *Water Research*, 37(9), 2248-2250. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00481-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00481-5)

- [14] Atari, L., Esmaeili, S., Zahedi, A., Mohammadi, M. J., Zahedi, A., & Babaei, A. A. (2019). Removal of heavy metals by conventional water treatment plants using poly aluminum chloride. *Toxin Reviews*, 38(2), 127-134. <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1431676>
- [15] Liang, Y. L., Kraus, T. E. C., Silva, L. C. R., Bachand, P. A. M., Bachand, S. M., Doane, T. A., & Horwath, W. R. (2019). Effects of ferric sulfate and polyaluminum chloride coagulation enhanced treatment wetlands on Typha growth, soil and water chemistry. *Science of The Total Environment*, 648, 116-124. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.341>
- [16] Moussa, D. T., El-Naas, M. H., Nasser, M., & Al-Marri, M. J. (2017). A comprehensive review of electrocoagulation for water treatment: Potentials and challenges. *Journal of Environmental Management*, 186, 24-41. <http://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.032>
- [17] Barrera-Díaz, C., Frontana-Uribe, B., & Bilyeu, B. (2014). Removal of organic pollutants in industrial wastewater with an integrated system of copper electrocoagulation and electrogenerated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Chemosphere*, 105, 160-164. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.026>
- [18] Kong, F., Lin, X., Sun, G., Chen, J., Guo, C., & Xie, Y. F. (2019). Enhanced organic removal for shale gas fracturing flowback water by electrocoagulation and simultaneous electro-peroxone process. *Chemosphere*, 218, 252-258. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.055>
- [19] Gong, C., Shen, G., Huang, H., He, P., Zhang, Z., & Ma, B. (2017). Removal and transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons during electrocoagulation treatment of an industrial wastewater. *Chemosphere*, 168, 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.044>
- [20] Nidheesh, P. V., & Singh, T. S. (2017). Arsenic removal by electrocoagulation process: Recent trends and removal mechanism. *Chemosphere*, 181, 418-432. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.082>
- [21] Aoudj, S., Khelifa, A., & Drouiche, N. (2017). Removal of fluoride, SDS, ammonia and turbidity from semiconductor wastewater by combined electrocoagulation—electroflotation. *Chemosphere*, 180, 379-387. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.045>
- [22] Ghernaout, D., Naceur, M. W., & Ghernaout, B. (2011). A review of electrocoagulation as a promising coagulation process for improved organic and inorganic matters removal by electrophoresis and electroflotation. *Desalination and Water Treatment*, 28(1-3), 287-320. <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.1493>
- [23] Vepsäläinen, M., Kivisaari, H., Pulliainen, M., Oikari, A., & Sillanpää, M. (2011). Removal of toxic pollutants from pulp mill effluents by electrocoagulation. *Separation and Purification Technology*, 81(2), 141-150. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.07.017>
- [24] Ghernaout, D., Touahmia, M., & Aichouni, M. (2019). Disinfecting water: Electrocoagulation as an efficient process. *Applied Engineering*, 3(1), 1-12. doi: 10.11648/j.ae.20190301.11
- [25] Heffron, J., Ryan, D. R., & Mayer, B. K. (2019). Sequential electrocoagulation-electrooxidation for virus mitigation in drinking water. *Water Research*, 160, 435-444. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.078>
- [26] Omwene, P. I., & Kobya, M. (2018). Treatment of domestic wastewater phosphate by electrocoagulation using Fe and Al electrodes: A comparative study. *Process Safety and Environmental Protection*, 116, 34-51. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.01.005>

