



Yıl/Year: 2015

Cilt/Volume: 4

Sayı/Number: 2

TÜRK DOĞA VE

FEN DERGİSİ

Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
tarafından yayımlanmaktadır

Published by Institute of Science of Bingöl
University

*TURKISH JOURNAL
OF NATURE AND
SCIENCE*

ISSN: 2149-6366

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



TÜRK DOĞA VE FEN

DERGİSİ

Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından yayımlanmaktadır

Published by Institute of Science of Bingol University

Turkish Journal of Nature and Science



Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Adına Sahibi
Owner on behalf of Institute of Science of Bingöl University

Doç. Dr. İbrahim Yasin ERDOĞAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Director of Institute of Science

Editör/Editor

Yrd. Doç. Dr. Özgür ÖZGÜN

Yazışma Adresi/Correspondence Adress

Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
12000 Bingöl
Tel/Phone: +90 (426) 215 00 72
Faks/Fax: +90 (426) 216 00 34

Yayın Türü/Publication Type

Bilimsel Dergi
Scientific Journal

DANIŞMA KURULU/ADVISORY BOARD

Prof. Dr. Ali Sayıl ERDOĞAN
Prof. Dr. Erkan BOYDAK
Prof. Dr. Fahrettin YAKUPHANOĞLU
Prof. Dr. Fehim FINDIK
Prof. Dr. Hüsamettin BULUT
Prof. Dr. İbrahim TÜRKOĞLU
Prof. Dr. İskender DEMİRKOL
Prof. Dr. Latif KELEBEKLİ
Prof. Dr. Lütüf BEHÇET
Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ
Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU
Prof. Dr. Orhan KURT
Prof. Dr. Turgay ŞENGÜL
Prof. Dr. Yusuf ZEREN
Doç. Dr. Abdullah MART
Doç. Dr. Ahmet ÇETİN
Doç. Dr. Alaaddin YÜKSEL
Doç. Dr. Ali Rıza DEMİRKIRAN
Doç. Dr. Asım KAYGUSUZ
Doç. Dr. Bekir BÜKÜN
Doç. Dr. Ecevit EYİDURAN
Doç. Dr. Hamit Özkan GÜLSOY
Doç. Dr. Hasan KILIÇ
Doç. Dr. Hisamettin DURMAZ
Doç. Dr. Hüseyin VAPUR

Bingöl Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Fırat Üniversitesi
Sakarya Üniversitesi
Harran Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Ordu Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Mersin Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
İnönü Üniversitesi
Harran Üniversitesi
Iğdır Üniversitesi
Marmara Üniversitesi
Bingöl Üniversitesi
Harran Üniversitesi
Çukurova Üniversitesi

Doç. Dr. İbrahim Yasin ERDOĞAN	Bingöl Üniversitesi
Doç. Dr. İlkey ŞİŞMAN	Sakarya Üniversitesi
Doç. Dr. Kağan KÖKTEN	Bingöl Üniversitesi
Doç. Dr. Murat SOYLU	Bingöl Üniversitesi
Doç. Dr. Mustafa KOYUN	Bingöl Üniversitesi
Doç. Dr. Mustafa YAZGAN	İstanbul Teknik Üniversitesi
Doç. Dr. Muttalip ÇİÇEK	Dicle Üniversitesi
Doç. Dr. Nezir YILDIRIM	Bingöl Üniversitesi
Doç. Dr. Orhan YILMAZ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Doç. Dr. Ramazan MERAL	Bingöl Üniversitesi
Doç. Dr. Ramazan SOLMAZ	Bingöl Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. Halil ŞİMŞEK	Bingöl Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. Mücahit PAKSOY	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. Ömer AKGÖBEK	Harran Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. Özgür ÖZGÜN	Bingöl Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. Sabri YURTSEVEN	Harran Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. Tahir AKGÜL	Sakarya Üniversitesi

TEŞEKKÜR/ACKNOWLEDGEMENT

Bu sayıda yer alan çalışmaların yazarlarına ve değerli zamanlarını ayırarak görüş ve önerileri ile katkıda bulunan hakemlerimize teşekkür eder, saygılar sunarız.



Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



İÇİNDEKİLER/CONTENTS

The various biological activities of Rheum ribes extract on different types of cell Musa Tartik, Ekrem Darendelioglu, Gurkan Aykutoglu, Giyasettin Baydas	1
Ekonomik bir yöntemle hazırlanan tek faz α-Fe₂O₃ ve γ-Fe₂O₃ nanopartiküllerinin karakterizasyonu ve elektrokimyasal biyosensör uygulaması Güllüzar Demir, İbrahim Y. Erdoğan	8
Yüksek gerilim izolatörlerinde yüzey kaçak akımlarının ANFIS yöntemiyle hesaplanması Ersin Turan, Muhsin Tunay Gençoğlu, Abdulkerim Karabiber	16
An investigation of microstructure of the worn surfaces on drum in brake systems Muzaffer Erdoğan, İbrahim Yavuz, Ali Erçetin	21
Composition and antioxidant capacity of the essential oils of <i>Alyssum pateri</i> Nyár subsp. <i>prostratum</i> (Nyár) Dudley (Brassicaceae) Mehmet Kadir Erdogan, İbrahim Halil Geçibesler, Lütfi Behçet	25
Ekmeçlik buğday genotiplerinde erken kuraklığa dayanıklılığın ölçütü olarak fide kalımı Sinan Bayram, Ali Öztürk, Murat Aydın	30
Resveratrol attenuates diabetic nephropathy by modulating organic transporters and heat shock proteins in streptozotocin-induced diabetic rats Oguzhan Ozdemir, Zeynep Tuzcu	36
Erzurum ve çevresinde yetiştirilen bazı domates çeşitlerinin (<i>Lycopersicon esculentum</i>) besinsel bileşimi İhsan Güngör Şat, Nurhan Turhan	44
<i>In vitro</i> antioxidant activities of various solvent extracts from <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> Mehmet Kadir Erdogan, Giyasettin Baydas	49
Yapay zekâ tekniklerinin inşaat mühendisliği problemlerinde kullanılması üzerine bir çalışma Mehrşad Mohabbi Yadollahi, Ahmet Benli	55
Döküm endüstrisinde kurumsal kaynak planlama yazılımlarının kullanımının değerlendirilmesi Didem Gülyüz Çilingir, Murat Çolak	60
Hayvansal ürünlerde dioksinler Alper Baran, Ahmet Erdoğan	66



The various biological activities of *Rheum ribes* extract on different types of cell

Musa Tartik¹, Ekrem Darendelioglu¹, Gurkan Aykutoglu¹, Giyasettin Baydas*²

Abstract

The worldwide acceptance to use traditional herbs for medicinal remedies is a common event in recent times. Herbal plants have positive benefits rather than the side effects of marketing drugs. Therefore, numerous traditional plants are used to prevent various types of cancer, diabetes and viral diseases. These findings provided an attention in herbal medicine to discover rational and natural drugs and isolate biologically active compounds.

Rheum ribes (*R. ribes*) is most popular herbal plant to obtain raw drug materials. Its fresh stems, leaves and petioles are commonly consumed as crude drugs in Asian countries. This study was designed to examine the biological activities of ethanol extract of *Rheum ribes* root (EERR) such as antioxidant activity on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), anticancer effectiveness in prostate cancer cells (PC3) and antimicrobial activity against several microorganisms. Moreover, the some active chemical compounds were determined in EERR.

The purpose of the present study was planned to evaluate the activity of EERR on the induction of oxidative cell injury in PC3 and HUVECs. Treatment of HUVECs with EERR decreased hydrogen peroxide (H₂O₂) induced reactive oxygen species (ROS) overproduction and lipid peroxidation (LPO) levels. Furthermore, EERR caused an increase on productions of ROS and malondialdehyde (MDA) in PC3 cells and significantly decreased cell viability. Besides, the antibacterial and antifungal analysis showed that EERR is active against *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. It was concluded that EERR has both pro-oxidant ability against PC3 cells and antioxidant activity on HUVECs.

Keywords: HUVECs; LPO; PC3; *Rheum ribes*; ROS

Rheum ribes ekstraktının farklı hücre tipleri üzerindeki biyolojik etkileri

Özet

Son yıllarda, geleneksel olarak kullanılan şifalı bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı bütün dünya tarafından kabul görmektedir. Bu tür bitkiler piyasadaki çok sayıda ilacın yan etkilerine rağmen birçok pozitif etkiye sahiptirler. Bu yüzden sayısız şifalı bitki; diyabet, çeşitli kanser türleri ve viral hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu bulgular, birçok araştırmacının dikkatini şifalı bitkilere yönelterek, doğal ve oranlı ilaçlar keşfetmeye teşvik etmiştir.

Rheum ribes (ışkın) da bu şifalı bitkilerden olup, ham maddeleri tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Anadolu ve Asya'nın çeşitli ülkelerinde gövdesi, yaprakları ve sapları taze ya da pişirilmiş olarak tüketilmektedir. Bu çalışma *Rheum ribes* kök etanol ekstraktının (EERR) biyolojik aktivitelerini belirlemek için tasarlanmıştır. Bu çalışmada insan umbilikal ven endotel hücresi (HUVEC)'te antioksidan, prostat kanser hücresi (PC3)'de anti-kanser etkisi ve bazı mikroorganizmalarda ise antimikrobiyal aktivitesine bakıldı. Ayrıca ekstraktın içindeki 4 farklı aktif fitokimyasalın miktarında belirlendi.

Bu çalışmanın amacı; oksidatif stres açısından indüklenmiş HUVEC ve PC3 hücrelerinde EERR'in aktivitesini değerlendirmektir. Alınan sonuçlara göre, hidrojen peroksit (H₂O₂) ile indüklenmiş HUVEC'ler EERR ile muamele edildiğinde, hücrelerde artmış olan reaktif oksijen türleri (ROS) ve lipid peroksidasyonu (LPO) seviyelerini düşürdüğü görüldü. Ayrıca aynı dozların PC3 hücrelerinde ise ROS ve LPO'yu artırdığı ve buna bağlı olarak hücre canlılığını düşürdüğü gösterildi. Diğer taraftan, EERR'in *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* organizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirlendi. Bunlara ek olarak, EERR'in içinde; chrysin, narinegenin ve quercetin'in varlığı ve miktarları tespit edildi. Sonuç olarak, EERR'in PC3 hücrelerinde pro-oksidant bir etki ile hücreyi öldürdüğü, ama HUVEC'lerde ise antioksidan bir ajan olarak hücreyi koruduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: HUVECs; LPO; PC3; *Rheum ribes*; ROS

Abbreviations: Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE); Human Umbilical Vein Endothelial Cell (HUVEC); Hydrogen Peroxide (H₂O₂); Lipid Peroxidation (LPO); Malondialdehyde (MDA); luria broth (LB); Microgram/mililitre (µg/ ml); Micromolar (µM); Nitric Oxide (NO); Reactive Oxygen Species (ROS); Prostate Cancer Cells (PC-3 cells); Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS); Water Soluble Tetrazolium-1 (WST-1); yeast extract peptone dextrose (YPD); Ethanol Extract of *Rheum Ribes* Root (EERR).

¹ Bingöl University, Faculty of Science and Literature, Department of Molecular Biology and Genetics, 12000 Bingöl, Turkey

² Bingöl University Rectorate, Bingöl University, 12000 Bingöl, Turkey

* Corresponding author E-mail: baydas@hotmail.com; Tel.: (+90) (426) 216-0001 (3400); Fax: (+90) (426) 215-1020

1. Introduction

Treatment of chronic infectious and several hard-curable diseases such as cancer, diabetes and Alzheimer with available drugs are inadequate to present consistent solutions in modern medicine remedies. In addition, increasing studies revealing the side effects of marketing drugs being chemically produced [1–3] and also the resistance that many pathogenic microorganisms improve against commercial antibiotics [4,5]. Recently, these findings provided an attention in herbal medicine to discover the basis for rational drug of natural origin and isolate biologically active compounds to treat diseases. In fact that, nature has a balance of doses that is crucial to be alive. The importance of dose was expressed many years ago by Paracelsus "All things are poison and nothing is without poison; only the dose makes a thing not a poison." [6]

In recent years, there is a common worldwide acceptance to use traditional herbs that have been preferred since ancient times as a medicinal drug. Herbal plants have positive benefits such as easier accessibility and lower side effects to control and prevent various types of cancer, diabetes and viral diseases [7]. Therefore, there are a number of singly prepared or combined herbal drugs to use for medicinal remedies [8,9].

Rheum species from *Polygonaceae* family are also important herbal plants to be used in pharmacological research. Especially, *Rheum ribes* (*R. ribes*) is most popular one to obtain the raw materials of crude drugs in Asian countries [10]. Its fresh stems, leaves and petioles are commonly consumed as a raw and cooked vegetable in Lebanon, Iran and eastern Turkey [11]. *R. ribes* is locally named as "iskim, rhurbarb, rivas and ribes" in daily languages.

R. ribes is a wild perennial vegetable species growing in sub regions of North and Central Asia. Its wild forms mostly found between 1800 and 2800 altitude rocky countryside of Iran and Anatolia. Additionally, *R. ribes* is the only *Rheum* specie geographically adapting in Turkey [12]. Moreover, it can compatible with extreme dark, arid and very clayish acidic or alkaline soils conditions and also stay alive at freezing cold weather [13].

Conventionally, *R. Ribes* has been used as a diuretic remedy for urinary inflammation in Turkey [14] but also eaten as soothing food and mood modifier in Iran [15]. It has been also consumed for hypertension, obesity, haemorrhoids and stomachic problems [16]. Furthermore, the numerous of studies have shown various biological effects of *R. ribes* root, stem, leaf, seed and flower in different solvent fractions. Its root, stalk, leaves and seed extracts have exhibited significant antimicrobial activities against clinical gram negative pathogens and *Bacillus subtilis* and *Enterobacter aerogenes* [17,18]. Besides that, antiviral activity of *R. ribes* were tested and resulted in high activity against Herpes simplex virus [19]. *Trichomonas vaginalis* is a pathogenic bacteria causing Trichomoniasis that is the most common sexually transmitted diseases in woman. Recently bacteria have built up drug resistance, so looking for new effective remedies. The study of Naemi et al. [20] demonstrated that the flower extract of *R. ribes* can be used as an anti-trichomonas agent by human [20].

Processed *R. ribes* root can control blood glucose level in diabetic patients by significant reduction [21,22]. In addition, Uyar et al. [23] displayed that its ethyl acetate fraction has an antioxidant capability and cytotoxic properties against HL-60 cells [23]. *R.ribes* is also strong antioxidant to decrease oxidative damage [24]. Pyrocatechol and quercetin [22] are potential antioxidants which provide important phenolic constituents in ethanol extract of *Rheum ribes* root (EERR) [25].

The objective of present study was planned to evaluate the activity of EERR on the induction of oxidative cell injury in prostate cancer cells (PC3) and human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), therefore, changes in lipid peroxidation (LPO) and reactive oxygen species (ROS) generation were measured and the survival rate of treated-PC3 was determined to investigate anticancer activity. Moreover, EERR induced DNA fragmentation was detected to examine the relation of its cytotoxicity with apoptosis. In addition to that, EERR was phytochemically studied by HPLC-MS/MS (Exactive Plus mass spectrometer) to determine the correlation of antitumor activity with the active compounds. It was also aimed to evaluate antifungal and antibacterial activity of EERR to examine various biological properties of plant.

2. Experimental Procedures

2.1. Materials

Trichloro acetic acid (TCA) (PubChem CID:6421), 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate (PubChem CID:53705683), tris (PubChem CID:6503), sodium chloride (PubChem CID:5234), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (PubChem CID:6049), 2-thiobarbituric acid (TBA) (PubChem CID:2723628) and malondialdehyde bis (PubChem CID:67147) were purchased from Merck Company (Germany).

2.2. Preparation of Extract

R. ribes was collected from the rocky countryside of Karliova, Bingol, Turkey. The 6 g of *R. ribes* root was extracted with 150 ml ethanol by shaking and extraction at room temperature. Then, EERR were filtered with Whatman No. 1 filter paper. The filtrates were evaporated with vacuum incubator and later then the prepared ethanol extract was stored under a dry condition.

2.3. Cell Culture

PC3 were used to assess the anticancer effect of EERR on PC3 cells. Cells were purchased from American Type Culture Collection (ATCC, USA). Cells were cultured in RPMI 1640 complete media containing 10 % fetal bovine serum and 1 % penicilin (1000 IU/ml)-streptomycin (10 g/ml) solution in humidified 5 % CO₂ incubator. Cells were subcultured every two days and used between 5-7 passages. HUVECs were supplied by Eskişehir Anatolia University, Plant Drug and Scientific Research Center. Cells were cultured in endothelial growth media containing growth supplements, fetal bovine serum, human fibroblast growth factor (hFGF), human epithelial growth factor (hEGF), hydrocortisone, gentamicin-amphotericin-B, vascular endothelial growth factor (VEGF) and ascorbic acid (Lonza, USA). Cells were grown in humidified incubator with 5 % CO₂ and used at 5-10 passages.

2.4. Cell Cytotoxicity Assay

The effects of EERR on PC3 cell cytotoxicity were monitored using WST-1 cell proliferation assay kit (Clontech Laboratories, USA). PC-3 cells were pre-cultured, and 5x10³ of harvested cells were seeded in 96-well plate. Cells were treated with various dose of EERR; 60, 125, 250, 500 and 1000 µg/ml. Later, 5 µl of WST-1 reagent was added to each well and then 4h incubation, absorbance was measured for each well at 450 nm (reference: 630 nm) by Spectra Max Plus 384 Microplate Reader (Molecular

Devices, USA). The EERR spectrum was blanked to the samples.

2.4.1. Experimental Grouping

PC3 cells were divided into two groups. In control group, cells were treated with just complete growth media. In EERR group, cells were treated with two of best cytotoxic doses (500 and 1000 µg/ml) of EERR that were determined in cell cytotoxicity assay. Then two groups were cultured in complete media for 24h.

HUVECs were divided into four groups. There was no agent in control group. 400 µM H₂O₂ (oxidative stress inducing agent) [26] was used in positive control group. In EERR group, cells were incubated with 400 µM H₂O₂ and 500, 1000 µg/ml ethanol extract of *R. ribes* root for 24h.

2.5. Reactive Oxygen Species Assay

ROS generation was measured using 2', 7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA). PC-3 cells were treated as in experimental grouping part (2.4.1). 5 µM of DCFH-DA was added to 1x 10⁶ cells for each group. Then, cells were incubated at 37 °C for one hour. Fluorescence intensity of each group was measured with a spectrofluorometer (Perkin-Elmer LS-55, USA) using excitation and emission wavelengths of 485 nm and 525 nm. Fluorescence intensity was expressed as relative fluorescence unit for each sample [27].

ROS was measured in HUVECs using same method as in PC3 cells. HUVECs cells were treated as in experimental grouping part (2.4.1).

2.6. Lipid Peroxidation Assay

LPO levels for experimental groups (2.4.1) were assayed by measuring the amount of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) formed from malondialdehyde (MDA) resulted from lipid peroxidation reactions. Cells were harvested and centrifuged at 2500 rpm for 2 minutes. After that, 250 µl trichloroacetic acid (70% w/v) and 1 mL of thiobarbituric acid (0.8% w/v) were added to cells and incubated at 95 °C for 30 minutes in boiling water bath. Later, cells cooled on ice for 5 minutes and centrifuged at 15000 rpm for 10 minutes. The supernatants were taken and measured at 532 nm in 96-well plate by Spectra Max Plus 384 Microplate Reader (Molecular Devices, USA). Malondialdehyde bis was used as a standard. MDA levels was calculated and expressed as µM for each sample [28]. LPO assayed in HUVECs using same method as in PC3 cells. HUVECs cells were treated as in experimental grouping part (2.4.1).

2.7. DNA Fragmentation Assay

DNA fragmentation was observed by agarose gel electrophoresis. PC3 cells were cultured and treated as stated in experimental grouping part (2.4.1). After treatment, the cells were centrifuged and washed in PBS. The kit extraction protocol (G-Dex, Belgium) was taken as a guide to isolate DNA. The fragmentation of nucleosomal DNA was analyzed by running on 1.5% agarose gel in Tris-Acetate-EDTA (TAE) with Ethidium Bromide. The DNA bands were imaged using a GelDoc EZ (Bio Rad, USA).

2.8. The Exactive Plus Mass Spectrometer (HPLC-MS/MS) Analysis

The 1000 ppm stock solution of phenolics compounds; caffeic acid phenethyl ester (CAPE), quercetin, chrysin and

naringenin were prepared in methanol. The calculated volumes of each standard stock solution were taken to prepare a 10 ppm mix solution. Then it was diluted to derive 0.050, 0.100, 0.250, 0.500 and 1.000 ppb concentrations. Calibration curve of each phenolic compounds were plotted with regard to their various concentration volumes. Hypersil gold column (50×4.6 mm, 1.9 µm particle size) was preferred in chromatographic separation (Thermo Fisher Scientific). (A) Aquatic phase with 1% formic acid and (B) acetonitrile with 1% formic acid were mobile phases of experimental part. During that process, the multi-step gradient mobile phase flowed with 0.3 ml/min rate and 20 µL from each sample was injected. The multi-step gradient programme was followed as 0.0 –1.0 min, 65-70% B; 1.0–3.0 min, 70-85% B; 3.0–5.0 min, 85–90% B; 5.0–8.0 min, 85-90; 8.0-10.0 min 95% B.

The Exactive plus orbitrap was used as mass spectrometry to arrange ESI source. Xcalibur, Tune and Chromleon data softwares (ThermoFinnigan, San Jose, CA, USA) were carried out to control device and process data acquisition. The instrument was performed in positive-ion mode, with spray voltage set at 3.50 kV, sheath gas flow 40, auxiliary gas flow 10 (au) and the ESI capillary temperature 320 °C. The full-mass scan covered the mass detection from m/z 250 to 310. The instrument determined and measured amount of present compounds in accordance with mass ranges, exact mass and specific retention time. Quantifications were calculated according to the accurate mass search technique (±5 ppm) by comparison the specific retention times and precise mass of present standards [29]. The accurate masses of sample standards were found by searching in “<http://planetorbitrap.com/> and www.mzcloud.org” database.

2.9. Antimicrobial Activity Test

The EERR was tested for antifungal activity against *Saccharomyces cerevisiae* and antibacterial capability against various pathogenic organisms; *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* and *Escherichia coli*. The cells were measured at specific absorbance for each microorganism (mostly 600 nm) with Spectra Max Plus 384 Microplate Reader (Molecular Devices, USA). The pure culture of microorganism were prepared in liquid solution of LB broth for bacteria and yeast extract peptone dextrose (YPD) for yeast in rotary shaker with 110 rpm at 32 °C overnight. The 96 well plates were used to test antimicrobial activity and each well initially consisted of 8.0 x 10⁶ cells. Three columns of well plate was used; the first one included growing medium with EERR but without microorganism as a negative control and blank, the second one was for positive antibiotic (Streptomycin+Amphycilin) control with microorganism and the final one was for various dose of extract treated to microorganism. After that, cells were incubated in rotary shaker with 110 rpm at 32 °C for 12 h.

2.10. Statistical Analysis

Statistical analysis was made GraphPad Prism 5.01 software and comparable data groups were evaluated by one-way ANOVA Newman-Keuls *Post-Hoc* Test; p<0.05 was considered significant.

3. Results

3.1 Effects of EERR on PC3 cell cytotoxicity

We further evaluated the cytotoxic effects of various concentrations of EERR using WST-1 assay. Different concentrations showed significant cytotoxic effect on PC3

cells in dose-dependent manner for 24h. When compared to control cells, five different doses of EERR decreased cell viability (Fig.1A, $p < 0.001$).

The EERR caused DNA fragmentation was also determined to understand hallmark of death reason. Two doses of EERR were chosen according to cell viability results in Fig. 1A. Both doses displayed a clear DNA fragmentation effect when compare to untreated control cells (Fig. 2A).

3.2 Antioxidant capacity of EERR on HUVECs

To investigate antioxidant capacity of EERR on HUVECs were induced by H_2O_2 . The ROS and MDA levels were measured in EERR treated HUVECs inducing with H_2O_2 . There is a significant difference between control and treated cells in accordance with various doses of EERR (Fig. 2A and 2C).

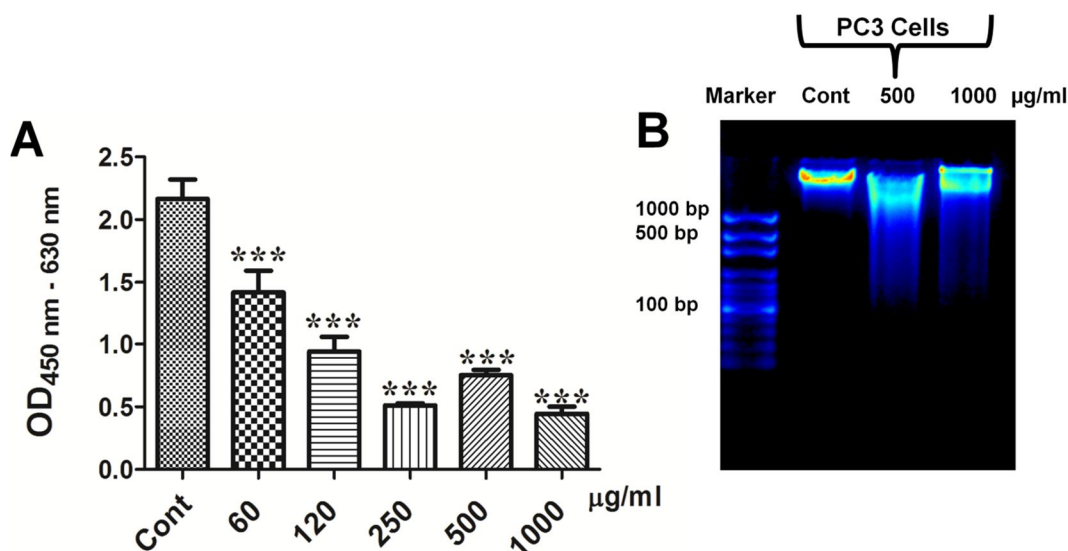


Fig. 1. The cytotoxicity and DNA fragmentation analysis of EERR. (A) The cell viability results of treatment PC3 with the various doses of EERR for 24 h. (B) The two best cytotoxic doses of EERR was treated to PC3 to determine DNA fragmentation effects. No extract was added to control cells. (Data were expressed as mean±SD with three independent experiments. (***) $p < 0.001$ vs cont; $n=3$)

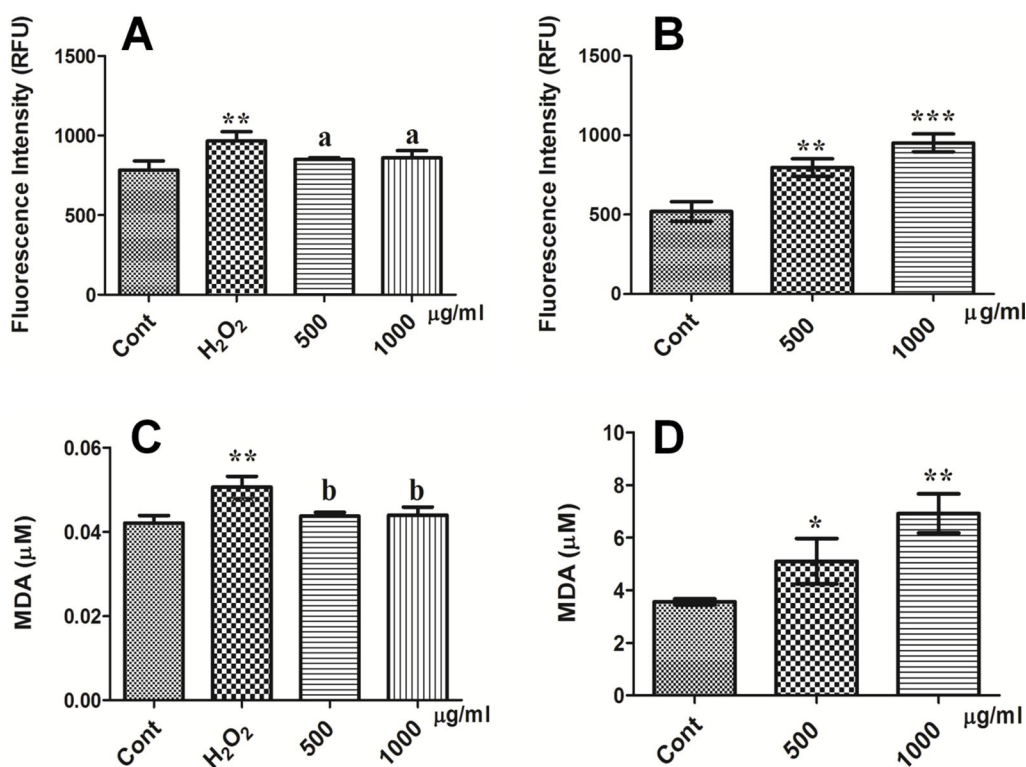


Fig. 2. The consequences of EERR on PC3 and HUVEC cells as an anticancer and antioxidant agent. (A) Total ROS production of EERR in H_2O_2 induced HUVEC for 24h. (B) Graph showing ROS generation of various doses of EERR in PC-3 cells for 24h. (C) LPO results of two best cytotoxic doses of EERR in H_2O_2 induced HUVEC for 24h. (D) Graph showing TBARS results of two best doses of EERR .in PC3 cells 24h. No extract was added to control cells. (Data were expressed as mean±SD with three independent experiments. (* $p < 0.05$ vs cont, ** $p < 0.01$ vs cont and *** $p < 0.001$ vs cont, ^a $p < 0.05$ vs H_2O_2 and ^b $p < 0.01$ vs H_2O_2 , $n=3$)

3.3. Effects of EERR on LPO levels and ROS production in PC3

In order to evaluate whether EERR could affect ROS and LPO generations in PC3 cells, we measured ROS and MDA concentrations in EERR treated PC3 cells. As in Fig. 2B, fluorescence intensity shows ROS generation in each sample. According to results, EERR induced ROS production in PC3 cells. When compared to control cells 500 and 1000 µg/ml of EERR significantly increased ROS in dose-dependent manner (p<0.01 and p<0.001 respectively).