- [27] Sharma, A. K., & Chopra, A. K. (2017). Removal of nitrate and sulphate from biologically treated municipal wastewater by electrocoagulation. *Applied Water Science*, 7, 1239-1246. <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0320-0>
- [28] Omwene, P. I., Kobya, M., & Can, O. T. (2018). Phosphorus removal from domestic wastewater in electrocoagulation reactor using aluminum and iron plate hybrid anodes. *Ecological Engineering*, 123, 65-73. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.08.025>
- [29] Elazzouzi, M., Haboubi, Kh., & Elyoubi, M. S. (2017). Electrocoagulation flocculation as a low cost process for pollutants removal from urban wastewater. *Chemical Engineering Research and Design*, 117, 614-626. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2016.11.011>
- [30] Hamdan, S. S., & El-Naas, M. H. (2014). An electrocoagulation column (ECC) for groundwater purification. *Journal of Water Process Engineering*, 4, 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2014.08.004>
- [31] Demirbas, E., Kobya, M., Oncel, M. S., Şık, E., & Goren, A. Y. (2019). Arsenite removal from groundwater in a batch electrocoagulation process: Optimization through response surface methodology. *Separation Science and Technology*, 54(5), 775-785. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1521834>
- [32] Sandoval, M. A., Fuentes, R., Nava, J. L., Coreño, O., Li, Y., & Hernández, J. H. (2019). Simultaneous removal of fluoride and arsenic from groundwater by electrocoagulation using a filter-press flow reactor with a three-cell stack. *Separation and Purification Technology*, 208, 208-216. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.02.018>
- [33] Timmes, T. C., Kim, H. C., & Dempsey, B. A. (2010). Electrocoagulation pretreatment of seawater prior to ultrafiltration: Pilot-scale applications for military water purification systems. *Desalination*, 250(1), 6-13. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.03.021>
- [34] Zhang, X., Lu, M., Idrus, M. A. M., Crombie, C., & Jegatheesan, V. (2019). Performance of precipitation and electrocoagulation as pretreatment of silica removal in brackish water and seawater. *Process Safety and Environmental Protection*, 126, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.03.024>
- [35] Kabdaşlı, I., Arslan-Alaton, I., Ölmez-Hancı, T., & Tünay, O. (2012). Electrocoagulation applications for industrial wastewaters: a critical review. *Environmental Technology Reviews*, 1(1), 2-45. <https://doi.org/10.1080/21622515.2012.715390>
- [36] Yavuz, Y., & Ögütveren, Ü. B. (2018). Treatment of industrial estate wastewater by the application of electrocoagulation process using iron electrodes. *Journal of Environmental Management*, 207, 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.034>
- [37] Krystynik, P., Masin, P., Krusinova, Z., & Kluson, P. (2019). Application of electrocoagulation for removal of toxic metals from industrial effluents. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, 4167-4172. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2074-3>
- [38] Verma, S. K., Khandegar, V., & Saroha, A. K. (2013). Removal of chromium from electroplating industry effluent using electrocoagulation. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, 17, 146-152. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)HZ.2153-5515.0000170](https://doi.org/10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000170)
- [39] Daneshvar, N., Oladegaragoze, A., & Djafarzadeh, N. (2006). Decolorization of basic dye solutions by electrocoagulation: An investigation of the effect of operational parameters. *Journal of Hazardous Materials*, 129(1-3), 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.08.033>

- [40] Yıldız, Y. Ş., Koparal, A. S., & Keskinler, B. (2008). Effect of initial pH and supporting electrolyte on the treatment of water containing high concentration oh humic substances by electrocoagulation. *Chemical Engineering Journal*, 138(1-3), 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.05.029>
- [41] Bener, S., Bulca, Ö., Palas, B., Tekin, G., Atalay, S., & Ersöz, G. (2019). Electrocoagulation process for the treatment of real textile wastewater: Effect of operative conditions on the organic carbon removal and kinetic study. *Process Safety and Environmental Protection*, 129, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.06.010>
- [42] Demirbas, E., & Kobya, M. (2017). Operating cost and treatment of metalworking fluid wastewater by chemical coagulation and electrocoagulation processes. *Process Safety and Environmental Protection*, 105, 79-90. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2016.10.013>
- [43] Das, P. P., Sharma, M., & Purkait, M. K. (2022). Recent progress on electrocoagulation process for wastewater treatment: A review. *Separation and Purification Technology*, 292, 121058. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.121058>
- [44] Ghosh, D., Solanki, H., & Purkait, M. K. (2008). Removal of Fe(II) from tap water by electrocoagulation technique. *Journal of Hazardous Materials*, 155(1-2), 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.042>
- [45] Larue, O., Vorobiev, E., Vu, C., & Durand, B. (2003). Electrocoagulation and coagulation by iron of latex particles in aqueous suspensions. *Separation and Purification Technology*, 31(2), 177-192. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(02\)00182-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(02)00182-X)
- [46] Tahreen, A., Jami, M. S., & Ali, F. (2020). Role of electrocoagulation in wastewater treatment: A developmental review. *Journal of Water Process Engineering*, 37, 101440. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101440>
- [47] Chen, X., Ren, P., Li, T., Tremblay, J. P., & Liu, X. (2018). Zinc removal from model wastewater by electrocoagulation: Processing, kinetics and mechanism. *Chemical Engineering Journal*, 349, 358-367. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.05.099>
- [48] Changmai, M., Pasawan, M., & Purkait, M. K. (2019). Treatment of oily wastewater from drilling site using electrocoagulation followed by microfiltration. *Separation and Purification Technology*, 210, 463-472. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.08.007>
- [49] Rahman, N. A., Tomiran, N. A., & Hashim, A. H. (2020). Batch electrocoagulation treatment of peat water in Sarawak with galvanized iron electrodes. *Materials Science Forum*, 997, 127-138. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.997.127>
- [50] Daneshvar, N., Sorkhabi, H. A., & Kasiri, M. B. (2004). Decolorization of dye solution containing Acid Red 14 by electrocoagulation with a comparative investigation of different electrode connections. *Journal of Hazardous Materials*, 112(1-2), 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.03.021>
- [51] Tirado, L., Gökkuş, Ö., Brillas, E., & Sirés, I. (2018). Treatment of cheese whey wastewater by combined electrochemical processes. *Journal of Applied Electrochemistry*, 48, 1307-1319. <https://doi.org/10.1007/s10800-018-1218-y>
- [52] Sahu, O., Mazumdar, B., & Chaudhari, P. K. (2014). Treatment of wastewater by electrocoagulation: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 2397-2413. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2208-6>