MDA concentrations measured as a result of LPO. The EERR induced LPO in dose-dependent manner in PC3 cells for 24h. Comparing to control cells, 500 and 1000 µg/ml EERR increased MDA level significantly (p<0.05 and p<0.01) as seen Fig.2D.

3.4 HPCL-MS/MS analysis of phytochemical constituents in EERR

The phytochemical analysis of EERR represented in Table.1. The HPLC-MS-MS analysis resulted in the

presence of some important natural products such as flavonoids and phenolics. A kind of flavonoid or phenolic products mostly displayed clear intensity as [M +H]⁺ ions in the positive mode.

The experimental results are demonstrated the presence of chrysin, narinegenin and quarcetin as an example of flavonoids and phenolics. These important natural compounds were determined in extract of EERR by HPLC-MS-MS analysis. Their percentage in sample of EERR were calculated and indicated in Table 1.

3.5 Effects of EERR on bacteria and yeast

To evaluate antimicrobial activity of EERR, the various doses of it were analyzed against different bacteria and yeast. Fig. 3 shows that antimicrobial capability of minimum inhibition concentration (MIC) doses on microorganisms. The results in Fig. 3A, 3B and 3C indicate that various EERR doses have good antibacterial activity against *E. aerogenes*, *S. aureus* and *E. coli*. Moreover, it should be active against *S.cereviseae* in higher dose (Fig. 3D).

Table 1. Chemical compounds detected in EERR

Component Name	Equation	Area	Calculated Amount (µg/mg)	Mass Spectrum	RT
Quercetin	$y = -3.68311e+006 + 222867 * x$ R ² = 0.9990	6147687	44.111	303.0499	2.20
Naringenin	$y = -1.52771e+007 + 149240 * x$ R ² = 0.9895	3557106	126.201	272.0757	2.08
CAPE	$y = 3.39873e+006 + 15839.2 * x$ R ² = 0.9993	1037678	-	285.1109	2.08
Chrysin	$y = 769815 + 1.30064e+006 * x$ R ² = 0.9997	5136801	3.358	255.0651	2.36

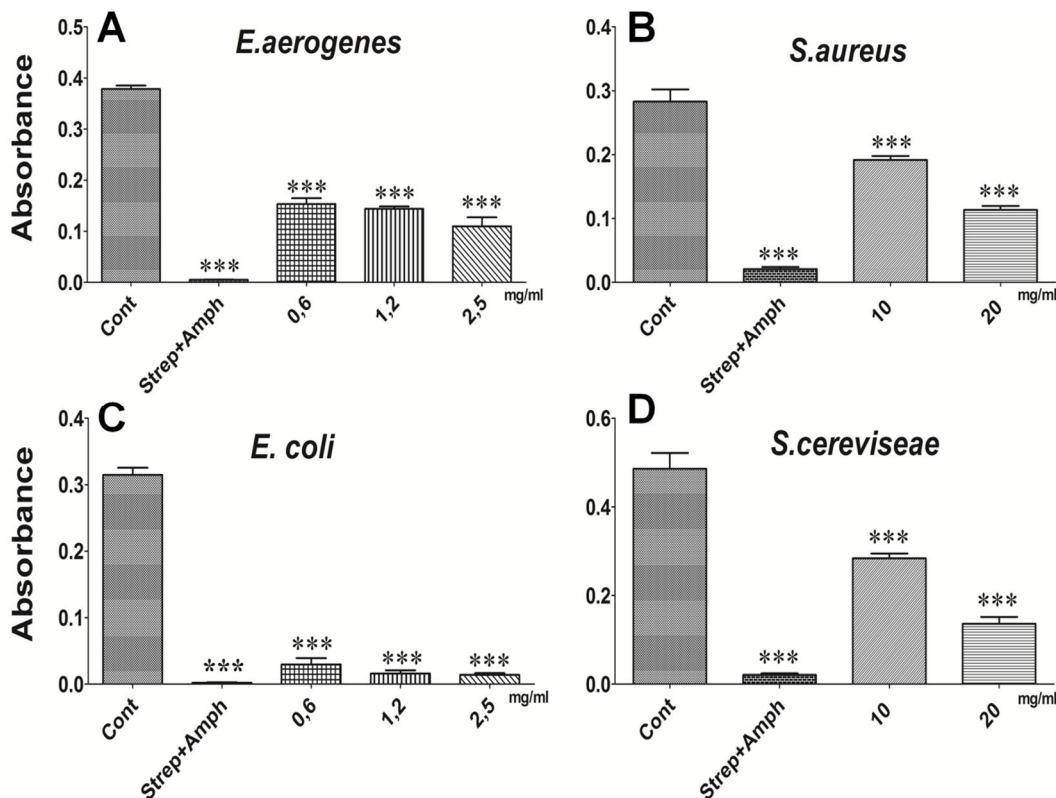


Fig. 3. The antimicrobial activity of EERR on growth rate of several bacteria and yeast cells. Cells were treated with various doses of EERR and same amounts of antibiotic mix as a positive control. (A) The antibacterial activity of EERR on gram-negative bacteria, *E. aerogenes*, (B) gram-positive bacteria, *S. aureus* and (C) gram-negative bacteria, *E. coli* for various doses for 12 h. (D) The antifungal activity of EERR on *S. cereviseae* for various doses for 12 h. Data are presented as means ±SEM (n=3). ***p<0.001 and *p<0.05 Cont, antibiotic mix and various doses of EERR

4. Discussion

The entire biological activity of *R. ribes* and underlying mechanisms by which it might be effective are yet unclarified, although a number of biological properties of it have been revealed by testing on different model organisms. In the current study, we indicated that treatment of PC3 cells with the EERR decreased cell proliferation. We also found that the pro-oxidant activity of EERR in PC3 cells, which upregulated the ROS generations and LPO. It is exactly known that ROS and LPO are highly reactive to decide cell destiny [30,31]. On the other hand, the antioxidant activity of *R. ribes* has been previously reported [24,25]. We revealed that treatment of H₂O₂ induced HUVECs with the various doses of EERR provided a decrease in ROS and MDA levels. Therefore, it might be suggested that EERR lead to pro-oxidant activity in cancer cell, in addition to its antioxidant ability in epithelial cells

There are limited number of studies about antitumor activity of *R. ribes* to reveal cytotoxicity and apoptotic effects of its root extract [23]. Furthermore, a report shown that emodin component from *Rheum* species induced apoptosis in human lung squamous carcinoma by activating mitochondrial pathway [32]. We infer that EERR may decrease cell viability due to increasing intracellular ROS and LPO levels.

Herein, we partially assessed mechanisms by which EERR can cause death of PC3 cells. Therefore, our results further displayed that DNA were fragmented by the various doses of EERR in PC3 cells. The DNA fragmentation is accepted a highlight of apoptosis [33]. We suggest that EERR might induce DNA fragmentation as a result of apoptosis.

As known, the quantitative and qualitative phytochemical screening of chemical constituents in natural plant extracts provide essential information for discovery of novel drugs. At the present study we analyzed the ingredient of EERR to determine some important phenolic and flavonoids including chrysin, naringenin, quercetin and CAPE. All of these phytochemical chemicals have both immune modulator and anticancer ability. It is definitely elicited that the antioxidant activity and cytotoxicity capability have a linear correlation with phenolic and flavonoid concentrations [34,35]. It can be said that they may contribute and determine effectiveness of the biological activities of EERR.

Naringenin is a type of flavonoid that behaves as antioxidant, immune modulator, free radical scavenger and anticancer agent to regulate cell health [36-38]. Chrysin, is also a well-known natural flavone, has been clarified to be an antioxidant and anticancer agent in numerous pharmacological actions. It is commonly known as a wide distributed major dietary flavonol and revealed as a potential antioxidant, anti-proliferative and pro-apoptotic agent [39]. These findings together with our results strongly suggest that phenolic and flavonoid context of *R. ribes* might lead its bioactivities.

In the present study, we have also examined the antimicrobial activity of EERR in various bacteria cultures; *E. aerogenes*, *S. aureus* and *E. Coli*. We have suggested that EERR has antimicrobial activity, similar to studies investigated antibacterial activity of *R. ribes* [17,40]. Moreover, we also demonstrated that EERR inhibited *S.cerevisiae* growth at high doses as antifungal agent, unlike a study argued that it is ineffective against yeast [18].

A plenty of researches clearly displayed that the different part of *R. ribes* plant are active against several pathogens [20,40]. However, it is not clear yet to explain the dose-dependent effectiveness of *R. ribes* against different type of microorganisms. Our findings were fairly shown that

the low doses of EERR strongly decreased growth rate of *E. aerogenes* and *E. Coli*. Otherwise, the high doses of it were just active against *S. Aureus* and *S.cerevisiae*.

In conclusion, various biological properties of EERR have been revealed in present study. We observed that EERR increases ROS and LPO levels which might inhibit the cell viability of PC3 as a pro-oxidant. Furthermore, the DNA of PC3 cells were fragmented with treatment of EERR. Additionally, we demonstrated that it has protective effects against H₂O₂ induced HUVECs by decreasing overproduction of ROS and LPO. The chemical constituents of EERR were elicited to determine amount of active compounds related to its biological activities such as chrysin, naringenin and quercetin. In addition, the antimicrobial activity of EERR was displayed against several microorganisms. Therefore, the present results suggest that EERR has potential to be a basis for anticancer, antimicrobial and antioxidant agents.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

References

- [1] Xu R., Wang Q. Large-scale automatic extraction of side effects associated with targeted anticancer drugs from full-text oncological articles. *J. Biomed. Inform.*, 55, 64–72, 2015.
- [2] Terada T., Noda S., Inui K. Management of dose variability and side effects for individualized cancer pharmacotherapy with tyrosine kinase inhibitors. *Pharmacol. Ther.*, 152, 125–134, 2015.
- [3] Tokajuk A., Krzyżanowska-Grycel E., Tokajuk A., Grycel S., Sadowska A., Car H. Antidiabetic drugs and risk of cancer. *Pharmacol. Reports*, 67(6), 1240–1250, 2015.
- [4] Laxminarayan R., Duse A., Watal C., Zaidi A. K. M., Wertheim H. F. L., Sumpradit N., Vlieghe E., Hara G. L., Gould I. M., Goossens H., Greko C., So A. D., Bigdeli M., Tomson G., Woodhouse W., Ombaka E., Peralta A. Q., Qamar F. N., Mir F., Kariuki S., Bhutta Z., Coates A., Bergstrom R., Wright G. D., Brown E. D., Cars O. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect. Dis.*, 13(12), 1057–1098, 2013.
- [5] Rodríguez-Rojas A., Rodríguez-Beltrán J., Couce A., Blázquez J. Antibiotics and antibiotic resistance: A bitter fight against evolution. *Int. J. Med. Microbiol.*, 303 (6), 293–297, 2013.
- [6] Paracelsus T. Die dritte Defension wegen des Schreibens der neuen Rezepte. *Septem Defensiones*. 1538.
- [7] Vermani K., Garg S. Herbal medicines for sexually transmitted diseases and AIDS. *J. Ethnopharmacol.*, 80(1), 49–66, 2002.
- [8] Tahir L., Khan N. Antibacterial potential of crude leaf, fruit and flower extracts of *tagetes minuta* l. *J. Public Heal. Biol. Sci.*, 1(3), 74–78, 2012.
- [9] Mohanta B., Chakraborty A., Sudarshan M., Dutta R. K., Baruah M. Elemental profile in some common medicinal plants of India. Its correlation with traditional therapeutic usage. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 258(1), 175–179, 2003.

- [10] Kashiwada T., Nonaka Y., Nishioka G., Yamagishi I. Galloyl and hydroxycinnamoyl glucoses from Rhubarb. *Phytochemistry*, 27, 1473–1477, 1988.
- [11] Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod. Process.*, 89(3), 217–233, 2011.
- [12] Cullen J., *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Edinbg. Univ. Press, 2, 268–269, 1966.
- [13] Türkmen Ö., Çirka M., Şensoy S. Initial evaluation of a new edible wild rhubarb species (*Rheum ribes* L.) with a modified weighted scaling index method. *Pakista. J. Bio. Sci.*, 8(5), 763–765, 2005.
- [14] Cakilcioglu U., Turkoglu I. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, 132(1), 165–175, 2010.
- [15] Sayyah M., Boostani H., Pakseresht S., Malayeri A. Efficacy of hydroalcoholic extract of *Rheum ribes* L. in treatment of major depressive disorder. *J. Med. Plants Res.*, 3(8), 573–575, 2009.
- [16] Abu-Irmaileh B. E., Afifi F. U. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *J. Ethnopharmacol.*, 89 (2), 193–197, 2003.
- [17] Sedigheh B., Bazzaz F., Khajehkaramadin M. In vitro antibacterial activity of rheum ribes extract obtained from various plant parts against clinical isolates of gram-negative pathogens. *IJPR.*, 2, 87–91, 2005.
- [18] Alan Y., Erbil N., Digrak M. In vivo antimicrobial activity of *Rheum ribes* extracts obtained from various plant parts from Turkey. 1(4), 23–29, 2012.
- [19] Hudson J. B., Lee M. K., Sener B., Erdemoglu N. Antiviral activities in extracts of turkish medicinal plants. *Pharm. Biol.*, 38(3), 171–175, 2000.
- [20] Naemi F., Asghari G., Yousofi H., Yousefi H. A., Chemical composition of essential oil and anti trichomonas activity of leaf , stem , and flower of *Rheum ribes* L . extracts. *AJP.*, 4(3), 191–199, 2014.
- [21] Hamzeh S., Farokhi F., Heydari R., Manaffar R. Renoprotective effect of hydroalcoholic extract of *Rheum ribes* root in diabetic female rats. *AJP.*, 4(6), 392–401, 2014.
- [22] Adham A. N., Naqishbandi A. M. HPLC analysis and antidiabetic effect of *Rheum ribes* root in type 2 diabetic patients. *Zanco J. Med. Sci.*, 19(2), 2015.
- [23] Uyar P., Evaluation of in vitro antioxidative, cytotoxic and apoptotic activities of *Rheum ribes* ethyl acetate extracts. *J. Plant Sci. (Science Publ. Group)*, 2(6), 339, 2014.
- [24] Yildirim I., Kutlu T., Takim K. Comparison of antioxidant activity of *Rheum ribes* fruits and seed methanolic extracts against protein oxidation and lipid peroxidation. *Pakistan J. Biol. Sci.*, 18, (5), 232–239, 2015.
- [25] Öztürk M., Aydoğmuş-Öztürk F., Duru M. E., Topçu G. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.*, 103(2), 623–630, 2007.
- [26] Hou X., Tong Q., Wang W., Xiong W., Shi C., Fang J. Dihydromyricetin protects endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress damage by regulating mitochondrial pathways. *Life Sci.*, 130, 38–46, 2015.
- [27] Shen H., Shi C., Shen Y. Detection of elevated reactive oxygen species level in cultured rat hepatocytes treated with aflatoxin B1. *Free Radic. Biol. Med.*, 21(2), 139–146, 1996.
- [28] Smith M. T., Thor H., Hartzell P., Orrenius S. The measurement of lipid peroxidation in isolated hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.*, 31, 19–26, 1982.
- [29] Medana C., Carbone F., Aigotti R., Appendino G., Baiocchi C. Selective analysis of phenolic compounds in propolis by HPLC-MS/MS. *Phytochem. Anal.*, 19(1), 32–39, 2008.
- [30] Sena L. A., Chandel N. S. Physiological Roles of Mitochondrial Reactive Oxygen Species. *Mol. Cell*, 48(2), 158–167, 2012.
- [31] Panieri E., Gogvadze V., Norberg E., Venkatesh R., Orrenius S., Zhivotovsky B. Reactive oxygen species generated in different compartments induce cell death, survival, or senescence. *Free Radic. Biol. Med.*, 57, 176–187, 2013.
- [32] Lee H.Z., Effects and mechanisms of emodin on cell death in human lung squamous cell carcinoma. *Br. J. Pharmacol.*, 134(1), 11–20, 2001.
- [33] Tong W. M., Cortes U., Wang Z. Q. Poly(ADP-ribose) polymerase: a guardian angel protecting the genome and suppressing tumorigenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 1552(1), 27–37, 2001.
- [34] Hassan L. E. A., Ahamed M. B., Majid A. S., Baharetha H. M., Muslim N. S., Nassar Z. D., Majid A. M. Correlation of antiangiogenic, antioxidant and cytotoxic activities of some Sudanese medicinal plants with phenolic and flavonoid contents. *BMC Complement. Altern. Med.*, 14(1), 406, 2014.
- [35] Gregoris E., Stevanato R. Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. *Food Chem. Toxicol.*, 48(1), 76–82, 2010.
- [36] Hatkevich T., Ramos J., Santos-Sanchez I, Patel Y. M. A naringenin-tamoxifen combination impairs cell proliferation and survival of MCF-7 breast cancer cells. *Exp. Cell Res.*, 27, 1–9, 2014.
- [37] Fouad A., Albuali W. H., Zahran A., Gomaa W. Protective effect of naringenin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 38(2), 420–9, 2014.
- [38] Kumar S. P., Birundha K., Kaveri K., Devi K. T. R. Antioxidant studies of chitosan nanoparticles containing naringenin and their cytotoxicity effects in lung cancer cells. *Int. J. Biol. Macromol.*, 78, 1–9, 2015.
- [39] Gardi C., Bauerova K., Stringa B., Kuncirova V., Slovak L., Ponist S. Quercetin reduced in inflammation and increased antioxidant defense in rat adjuvant arthritis. 583, 150–157, 2015.
- [40] Kazemi R., Parsa M. Antimicrobial potential of root , stalk and leaves extracts of *Rheum ribes*. 3(1), 10–13, 2014.



Ekonomik bir yöntemle hazırlanan tek faz α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin karakterizasyonu ve elektrokimyasal biyosensör uygulaması

Güllüzar Demir¹, İbrahim Y. Erdoğan*¹

Özet

α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri etkin bir kimyasal proses temeline dayanan pratik ve ekonomik bir yol kullanılarak hazırlandı. Nanopartiküller, X-ışını kırınımı (XRD), atomik kuvvet mikroskopi (AFM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX), fotoluminesans (PL) spektroskopisi, Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR) spektroskopisi ve dönüşümlü voltmetri (CV) teknikleri kullanılarak karakterize edildi. α -Fe₂O₃'ten γ -Fe₂O₃'e dönüşüm esnasında nanopartiküllerin faz ve kristal boyut değişimleri FTIR, XRD, AFM ve PL teknikleri kullanılarak incelendi. α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ faz için kristal boyutları sırasıyla 9'dan 12 nm'ye değişir. Alfa ve gama faz Fe₂O₃ partiküllerinin XRD desenleri sırasıyla yüksek tercihli (1 0 4) ve (3 1 1) yönelimi gösterdi. Örneklerin EDX analizleri Fe ve O'nin yaklaşık 2:3 atomik oranla yapıda bulduklarını doğrular. α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin kuantum sınırlama etkisi PL ölçümleri sonucu doğrulandı. Hacmine göre yüzey alanının yüksek olması sonucu α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri, ileri optiksel ve elektriksel nanocihazlarda bulunan sensörlerdeki uygulamalar için ideal adaylardır. Sonuçlar, α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinden yapılan sensörlerin oda sıcaklığında fizyolojik çözeltilerdeki hidrojen peroksitin biyosensitivitesi için yüksek duyarlılık sergilediğini gösterir.

Anahtar Kelimeler: Fe₂O₃; nanopartikül; elektrokimya; kuantum sınırlama etkisi; biyosensör uygulaması

The characterization and electrochemical biosensor application of single phase α -Fe₂O₃ and γ -Fe₂O₃ nanoparticles prepared by an economical method

Abstract

Nanoparticles of the α -Fe₂O₃ and γ -Fe₂O₃ were prepared using a practical and economical route based on an efficient chemical process. Nanoparticles were characterized by X-ray diffraction (XRD), atomic force microscopy (AFM), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), photoluminescence (PL) spectroscopy, Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, and cyclic voltammetry (CV). Phase and crystallite size variations of nanoparticles during α -Fe₂O₃ to γ -Fe₂O₃ transformation were examined using FTIR, XRD, AFM, and PL techniques. The crystal sizes vary for the γ -Fe₂O₃ and α -Fe₂O₃ phase from 9 nm to 12 nm, respectively. XRD patterns of alpha and gamma phase Fe₂O₃ particles obtained highly preferential (104) and (311) orientation, respectively. EDX analyses of samples confirm that Fe and O are present in approximately 2:3 atomic ratio. The quantum-confined effect of the α -Fe₂O₃ and γ -Fe₂O₃ nanoparticles are confirmed by the PL measurements. The α -Fe₂O₃ and γ -Fe₂O₃ nanoparticles with the high surface-to-volume ratio are ideal candidates for applications in the sensors, as well as in advanced optical and electric nanodevices. The results demonstrate that the sensors made of the α -Fe₂O₃ and γ -Fe₂O₃ nanoparticles exhibit high sensitivity for biosensing of hydrogen peroxide in a physiological solution at room temperature.

Keywords: Fe₂O₃; nanoparticle; electrochemistry; quantum confined effect; biosensor application

1. Giriş

Fe₂O₃, birçok endüstriyel uygulamada kullanılan çok önemli bir malzemedir. Fe₂O₃ farklı dört farklı kristal yapısına sahiptir. Bu kristal yapılardan uygulama alanı bulanlar α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ kristal yapılarıdır. Diğer kristal yapıları (ϵ -Fe₂O₃ ve β -Fe₂O₃) kararsız olduklarından

uygulama alanı bulamazlar. α -Fe₂O₃, hematit olarak bilinen rombohedral faz demir oksit olup, bir n-tipi yarı iletkenidir (Bant aralığı enerjisi, $E_g = 2,1$ eV) ve çevre koşullarında termodinamik olarak en kararlı demir oksit fazıdır. Hematit, gaz sensörü, manyetik kayıt ortamları, lityum-iyon pilleri, korozyon önleyici, sensör, su arıtma ve pigmentleri kapsayan birçok alanda kapsamlı uygulamalara sahiptir [1-4]. γ -Fe₂O₃, maghemit olarak bilinen kübik spinel faz demir oksit olup, bir n-tipi yarı iletkenidir ($E_g = 2,43$ eV) ve çevre

¹ Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

*Sorumlu yazar E-posta: ibrahimyerdogan@gmail.com

koşullarında termodinamik olarak yarı kararlı (α -Fe₂O₃'ten sonra en kararlı) demir oksit fazıdır. Maghemit magnetik kayıt ve bilgi depolama sistemleri, katalizör, gaz sensörleri, biyosensörler ve magnetoptik cihazlarda uygulamalara sahiptir [5-9].

Son yıllarda, α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ gibi metal oksit nanoyapılar, hem teorik yönleri hem de onların nanocihazlardaki potansiyel uygulamaları sebebiyle kayda değer bir ilgi uyandırmıştır [10-12]. Birçok malzemenin, özellikle yarıiletken malzemelerin optik, yapısal, magnetik, elektronik ve katalitik özellikleri, nanometre ölçeğine inildiğinde boyutlara bağımlı hale gelir [13-15]. Nanoteknoloji, malzemelerin yapısal, optik, elektronik, katalitik, fiziksel ve kimyasal özelliklerini malzemenin boyutlarını nano seviyelerde ayarlayarak kontrol edebilme işidir. Yani, nanoteknolojide belirli bir malzeme, boyutları nano skalada kısıtlanarak, değiştirilerek ve ayarlanarak birçok farklı maddenin özelliklerine sahip olabilir. Böylece tek bir madde, çok farklı maddelerin özelliklerini gösterebilir hale getirilmektedir. Geleneksel bulk materyallerle karşılaştırıldığında geniş yüzey alanlı ve kuantum sınırlama etkisine sahip düşük boyutlu nano skala materyaller, daha farklı ve gelişmiş elektronik, optik, magnetik ve katalitik özellikler sergiler. Bu özellikler birçok alanda çok sayıda gelişmelere, yeniliklere sebep olmaktadır [16-19].

Farklı organik ve inorganik bileşiklerin nano boyutlarda hazırlanması için yapılan çalışmalar neticesinde, nanomalzemelerin bulk hallerine göre değiştirilebilen ve ayarlanabilen ilgi çekici çoklu özellikler kazanabildikleri görülmüştür [20-22]. Bunun sonucu olarak malzemelerin nano boyutlarda hazırlanması üzerine araştırmalar her geçen gün daha da artmaktadır. Magnetik nanopartiküller klinik teşhisler için biyomedikal uygulamalarda ve tümörlerin magnetik rezonans görüntülenmesi, magnetik destekli ilaç tedavisi, kanser tedavileri gibi canlı dokulardaki uygulamalarda yeni bir teknoloji olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle küresel olarak biçimlendirilmiş demir oksitlerin kullanımı onların üstün kimyasal ve termal kararlılığı, sertliği, toksik ve radyoaktif olmayışından dolayı biyomedikal alanda muazzam bir artış göstermektedir. [23-26].

Bu çalışmada, γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ yarıiletken nanopartikülleri, geliştirdiğimiz basit, hızlı ve ekonomik bir kimyasal yöntem kullanılarak hazırlandı. Bu çalışma ile hem asidik ortamda demir iyonlarının direk oksidasyonu sağlanmış hem de bazik ortamda elde edilen demir oksitlere göre çok daha saf ve homojen demir oksit nanopartikülleri hazırlanmıştır. Bu ekonomik yöntem ile hazırlanan Fe₂O₃ nanopartikülleri literatürde benzer yöntemlerle elde edilenlere göre daha küçük boyutlarla üretilebilir ve hidrojen peroksitin hassas olarak saptanarak analizini gerçekleştirmek için uygun bir potansiyele sahip olabilir.