- [53] Nawarkar, C. J., & Salkar, V. D. (2019). Solar powered electrocoagulation system for municipal wastewater treatment. *Fuel*, 237, 222-226. <https://doi.org/j.fuel.2018.09.140>
- [54] Lakshimi, P. M., & Sivashanmugam, P. (2013). Treatment of oil tanning effluent by electrocoagulation: Influence of ultrasound and hybride electrode on COD removal. *Separation and Purification Technology*, 116, 378-384. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.05.026>
- [55] Prajapati, A. K., Chaudhari, P. K., Pal, D., Chandrakar, A., & Choudhary, R. (2016). Electrocoagulation treatment of rice grain based distillery effluent using copper electrode. *Journal of Water Process Engineering*, 11, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2016.03.008>
- [56] Kobya, M., Gengec, E., & Demirbas, E. (2016). Operating parameters and costs assessments of a real dyehouse wastewater effluent treated by a continuous electrocoagulation process. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 101, 87-100. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2015.11.012>
- [57] Kobya, M., Gengec, E., Sensoy, M. T., & Demirbas, E. (2014). Treatment of textile dyeing wastewater by electrocoagulation using Fe and Al electrodes: optimisation of operating parameters using central composite design. *Colorization Technology*, 130, 226-235. <https://doi.org/10.1111/cote.12090>
- [58] Tezcan, U. U., & Aytac, E. (2013). Electrocoagulation in a packed bed reactor-complete treatment of color and cod from real textile wastewater. *Journal of Environmental Management*, 123, 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.03.016>
- [59] Bayramoglu, M., Kobya, M., Can, O. T., & Sozbir, M. (2004). Operating cost analysis of electrocoagulation of textile dye wastewater. *Separation and Purification Technology*, 37(2), 117-125. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2003.09.002>
- [60] Shin, S. H., Kim, Y. H., Jung, S. K., Suh, K. H., Kang, S. G., Jeong, S. K., & Kim, H. G. (2004). Combined performance of electrocoagulation and magnetic separation processes for treatment of dye wastewater. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 21, 806-810. <https://doi.org/10.1007/BF02705524>
- [61] Cerqueira, A., Russo, C., & Marques, M. R. C. (2009). Electroflocculation for textile wastewater treatment. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 26(4), 659-668. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322009000400004>
- [62] Zaroual, Z., Azzi, M., Saib, N., & Chainet, E. (2006). Contribution to the study of electrocoagulation mechanism in basic textile effluent. *Journal of Hazardous Materials*, 131, (1-3), 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.09.021>
- [63] Daneshvar, N., Ashassi-Sorkhabi, H., & Tizpar, A. (2003). Decolorization of orange II by electrocoagulation method. *Separation and Purification Technology*, 31(2), 153-162. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(02\)00178-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(02)00178-8)
- [64] Can, O. T., Kobya, M., Demirbas, E., & Bayramoglu, M. (2006). Treatment of the textile wastewater by combined electrocoagulation. *Chemosphere*, 62(2), 181-187. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.05.022>
- [65] Zongo, I., Maiga, A. H., Wéthé, J., Valentin, G., Leclerc, J. P., Paternotte, G., & Lapique, F. (2009). Electrocoagulation fort he treatment of textile wastewaters with Al or Fe electrodes: Compared variations of COD levels, turbidity and absorbance. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.072>

- [66] Khemila, B., Merzouk, B., Chouder, A., Zidelkhir, R., Leclerc, J. P., & Lopicque, F. (2018). Removal of a textile dye using photovoltaic electrocoagulation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 7, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2017.11.004>
- [67] Verma, A. K. (2017). Treatment of textile wastewaters by electrocoagulation employing Fe-Al composite electrode. *Journal of Water Process Engineering*, 20, 168-172. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.11.001>
- [68] Mohamad, H. A. E. D., Hemdan, M., Eldin Bastawissi, A. A., Bastawissi, A. E. M., Panchal, H., & Sadasivuni, K. K. (2021). Industrial wastewater treatment by electrocoagulation powered by a solar photovoltaic system. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, <https://doi.org/10.1080/15567036.2021.1950870>
- [69] Naje, A. S., Chelliapan, S., Zakaria, Z., & Abbas, S. A. (2015). Enhancement of an electrocoagulation process for the treatment of textile wastewater under combined electrical connections using titanium plates. *International Journal of Electrochemical Science*, 10, 4495-4512.
- [70] Naje, A. S. (2013). Combination of electrocoagulation and electro-oxidation processes of textile wastewaters treatment. *Civil and Environmental Research*, 3(13), 61-74.
- [71] De Maman, R., da Luz, V. C., Behling, L., Dervanoski, A., Rosa, C. D., & Pasquali, G. D. L. (2022). Electrocoagulation applied for textile wastewater oxidation using iron slag as electrodes. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 31713-31722. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18456-5>