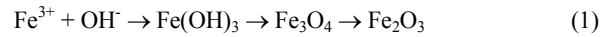
2. Materyal ve Metot

Çalışmalarımızın tamamında çözücü olarak 18 Mohm cm²'den daha yüksek kalitede deiyonize su ve saf etanol kullanıldı. Çözeltiler, Merck firmasının yüksek saflıktaki (%99,99) kimyasallarının deiyonize saf suda ve saf etanolde çözülmesi suretiyle hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin pH'ları ortama ilave edilen asit, baz ya da tampon çözelti ile istenilen değere ayarlandı ve bu değerler pH metre yardımıyla okundu. Çeşitli asitlerden elektrot oluşturulması işleminde yararlanıldı. Fe(NO₃)₃.9H₂O ve Na₂EDTA (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈) kullanılan kimyasallardır. Elektrokimyasal çalışmalarımızda; elektrokimyasal analizör olarak CHI tipi işlemsel yükseltilmiş potansiyostat, çalışma elektrotu olarak altın disk elektrot, demir oksit modifiye altın disk elektrot,

referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot, karşıt elektrot olarak da platin tel elektrot kullanıldı. Deiyonize su kullanılarak hazırlanan Fe₂O₃ nanopartiküllerinden oluşan süspansiyon (100 mg/mL) 30 dakika boyunca ultrasonik karıştırıcıda bekletildikten sonra altın elektrot yüzeyine düzgün ve homojen bir şekilde kaplandı ve kullanılmadan önce kurutuldu. Çalışmalarımızda malzemelerin PL spektrumları, Shimadzu RF-5301 PC Spektroflorofotometre ile IR bölge spektrumları ise Pelkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spektrometre ile incelendi. Optiksel özelliklerin incelenmesinde cam ve kuvarz küvetler, IR özelliklerinin incelenmesinde KBr diskler kullanıldı. Morfoloji ve boyutun belirlenmesinde Park Systems atomik kuvvet mikroskopundan yararlanıldı. Malzemelerin kristal yapısı ve boyut analizleri XRD yardımıyla belirlendi. Kristalizasyon çalışmalarımızda, $\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$ (0,154 nm) dalga boyuna sahip Cu-K α kaynaklı Rigaku-2200 D/Max XRD cihazından yararlanıldı.

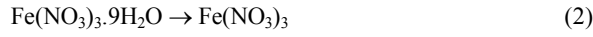
3. Tartışma ve Bulgular

Hem γ -Fe₂O₃ hem de α -Fe₂O₃ yarıiletken nanopartikülleri, yeni geliştirdiğimiz basit, hızlı ve ekonomik bir kimyasal yöntem kullanılarak hazırlandı. Bu yöntem demir oksit partiküllerinin sanayide üretilmesinde kullanılan yöntemlere göre oldukça basit ve ekonomik olmakla birlikte karmaşık cihaz ve sistemlere de ihtiyaç duymaz. Bu sayede demir oksit nanopartikülleri basit bir laboratuvar ortamında kolaylıkla hazırlanabilir. Literatürde Fe₂O₃ partiküllerinin kimyasal yöntemlerle hazırlanmasında genellikle birçok basamak üzerinden işlem gerçekleştirilmektedir. Öncelikle demir iyonu sağlayacak bir demir tuzu, NaOH, NH₃ gibi bir baz kullanılmak suretiyle Fe(OH)₃ halinde çöktürüldükten sonra çeşitli işlemlerle Fe₃O₄ üzerinden Fe₂O₃ partiküllerinin sentezi gerçekleştirilmektedir (Eşitlik 1).

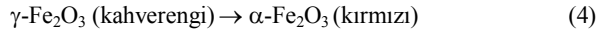


Bu çalışmalar sonucu elde edilen Fe₂O₃ partikülleri hem γ -Fe₂O₃ hem de α -Fe₂O₃ fazlarını içermekle birlikte bünyesinde çeşitli demir hidroksit türlerini de barındırmaktadır. Bu duruma bazik ortamda çalışmanın sebep olduğu bilinmektedir. Biz çalışmalarımızda asidik ortamda çalışarak bu dezavantajı ortadan kaldırdık. Bazik ortamda demir iyonlarını oksitlemek için baz ilavesi ve farklı süreler gereklidir. Geliştirdiğimiz bu yeni teknik sayesinde hem asidik ortamda demir iyonlarının direk oksidasyonu sağlanmış hem de bazik ortamda elde edilen demir oksitlere göre çok daha saf demir oksit nanopartikülleri hazırlanmıştır. Burada amaç, tek faza sahip, homojen γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerini hazırlamak ve istenildiği zaman bir fazdan ötekine geçişi sağlayacak basit bir yol geliştirmektir. Ayrıca elde edilen nanoyapıların kristal yapıda olması önemlidir. Çalışmalarımızda kristal yapıların bazik ortama göre asidik ortamda çok daha yüksek verimle hazırlanabildiğini gördük. Bazik ortamda hazırlanan malzemeler, kristal yapıdan çok amorf yapıya geçme eğilimi gösterdi. Bunun sonucu olarak çalışmalarımızı büyük çoğunlukla asidik ortamlarda gerçekleştirdik. Yaptığımız çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartikülleri literatürde elde edilenlere göre daha küçük boyutlara sahiptir. Geleneksel bulk demir oksitlerle karşılaştırıldığında geniş yüzey alanlı ve kuantum sınırlama etkisine sahip düşük boyutlu demir oksit nanopartikülleri, daha farklı ve gelişmiş elektronik, optik, magnetik ve katalitik özellikler sergiler. Bu çalışmada, γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartikülleri aşağıda ayrıntısı verilen çok basit ve avantajlı bir prosedür izlenerek hazırlandı. Demir kaynağı

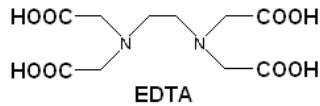
olarak Fe(NO₃)₃·9H₂O tuzu kullanıldı. Derişimi 0,1 M olacak şekilde tartılan Fe(NO₃)₃·9H₂O, 25 mL deiyonize suda çözüldü (pH≈5). Bu çözelti üzerine ayrı bir kapta hazırlanan 25 mL 0,1 M EDTA çözeltisi ilave edildi. Daha sonra bu karışım üzerine saf etanol çözeltilisinden 150 mL (suyun yaklaşık 3 katı) ilave edildi. Bu karışım bir magnetik karıştırıcı ısıtıcıda 300 rpm'de karıştırmak suretiyle 30 dakika 80 °C'de ısıtıldı (Eşitlik 2). Daha sonra çözelti soğutulmadan dekantasyon yöntemiyle ısıya dayanıklı porselen bir kap içine alındı ve dipte kalan çökelti atıldı. Böylece sadece çözeltiliye dağılmış daha küçük boyutlara sahip partiküller alınırken dibine çökmüş daha büyük partiküller ayrılmış oldu. Porselen kaba alınan çözelti karışımı hemen bir fırına yerleştirilerek 250 °C'de 2 saat tutuldu. Fırından çıkarılan kap oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Daha sonra 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj işlemine tabi tutularak partiküller ayrıldı. Sonra santrifüj kullanılarak çökelti 1 defa destile su ile 3 defa da saf etanol ile yıkandı. Son olarak laboratuvar ortamında, oda sıcaklığında kendi haline bırakarak kurutuldu. Bu şekilde hazırlanan (Eşitlik 3) toz halindeki çökelti kahverengidir ve saf γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinden oluşur.



Yukarıda anlatılan yöntemle hazırlanan γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri sadece ısı bir işlem kullanılarak α -Fe₂O₃ nanopartiküllerine dönüştürüldü. Bunun için fırına alınan γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri, fırının sıcaklığı dakikada 5 °C arttırılmak suretiyle (5 °C/dak) 700 °C'ye çıkarıldı ve 1 saat bu sıcaklıkta tutuldu. Daha sonra fırından çıkarılan partiküller kendi haline bırakılarak oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutuldu. Böylece hazırlanan toz kırmızı renge sahiptir ve saf α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinden oluşur (Eşitlik 4).



Yarıiletken Fe₂O₃, oldukça yön bağımlı bir yapıya sahiptir ve büyüme yönü istenildiği şekilde sınırlandırılabilir. Bunun sonucu olarak kolaylıkla Fe₂O₃ partiküllerinin boyutu küçültülebilir ve Fe₂O₃ nanopartikülleri hazırlanabilir. Burada kullanılan EDTA (etilendiamintetraasetik asit)'nin etkisiyle kalıp kullanılmadan yarıiletken nanopartiküllerin üretimi söz konusudur. EDTA'nın açık formülü Şekil 1'de verilmiştir.

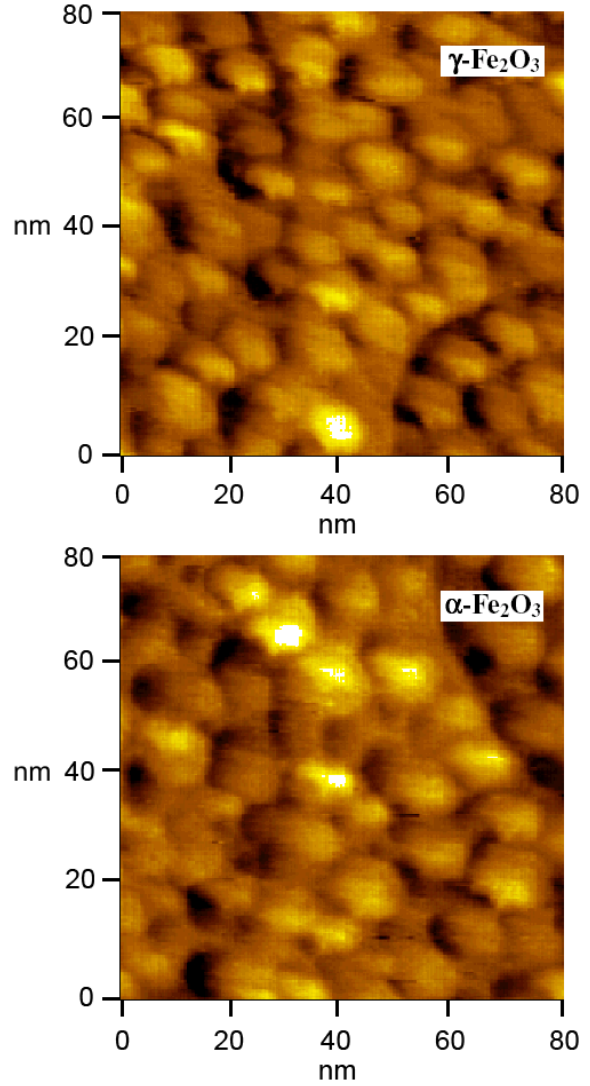


Şekil 1. EDTA ligantının açık formülü

Burada EDTA hem yüzey aktif madde hem dağıtıcı (disperse edici) hem de bir yardımcı yükseltgeyici olarak görev alır. Böylece partiküllerin bir araya gelmesi (agglomerasyonu) önlenerek oldukça yüksek yüzey alanına sahip Fe₂O₃ nanopartikülleri meydana gelir. Kahverengi γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinden kırmızı α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin ısı işlemi eldesi esnasında sıcaklık dereceli olarak 700 °C'ye çıkarılmalıdır. Yaptığımız çalışmalarda en uygun ısı prosedürün fırının sıcaklığını dakikada 5 °C arttırmak olduğu bulunmuştur. Isıtma işlemi aşama aşama yapıldığı takdirde faz geçişleri için kristal düzlemlerinin dönüşümlerinin tamamlanması mümkün olmaktadır. Böylece saf faz demir oksit eldesi mümkün

olmaktadır. Fırının sıcaklığının direkt olarak 700 °C'ye çıkarılması durumunda elde edilen yapının γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃'in bir karışımı olduğu görülmüştür. Demirin oksidasyonu bazik ortamda baz ilavesiyle gerçekleştirilmektedir.

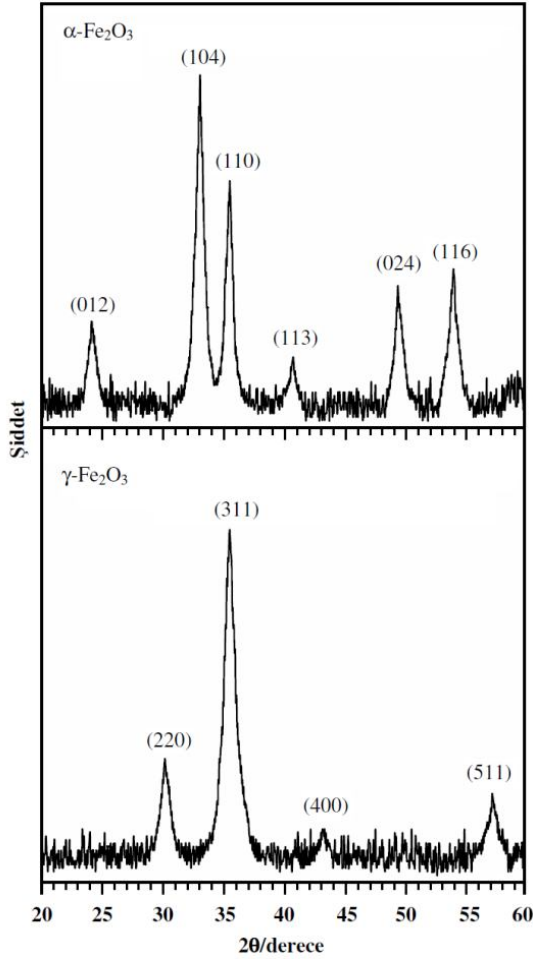
Yarıiletken Fe₂O₃ nanopartiküllerinin morfolojileri AFM tekniğinden yararlanılarak belirlendi. Şekil 2, pH'sı yaklaşık 5 olan asidik ortamda hazırlanan demir oksit nanopartiküllerinin boyutlarını ve şekillerini gösteren AFM görüntüleridir.



Şekil 2. γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin AFM görüntüleri

Bu AFM görüntüleri hem γ -Fe₂O₃ hem de α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin taneçiklerinin küresel yapıda ve oldukça homojen (tek tip) boyutlara sahip olduğunu göstermektedir. Kimyasal olarak hazırlanan γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri ortalama 10 nm boyutlara sahip iken, γ -Fe₂O₃'ün aşamalı bir prosedürle ısı işlemine tabi tutulması sonucunda hazırlanan α -Fe₂O₃ nanopartikülleri ortalama 14 nm boyutlara sahiptir. Bu durum, γ -Fe₂O₃'den α -Fe₂O₃'e faz değişimi neticesinde taneçik boyutunun arttığını göstermektedir. Böylece, faz değişimi ile nanopartiküllerin şekillerinde herhangi bir değişiklik olmaz. Bununla birlikte faz değişimi nanopartiküllerin boyutlarının değişmesine sebep olur. Bu sonuç literatürle uyumlu olup, γ -Fe₂O₃'ün α -Fe₂O₃'den daha küçük partikül boyutuyla elde edilebildiği tezini doğrulamaktadır.

Demir oksit nanopartiküllerinin faz dönüşümleri ve kristal yapıları XRD tekniğinden yararlanılarak incelendi. Kafes sabitleri $a = 0,5036$ ve $c = 1,3749$ nm olan, hematit olarak bilinen rombohedral faz α -Fe₂O₃ ve kafes sabitleri $a = 0,5036$ nm olan, maghemit olarak bilinen kübik spinel faz γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin XRD difraktogramları Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3. γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin XRD difraktogramları

Kimyasal olarak hazırlanan α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin XRD difraktogramlarında 2θ ölçeğinde $24,1^\circ$, $33,2^\circ$, $35,6^\circ$, $40,9^\circ$, $49,5^\circ$ ve $54,1^\circ$ 'de difraksiyon pikleri gözlemlendi. Bu pikler sırasıyla, α -Fe₂O₃'ün (0 1 2), (1 0 4), (1 1 0), (1 1 3), (0 2 4) ve (1 1 6) yönelimlerine karşılık gelir. γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin XRD difraktogramlarında 2θ ölçeğinde $30,2^\circ$, $35,6^\circ$, $43,3^\circ$ ve $57,3^\circ$ 'de difraksiyon pikleri gözlemlendi. Bu difraksiyon pikleri sırasıyla, γ -Fe₂O₃'ün (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0) ve (5 1 1) yönelimlerine karşılık gelir. XRD sonuçlarından görüldüğü üzere her iki difraktogramda, birbirinden tamamen farklı piklere yani, birbirinden tamamen farklı difraksiyon desenlerine sahiptir. Hem α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin hem de γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin difraksiyon desenleri saf faza sahiptir ve difraktogramlarda başka herhangi bir türe ait bir pik yoktur. Bunun sonucu olarak uyguladığımız bu yöntemle α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ partikülleri tamamen saf ve homojen faz ile elde edilebilir. XRD sonuçları, α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin düzlemler arası mesafesi, $d = 0,270$ nm olan (1 0 4) yönelimini, γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin ise düzlemler arası mesafesi, $d = 0,252$ nm olan (3 1 1) yönelimini tercih ettiğini gösterdi. Yani, α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin kristal

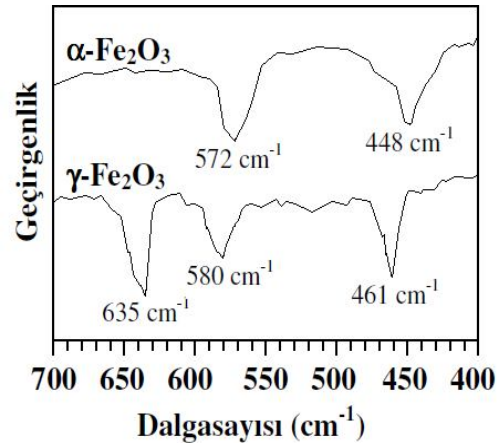
düzlemleri arasındaki mesafe γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinden büyüktür. Bu durum α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin boyutunun γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin boyutundan daha büyük olduğunu gösterir. Bu XRD sonuçları ile AFM sonuçları oldukça iyi bir uyum içindedir. Karşılaştırma amacıyla α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin XRD sonuçları α faz demir okside ait 33-0664 numaralı JCPDS-ICDD kartı ile γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin XRD sonuçları ise γ faz demir okside ait 39-1346 numaralı JCPDS-ICDD kartı ile karşılaştırılmış olup sonuçta elde edilen verilerin bu kartlarla mükemmel bir uyum içinde olduğu görülmüştür.

XRD sonuçlarından yararlanılarak, Scherrer eşitliği (Eşitlik 5) kullanılarak partikül boyutu (D) belirlenebilir.

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (5)$$

Burada D partikül boyutu (nm), K Scherrer sabiti (0,9), λ kullanılan x-ışınının dalga boyu (0,154 nm), β pik yarı yüksekliğinin tam genişliği (FWHM), θ pikin difraksiyon açısıdır. XRD verilerinde elde edilen piklerden ve Scherrer eşitliğinden yararlanılarak γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin boyutunun 9 nm, α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin boyutunun ise 12 nm olduğu belirlenmiştir. Bu veriler AFM verileriyle iyi bir uyum içerisindedir. Hem XRD hem de AFM sonuçları faz dönüşümü gerçekleştiğinde partikül boyunun değiştiğini göstermektedir. Partikül boyutu, γ 'dan α 'ya faz değişimi gerçekleştiğinde artmaktadır.

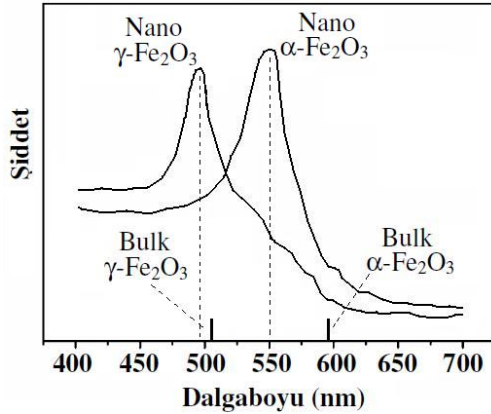
Demir oksit nanopartikülleri için α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ faz dönüşümleri ve yapı tayinleri XRD'nin yanı sıra FT-IR yöntemiyle de incelendi. Şekil 4, demir oksit nanopartiküllerine ait FT-IR spektrumlarıdır.



Şekil 4. α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin FT-IR spektrumları

Bu spektrumlar, α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ faz oluşumlarını doğrular. α -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait IR spektrumu, 448 ve 572 cm^{-1} 'de iki adet pike sahiptir. Bu pikler, α faz Fe₂O₃'deki karakteristik Fe-O bağ gerilme titreşimine aittir. γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait IR spektrumu ise, 461, 580 ve 635 cm^{-1} 'de üç adet pike sahiptir. Bu pikler, γ faz Fe₂O₃'deki karakteristik Fe-O bağ gerilme titreşimine aittir. γ -Fe₂O₃, α -Fe₂O₃'e göre daha fazla titreşim bölgesine sahip olup bu durum literatürle uyumludur. γ -Fe₂O₃ faza ait pikler, α -Fe₂O₃ faza ait piklere göre daha yüksek dalga sayısına ve daha yüksek enerjiye sahip bölgededir. Bu durum, daha küçük partikül boyutuna sahip olan γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin titreşmesi için daha yüksek enerjili IR ışınına ihtiyaç duymasından ileri gelir. Bu sonuç, XRD verileriyle uyumludur.

Kimyasal olarak hazırlanan γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin optiksel özellikleri PL ölçümleri ile belirlendi. Şekil 5, 400–700 nm aralığında alınan γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait PL spektrumlarıdır.



Şekil 5. γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin PL spektrumları

Örnekler için lüminesans spektrumları 390 nm’de uyarma yapılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir. Bulk γ -Fe₂O₃ için literatürde belirtilen maksimum emisyon dalga boyu değeri 510 nm ve α -Fe₂O₃ için literatürde belirtilen maksimum emisyon dalga boyu değeri 590 nm’dir. Bizim hazırladığımız demir oksit nanopartiküllerinin maksimum emisyon dalga boyları ise hem γ -Fe₂O₃ için hem de α -Fe₂O₃ için daha düşük emisyon dalga boylarına diğer bir deyişle, daha yüksek enerjili (daha yüksek frekanslı) bölgeye kayma göstermiştir. Yaptığımız çalışmalarda, γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri için 495 nm’de, α -Fe₂O₃ nanopartikülleri için ise 550 nm’de pik maksimumuna sahip PL spektrumları elde edilmiştir. Gerek γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri için gerekse α -Fe₂O₃ nanopartikülleri için alınan PL spektrumlarına ait pikler, bulk materyallerin karakteristik değerlerine göre maviye kayma gösterdi. Bu durum, partikül boyutunun 10 nm’ler civarına çekilmesiyle, elektronların hareket alanının her üç boyutta da sınırlandırılmasının dolayısıyla da kuantum sınırlama etkisinin bir sonucudur. Ayrıca, Şekil 5’de gözlenen güçlü emisyon pikleri, γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin yüksek optiksel kaliteye sahip olduğunu gösterir. Böylece demir oksit materyalini değiştirmeden sadece faz değişimi gerçekleştirilerek hem yapısal hem de optiksel özellikler değiştirilebilir. Yani, aynı materyalden nano boyutlarda faz değişimi gerçekleştirmek suretiyle farklı yapısal ve optiksel özelliklere sahip nanopartiküller hazırlanabilir. Optiksel spektrumlarından yararlanarak bir materyalin optiksel bant aralığı enerjisini hesaplamak için genelde Tauc eşitliği (Eşitlik 6) kullanılmaktadır [27].

$$ahv = A(hv - E_g)^{1/2} \quad (6)$$

Burada $h\nu$ foton enerjisini, α absorpsiyon katsayısını, E_g bant aralığı enerjisini, h Planck sabitini, ν kullanılan ışığın frekansını ve A etkin kütleyle ilişkili bir sabiti ifade etmektedir. Spektrumdan yararlanılarak $[(\alpha - \alpha_1)hv]^2$ ’nin $h\nu$ ’ye karşı grafiği çizilip bant aralığı enerjisi belirlenebilmektedir. Spektrumundaki lineer kısmın $[(\alpha - \alpha_1)hv]^2$ ’nin sıfıra eşit olduğu yani, absorpsiyonun sıfır olduğu doğrunun ekstrapolasyonu ile bulunan değer doğrudan bant aralığı enerjisini verir. Burada α_1 , absorpsiyonun minimum olduğu değer olan sıfıra eşit kabul

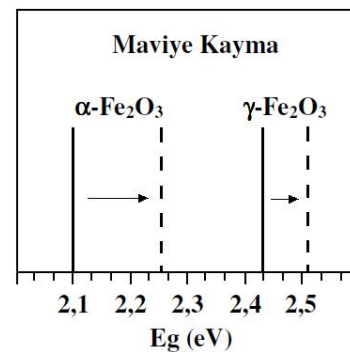
edilirse $(ahv)^2$ ’nin $h\nu$ ’ye karşı grafiğinden de bant aralığı enerjisi hesaplanabilir. α absorpsiyon katsayısı yerine A optiksel absorpsiyon kullanılabilir. Burada, α ile A arasında $A = 0,434\alpha d$ ilişkisi vardır [28]. $(ahv)^2$ ’nin $h\nu$ ’ye ya da $(Ahv)^2$ ’nin $h\nu$ ’ye karşı grafiği düz çizgi olmalıdır ve mevcut eğrinin enerji eksenini ($h\nu$) kestiği nokta materyalin bant aralığı enerjisine (E_g) karşılık gelir [29].

PL spektrumlarında elde edilen piklerin maksimum noktalarının dalga boyu dolayısıyla da frekansı bant aralığı enerjisinin belirlenmesinde kullanılır. PL spektrumundaki pik maksimumuna ait frekans (ν), Eşitlik 7’den belirlendikten sonra Plank sabiti ($h = 6,63 \times 10^{-34}$ J.s = $4,14 \times 10^{-15}$ eV.s) ile çarpıldığında, o materyale ait bant aralığı enerjisi (E_g) belirlenmiş olur.

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (7)$$

Burada c ışık hızı ($2,998 \times 10^{17}$ nm.s⁻¹), λ pik maksimumuna ait dalga boyu (nm), ν ise ilgili pikin frekansıdır.

Hem α -Fe₂O₃ hem de γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait PL spektrumlarından yola çıkarak yukarıdaki şekilde bant aralığı enerjileri hesaplandığında yığın değerlerine göre nanopartiküllerin bant aralığı enerjisinin arttığı görüldü. Bu durum Şekil 6’da açık olarak görülmektedir. Demir oksit nanopartiküllerinin bant aralığı enerjisinin artmasıyla meydana gelen maviye kayma, dalga hareketi yapan elektronların hareket alanının sınırlandırılmasının yani, kuantum sınırlama etkisinin bir sonucudur. α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin bant aralığı enerjisi 2,26 eV olup, bulk α -Fe₂O₃’in bant aralığı enerjisine (2,1 eV) göre yaklaşık 0,16 eV daha yüksek enerjili bölgeye doğru kayma göstermiştir. Aynı şekilde, γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin bant aralığı enerjisi 2,51 eV olup, bulk γ -Fe₂O₃’in bant aralığı enerjisine (2,43 eV) göre yaklaşık 0,08 eV daha yüksek enerjili bölgeye doğru kayma göstermiştir. Sonuç olarak her iki demir oksitin bant aralığı enerjisi boyutu küçültmek suretiyle mavi bölgeye doğru kayma göstermiştir.

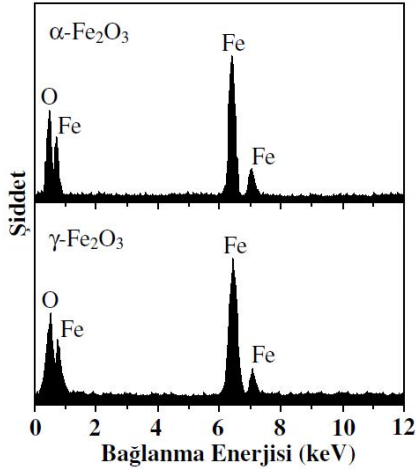


Şekil 6. α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin ve bulk hallerinin bant aralığı enerjileri

α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin bant aralığı enerjisi, γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerine göre iki kat daha fazla kayma göstermiştir. Bu durum, α -Fe₂O₃ fazı için kuantum sınırlama etkisinin, γ -Fe₂O₃ fazına göre daha etkin ve verimli olduğunu ifade eder. Böylece farklı fazlara sahip demir oksit nanopartikülleri farklı kristal yönelimine, farklı partikül boyutuna ve farklı optik özelliklere sahiptir. Bu sonuçlar materyallerin bant aralığı enerjisinin direkt olarak

partikül boyutu ve kristal yönelimi gibi sınırlayıcı etkiye bulunan özelliklerle ilişkili olduğunu açık bir şekilde gösterir.

Demir oksit nanopartiküllerinin elementel bileşimi (Fe/O) EDX tekniğinden yararlanılarak belirlendi. EDX sonuçları, γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerini hazırladığımız yöntem ile oldukça stokiyometrik partiküller hazırlanabildiğini gösterir. α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin EDX spektrumları Şekil 7'de verilmiştir.



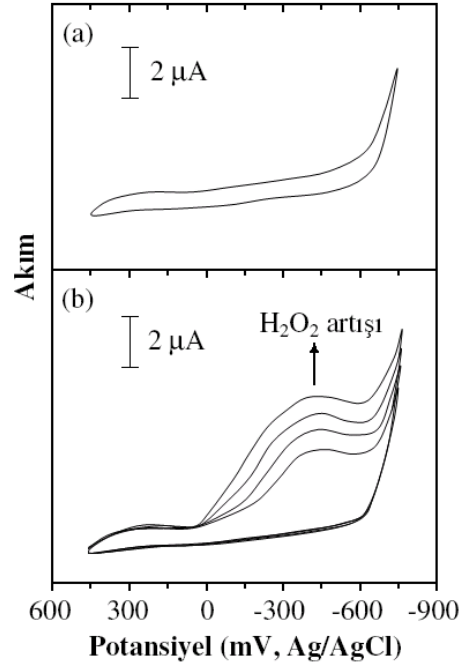
Şekil 7. α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait EDX spektrumları

EDX analizleri sonucu yapı içerisinde demir ve oksijenden başka herhangi bir safsızlığa rastlanmamıştır. Yani hazırlanan partiküller saf demir oksit fazına sahiptir. Sonuç olarak, α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait EDX spektrumlarının kalitatif ve kantitatif analizleri, yapıda sadece Fe ve O bulunduğunu ve stokiyometrinin 2/3 (Fe/O) oranına sahip olduğunu gösterir.

Bu çalışmada, demir oksit nanopartiküllerinin hidrojen peroksit hassasiyeti elektrokimyasal olarak incelendi. γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin elektrokimyasal özellikleri dönüşümlü voltametri yöntemiyle belirlendi. Yapılan çalışmalarda, γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃'in sergiledikleri elektrokimyasal özelliklerin aynı olduğu tespit edildi. Yani, faz değişiminin türlerin elektrokimyasal davranışları üzerinde bir fark oluşturmadığı görüldü. Genellikle nanopartiküller, kimyasal ve biyolojik sensör olarak kullanılmak amacıyla elektrot üzerine modifiye edilebilir [30,31]. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde H₂O₂ mevcudiyeti önemli olup bu zararlı kimyasalın indirgenerek canlıların en önemli ihtiyaçlarından olan suya dönüştürülmesi oldukça popüler bir araştırma sahasıdır. Bu konuda çeşitli çalışmalar yapılmakla birlikte özellikle elektrokimyasal çalışmalar ön plandadır. H₂O₂'in analizi ve indirgenmesi için çeşitli elektrot malzemeleri geliştirilmekle birlikte en çok enzim modifiye elektrotlar üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Fakat enzim modifiye elektrotlar, enzimlerin aktivite kaybından dolayı belirli bir süre sonra kararsızlaşırlar ve verimli bir şekilde kullanılamaz hale gelirler. Buda bu alandaki ana problemidir.

Bu çalışmada, biz biyolojik nötral ortamlarda yarıiletken Fe₂O₃ nanopartiküllerinin hidrojen peroksitin saptanarak analizini gerçekleştirmek için uygun bir potansiyele sahip olduğunu belirledik. Şekil 8.a, çıplak altın elektrotun, Şekil 8.b ise demir oksit modifiye altın elektrotun H₂O₂ çözeltisi içindeki dönüşümlü voltamogramlarıdır. Modifiye elektrotta, yaklaşık -450 mV'ta H₂O₂'in indirgenmesine karşılık gelen bir pik gözlenirken, çıplak altın elektrot bu

ortamda herhangi bir pik (cevap) vermedi. Şekil 8.b, farklı hidrojen peroksit konsantrasyonlarında modifiye elektrotun dönüşümlü voltamogramları görülmektedir. H₂O₂ konsantrasyonunun artmasıyla birlikte pik akımının da arttığı görülmektedir. Bu durum, Fe₂O₃ nanopartiküllerinin H₂O₂ indirgenmesini katalizlediğini gösterir. Sonuç olarak, elektrot yüzeyine kaplandığında Fe₂O₃ nanopartikülleri, yüksek yüzey-hacim oranı ve yüksek katalitik özelliklerinden dolayı H₂O₂'in saptanarak analizi için oldukça yüksek duyarlılığa sahip bir elektrokatalizör işlevi görebilir.



Şekil 8.a. 0,10 mM H₂O₂ çözeltisi içinde alınan çıplak altın elektrodun dönüşümlü voltamogramı, b. 0,10, 0,12, 0,14, 0,16 mM H₂O₂ çözeltisi içinde alınan Fe₂O₃ modifiye altın elektrodun dönüşümlü voltamogramı

4. Sonuçlar

γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ yarıiletken nanopartikülleri, geliştirdiğimiz basit, hızlı ve ekonomik bir kimyasal yöntem kullanılarak hazırlandı. Fe₂O₃ nanopartikülleri bu yöntem sayesinde basit bir laboratuvar ortamında hazırlanabilir. Bu yöntem sayesinde hem asidik ortamda demir iyonlarının direkt oksidasyonu sağlanmış hem de bazik ortamda elde edilen demir oksitlere göre çok daha saf demir oksit nanopartikülleri hazırlanmıştır. Hazırlanan γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃ nanopartikülleri literatürde elde edilenlere göre daha küçük boyutlara sahiptir. Bulk demir oksitlerle karşılaştırıldığında geniş yüzey alanı ve kuantum sınırlama etkisine sahip düşük boyutlu demir oksit nanopartikülleri, daha farklı ve gelişmiş elektronik, optik, magnetik ve katalitik özellikler sergiler. Fe₂O₃, yön bağımlı bir yapıya sahiptir ve büyüme yönü istenildiği şekilde sınırlandırılabilir. Burada, EDTA'nın etkisiyle kalıp kullanılmadan yarıiletken nanopartiküllerin üretimi gerçekleştirildi. Hem γ -Fe₂O₃ hem de α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin küresel yapıda ve oldukça homojen (tek tip) boyutlara sahip olduğunu görülmüştür. γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri ortalama 10 nm boyutlara sahip iken, α -Fe₂O₃ nanopartikülleri ortalama 14 nm boyutlara sahiptir. Böylece, γ -Fe₂O₃'den α -Fe₂O₃'e faz değişimi neticesinde tanecik boyutu artmıştır. γ -Fe₂O₃ ve α -Fe₂O₃, birbirinden tamamen farklı kristal yapılarına yani, birbirinden tamamen

farklı difraksiyon desenlerine sahiptir. Hem α -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin hem de γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin difraksiyon desenleri saf faza sahiptir. Bu yöntem α -Fe₂O₃ ve γ -Fe₂O₃ partiküllerinin tamamen saf ve homojen faz ile elde edilebilmesini sağlar. Hem XRD hem de AFM verileri faz dönüşümü gerçekleştiğinde partikül boyunun değiştiğini göstermektedir. IR spektrumlarında gözlenen piklerin hepsi Fe₂O₃'deki karakteristik Fe-O bağ gerilme titreşimine aittir. γ -Fe₂O₃, α -Fe₂O₃'e göre daha fazla titreşim bölgesine sahiptir. Her iki demir oksit içinde PL spektrumlarına ait pikler, yığın materyallerin karakteristik değerlerine göre maviye kayma gösterdi. α -Fe₂O₃ partiküllerinin bant aralığı enerjisi 2,26 eV olup, bulk α -Fe₂O₃'in bant aralığı enerjisine (2,1 eV) göre yaklaşık 0,16 eV daha yüksek enerjili bölgeye doğru kayma göstermiştir. Aynı şekilde, γ -Fe₂O₃ partiküllerinin bant aralığı enerjisi 2,51 eV olup, bulk γ -Fe₂O₃'in bant aralığı enerjisine (2,43 eV) göre yaklaşık 0,08 eV daha yüksek enerjili bölgeye doğru kayma göstermiştir. Bu sonuçlar malzemelerin bant aralığı enerjisinin direk olarak partikül boyutu ve kristal yönelimi gibi sınırlayıcı etkide bulunan özelliklerle ilişkili olduğunu açık bir şekilde gösterir. Bu çalışmada, biz yarıiletken Fe₂O₃ nanopartiküllerinin hidrojen peroksitin saptanarak analizini gerçekleştirmek için uygun bir potansiyele sahip olduğunu belirledik. Fe₂O₃ nanopartiküllerinin H₂O₂ indirgenmesini katalizlediği görüldü. Sonuç olarak, Fe₂O₃ nanopartikülleri, yüksek yüzey-hacim oranı ve yüksek katalitik özelliklerinden dolayı, H₂O₂'in saptanarak analizi için oldukça yüksek duyarlılığa sahip bir biyosensör olarak önerilebilir.

Teşekkür

Bu çalışma, Bingöl Üniversitesi Kimya Bölümü ve Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş ve Bingöl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinasyon Birimi (BÜBAP) tarafından desteklenmiştir.

Referanslar

- [1] Cao, S.W., Li, L., Ma, M.Y., Zhang, L., Zhu, Y.J., Hierarchically Nanostructured Magnetic Hollow Spheres of Fe₃O₄ and γ -Fe₂O₃: Preparation and Potential Application in Drug Delivery, *J. Phys. Chem. C*, 112, 1851–1856, 2008.
- [2] Chen, J., Xu, L., Li, W., Guo, X., α -Fe₂O₃ Nanotubes in Gas Sensor and Lithium-Ion Battery Applications, *Adv. Mater.*, 17, 582–586, 2005.
- [3] Lucarelli, F., Macsini, M., Marrazza, G., Minunni, M., Tombelli, S., Electrochemical and piezoelectric DNA biosensors for hybridisation detection, *Anal. Chim. Acta*, 609, 139–159, 2008.
- [4] Chen, D.R., Jiao, X.L., Liu, S.S., Zhan, S.H., Facile fabrication of long α -Fe₂O₃, α -Fe and γ -Fe₂O₃ hollow fibers using sol-gel combined co-electrospinning technology, *J. Colloids Interface Science*, 308, 265–270, 2007.
- [5] Bacri, J.C., Halbreich, A., Perzynski, R., Pons, J.N., Rpper, J., Sabolovic, D., Silva, M.D.F.D., Use of Magnetic Nanoparticles for Thermolysis of Cells in a Ferrofluid, Plenum Pres, New York, 1997.
- [6] Hayes, B., Terabyte Territory, *Am. Sci.*, 90, 212–216, 2002.
- [7] Ilievski, F., Ross, C.A., Teper, T., Optical and magnetic properties of γ -iron oxide made by reactive

pulsed laser deposition, *IEEE Trans. Magn.*, 39, 3172–3174, 2003.

- [8] Jing, Z., Wang, Y., Wu, S., Preparation and gas sensing properties of pure and doped γ -Fe₂O₃ by an anhydrous solvent method, *Sens Actuators*, 113, 177–181, 2006.
- [9] Perez, J.M., Josephson, L., Weissleder, R., Use of magnetic nanoparticles as nanosensors to probe for molecular interactions, *ChemBioChem*, 5, 261–264, 2004.
- [10] Mamedov A.A., Nicholas A.A., Free-Standing Layer-by-Layer Assembled Films of Magnetite Nanoparticles, *Langmuir*, 16, 5530–5533, 2000.
- [11] Pascal, C., Pascal, J.L., Favier, F., Moubtassim M.L.E., Payen, C., Electrochemical Synthesis for the Control of γ -Fe₂O₃ Nanoparticle Size. Morphology, Microstructure, and Magnetic Behavior, *Chem. Mater.*, 11, 141–147, 1999.
- [12] Tadic M., Markovic D., Spasojevic J., Kusigerski V., Remskar M., Pirnat J., Jaglici Z., Synthesis and magnetic properties of concentrated α -Fe₂O₃ nanoparticles in a silica matrix, *Journal of Alloys and Compounds*, 441, 291–296, 2007.
- [13] Oznuluer T., Erdogan I., Sisman I., Demir, U., Electrochemical Atom-by-Atom Growth of PbS by Modified ECALE Method, *Chemistry of Materials*, 17, 935–937, 2005.
- [14] Oznuluer T., Erdogan I., Demir, U., Electrochemically Induced Atom-by-Atom Growth of ZnS Thin Films: A New Approach for ZnS Codeposition, *Langmuir*, 22, 4415–4419, 2006.
- [15] Oznuluer T., Erdogan I., Bulbul F., Demir, U., Characterization of Size-Quantized PbTe Films Synthesized by an Electrochemical Co-deposition Method, *Thin Solid Films*, 517, 5419–5424, 2009.
- [16] Jordan, A., Scholz R., Wust, P., Fahling, H., Felix, R., Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles, *J. Magn. Magn. Mater.*, 201, 413–419, 1999.
- [17] Erdogan I.Y., Demir, U., Synthesis and characterization of Sb₂Te₃ nanofilms via electrochemical co-deposition method, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 633, 253–258, 2009.
- [18] Erdogan I.Y., Demir, U., One-step electrochemical preparation of the ternary (Bi_xSb_{1-x})₂Te₃ thin films on Au(111): Composition-dependent growth and characterization studies, *Electrochimica Acta*, 55, 6402–6407, 2010.
- [19] Erdogan I.Y., Demir, U., Orientation-controlled synthesis and characterization of Bi₂Te₃ nanofilms, and nanowires via electrochemical co-deposition, *Electrochimica Acta*, 56, 2385–2393, 2011.
- [20] Erdogan I.Y., Gullu O., Optical and structural properties of CuO nanofilm: Its diode application, *Journal of Alloys and Compounds*, 492, 378–383, 2010.
- [21] Erdogan I.Y., Gullu O., Silicon MIS diodes with Cr₂O₃ nanofilm: Optical, morphological/structural and electronic transport properties, *Applied Surface Science*, 256, 4185–4191, 2010.

- [22] Erdogan I.Y., The alloying effects on the structural and optical properties of nanocrystalline copper zinc oxide thin films fabricated by spin coating and annealing method, *Journal of Alloys and Compounds*, 502, 445–450, 2010.
- [23] Brzeska M., Panhorst M., Kamp, B.P., Schotter J., Reiss G., Puhler A., Becker A., Bruckl J.H., Detection and manipulation of biomolecules by magnetic carriers, *Biotechnol*, 112, 25–33, 2004.
- [24] Kang H.W., Josephson L., Petrovsky A., Weissleder R., Bogdanov A., Magnetic resonance imaging of inducible e-selectin expression in human endothelial cell culture, *Bioconjug Chem.*, 13, 122–127, 2002.
- [25] Langer, R., Drug delivery and targeting, *Nature*, 392, 5–10, 1998.
- [26] Schotter J., Kamp P.B., Becker A., Pühler A., Brinkmann D., Schepper W., Brücklet H., Reiss G., A biochip based on magnetoresistive sensors, *IEEE Trans. Magn.*, 38, 3365–3367, 2002.
- [27] Tauc, J., *Amorphous and Liquid Semiconductor*, Plenum, New York, 159, 1974.
- [28] Mott, N.F., Gurney, R.W., *Electronic Processes in Ionic Crystals*, Oxford University Press, London, 1940.
- [29] Herrero, J., Gullien, C., Study of the optical transitions in electrodeposited CuInSe₂ thin films, *J. Appl. Phys*, 69, 429–434, 1991.
- [30] Fojta, M., Palecek, E., Tomschik, M., Wang, J., Electrochemical biosensors for DNA hybridization and DNA damage, *Biosens Bioelectron*, 13, 621–628, 1998.
- [31] Cao, S.W., Zhu, Y.J., Hierarchically Nanostructured α -Fe₂O₃ Hollow Spheres: Preparation, Growth Mechanism, Photocatalytic Property, and Application in Water Treatment, *J. Phys. Chem. C*, 112, 6253–6257, 2008.



Türk Doğa ve Fen Dergisi Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



Yüksek gerilim izolatorlerinde yüzey kaçak akımlarının ANFIS yöntemiyle hesaplanması

Ersin Turan¹, Muhsin Tunay Gençoğlu², Abdulkerim Karabiber*³

Özet

Yüksek gerilim izolatorlerinde meydana gelen yüzey kaçak akımları, izolator ömrünü olumsuz yönde etkilemekte ve enerji kesintilerine sebep olmaktadır. Yüzey kaçak akımı nem, kir, izolator şekli ve uygulanan gerilim gibi birçok parametreye bağlı, dinamik ve lineer olmayan bir değişkendir. İzolator yüzeyinde oluşan kaçak akımın hesabı için birçok model bulunmasına rağmen, bu modeller farklı çalışma koşulları altında yetersiz kalabilmektedir. Eğitilebilir ve sezgisel hesaplama yöntemleri, yüzey kaçak akımı hesabına benzer lineer olmayan problemlerin çözümünde etkili sonuçlar vermektedir. Bu çalışmada, yüzey kaçak akımları, sezgisel bir yöntem olan Anfis ile bulunmakta ve bulunan sonuçlar ölçüm ve diğer hesaplama sonuçlarıyla karşılaştırılmaktadır. Farklı kir ve gerilim değerleri için bulunan ölçüm değerlerinin %30'u Anfis yöntemini eğitmek için kullanılmaktadır. Analiz sonuçları, Anfis yönteminin diğer hesaplama yöntemine göre ölçüm sonuçlarına daha yakın ve tutarlı çalışma aralığının daha geniş olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Yüzey kaçak akımları; kir direnci; sezgisel yöntemler; Anfis

The calculation of surface leakage currents on the high voltage insulators by using ANFIS method

Abstract

Surface leakage currents occurring in high voltage insulators adversely affect the isolator life and lead to power outages. Surface leakage current is dynamic and non-linear variable that it depends on many parameters such as the applied voltage, moisture, pollution, and insulator shape. Therefore, there are many models for the surface leakage current calculation and these models may be inadequate under different operating conditions. Trainable and heuristic calculation methods can be effective to solve nonlinear problems which are similar surface leakage current calculation. In this study, the surface leakage currents are calculated by Anfis which is heuristic calculation method and the calculated results are compared with the results of measurements and other calculation method. 30% of the measured values which are found for different pollution and voltage values are used to train the Anfis method. Analysis results show that the proposed method results are closer to the measurement result and have a wider operating range consistent than other calculation method.

Keywords: Surface leakage currents; pollution resistance; heuristic methods; Anfis

1. Giriş

İzolatorlar, havai hatlardan oluşan enerji şebekelerinin temel güç elemanlarından biridir. İzolatorların görevi iletkenleri elektrik direklerinden izole etmek ve taşımadır. Kirlenme, nem ve yağmur gibi çevresel koşullar izolatorün yalıtım görevini yapmasını zorlaştırmaktadır. Bu durumda izolator yüzeyinden akan kaçak akımlar önemli bir sorun haline gelerek yalıtkan malzemelerin kullanılamaz hale gelmesine ve enerji kesintilerine sebep olabilmektedir. Bu

yüzden, şebeke planlamasında, izolator yüzey kaçak akımlarının farklı çevre koşulları altında hesaplanması önem arz etmektedir.

Yüzey kaçak akımlarının hesaplanabilmesi için, izolator yüzeyindeki potansiyel dağılımının ve akım yollarının belirlenmesi gereklidir. Kir, nem ve hava koşullarına bağlı olarak değişiklik gösteren akım yollarının tam olarak belirlenmesi oldukça zordur. Ayrıca izolatorlerin karmaşık yapıları bu problemi daha da zorlaştırmaktadır. Bu yüzden, izolator yüzey direncinin hesaplanmasında farklı yöntemler kullanılmaktadır.

Literatürde yer alan izolator modeller, statik [1-7] ve dinamik [8-10] modeller olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Alston vd. izolatorleri eşdeğer bir dörtgen olarak modellemiştir [2]. Bu yöntemde, yüzey kaçak akımına etki eden genel parametreler yer alsa da; izolator

¹ Bingöl Üniversitesi, Genç Meslek Yüksekokulu, Elektrik Programı, 12000 Bingöl, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü, 23119 Elazığ, TÜRKİYE

³ Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü, 12000 Bingöl, TÜRKİYE

*Sorumlu yazar E-posta: akarabiber@bingol.edu.tr

şekli ve ark durumunun etkisi göz ardı edilmektedir. Rumeli izolatörlerin kir direncini hesaplama amacıyla AR modelini kullanılmaktadır [7]. AR modelinde, kir tabakası düzlemsel olarak ele alınmakta ve seri kir direnci üzerinden yüzey kaçak akımları hesaplanmaktadır. Bu yöntem, izolatör şeklinin etkisini nispeten daha iyi göstermektedir.

İzolatör modellemede yöntemlerinin fazla olması, kir direnci probleminin karmaşık yapısından kaynaklanmaktadır. Bir izolatör tipinde veya belli bir gerilim aralığında iyi sonuç veren bir yöntem, problem girdileri değiştiğinde aynı yeterli sonucu veremeyebilmektedir. Bu durum, araştırmacıları sezgisel yöntemlere yönlendirmektedir [11-15]. Eğitilebilir sezgisel yöntemlerle, farklı izolatör tiplerine ve hava koşullarına bağlı olarak deney sonuçlarına yakın değerler elde edilebilmektedir.

Bu çalışmada izolatör yüzey kaçak akımları Anfis yöntemiyle hesaplanmaktadır. Hesaplanan değerler deneysel verilerle ve karınca koloni algoritmasıyla bulunan sonuçlarla karşılaştırılmaktadır. Anfis bloğunun giriş değişkenleri yüzey iletkenliği ve uygulanan gerilim seviyesidir. Farklı gerilim, kir seviyesi ve nem değerleri için ölçülen kaçak akım değerlerinin %30'u Anfis yöntemini eğitmek için kullanılmaktadır. Elde edilen sonuçlar, Anfis yönteminin hedef problemin çözümünde yeterli performansa sahip olduğunu göstermektedir.

2. Yöntem

Anfis yöntemi, bulanık mantık ve yapay sinir ağları ilkelerinin birlikte uygulanmasından ortaya çıkan bir yöntemdir. Anfis, bilinen veya talep edilen değerlerle eğitilerek, bilinmeyen değerlerin hesaplanmasında kullanılabilir. Son yıllarda lineer olmayan problemlerin çözümünde yaygın şekilde kullanılan Anfis, çıkış ve giriş değişkenleri arasındaki bağıntıyı belirlemede gayet başarılıdır [16].

İzolatör yüzey kaçak akımlarının Anfis yöntemiyle hesaplanabilmesi için farklı nem ve kir direncine bağlı deney sonuçları gereklidir. Öztürk'ün kuru ortam için ölçüm sonuçları ve karınca koloni algoritması (KKA) yöntemiyle elde ettiği değerler Tablo 1'de gösterilmektedir [17]. KKA yöntemi sezgisel bir yöntem olmakla birlikte eğitilebilir değildir. Bu yüzden, KKA ile bulunan değerler, giriş değişkenlerine bağlı olarak ölçüm değerlerinden çok farklı çıkabilmektedir. Ölçüm ve KKA hesaplamalarında uygulanan gerilim aralığı 5-50 kV arasında değişmekte ve üç farklı öz iletkenlik (σ) değeri ele alınmaktadır. %60 ve %85 nem oranları için elde edilen deney sonuçları Tablo 2'de gösterilmektedir. Nem deneylerinde seçilen öz iletkenlik ve uygulanan gerilim değerleri, kuru ortam deneyleriyle aynıdır.

Tablo 1. Kuru ortam için ölçüm ve KKA sonuçları

σ	3,32 $\mu\text{s/cm}$		10,98 $\mu\text{s/cm}$		17,8 $\mu\text{s/cm}$	
	Ölçüm (mA)	KKA (mA)	Ölçüm (mA)	KKA (mA)	Ölçüm (mA)	KKA (mA)
5	0,084	0,048	0,100	0,187	0,098	0,294
10	0,152	0,103	0,182	0,310	0,178	0,542
15	0,224	0,127	0,266	0,450	0,258	0,691
20	0,292	0,175	0,346	0,560	0,338	0,869
25	0,372	0,193	0,426	0,681	0,420	1,147
30	0,464	0,228	0,518	0,833	0,510	1,301
35	0,562	0,261	0,610	0,906	0,600	1,495
40	0,650	0,321	0,716	1,039	0,694	1,709
45	0,756	0,339	0,816	1,176	0,800	1,944
50	0,860	0,396	0,926	1,285	0,914	2,090

Deneysel çalışmalarda, yüzey kaçak akım ölçümü on farklı gerilim değeri için yapılmaktadır. Bu gerilim değerlerinden üç tanesi Anfis yöntemini eğitmek amacıyla kullanılmaktadır. Eğitim için kullanılan değerler 5, 30 ve 50 kV'da elde edilen ölçüm sonuçlarıdır.

Ölçümlerin ve KKA hesaplamalarının noktasal değerleri (uygulanan gerilim değerleri için) belirlendikten sonra ara değerlerin lineer bir değişim gösterdiği öngörülmektedir. Ölçüm, KKA ve Anfis sonuçları birer eğri olarak ifade edildikten sonra grafikler üzerinde karşılaştırma yapılmaktadır.

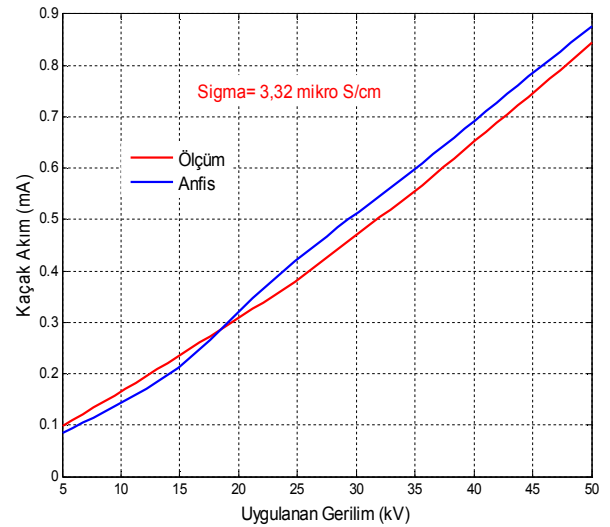
3. Bulgular

Anfis hesaplamaları için Matlab\Simulink benzetim programı kullanılmaktadır. Matlab'ın Anfis ara yüzü, problemin tanımlanmasını ve sistemin eğitilmesini kolaylaştırmaktadır. Belirlenen aralıkta ölçülen veya talep edilen değerler sisteme tanımlandıktan sonra bilinmeyen değerler için tahmini sonuçlar alınabilmektedir.

Tablo 2. Farklı nem değerlerinde ölçüm sonuçları

Nem	%60			%85		
	3,32 $\mu\text{s/cm}$	10,98 $\mu\text{s/cm}$	17,8 $\mu\text{s/cm}$	3,32 $\mu\text{s/cm}$	10,98 $\mu\text{s/cm}$	17,8 $\mu\text{s/cm}$
Ger. (kV)	Ölçüm (mA)	Ölçüm (mA)	Ölçüm (mA)	Ölçüm (mA)	Ölçüm (mA)	Ölçüm (mA)
5	0,084	0,074	0,098	0,148	0,160	0,170
10	0,168	0,144	0,164	0,276	0,324	0,314
15	0,248	0,224	0,236	0,390	0,452	0,452
20	0,338	0,304	0,308	0,512	0,640	0,616
25	0,424	0,378	0,382	0,634	0,680	0,776
30	0,512	0,452	0,470	0,752	0,756	0,936
35	0,596	0,572	0,556	0,884	0,910	1,100
40	0,644	0,658	0,652	1,026	1,052	1,276
45	0,758	0,748	0,746	1,138	1,216	1,414
50	0,876	0,854	0,844	1,264	1,520	1,584

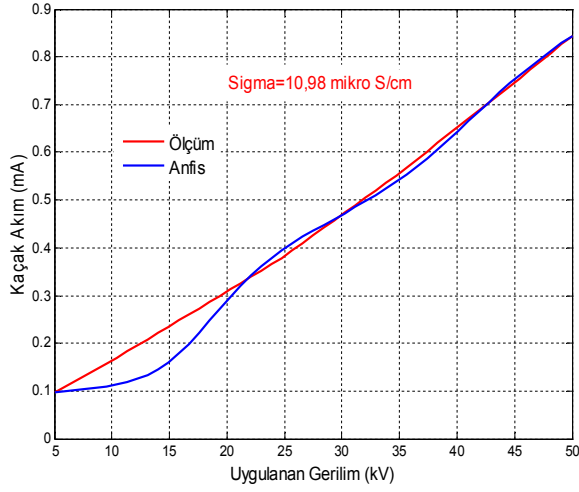
Şekil 1, 2 ve 3'te %60 nemli ortamda yapılan ölçümler ve Anfis hesaplamaları yer almaktadır. Şekil 1'de öz iletkenlik değeri 3,32 mikro S/cm'dir. Ölçülen ve tahmin edilen değerler az bir hata payıyla paralellik göstermektedir.



Şekil 1. %60 nem ve $\sigma=3,32 \mu\text{s/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonuçları

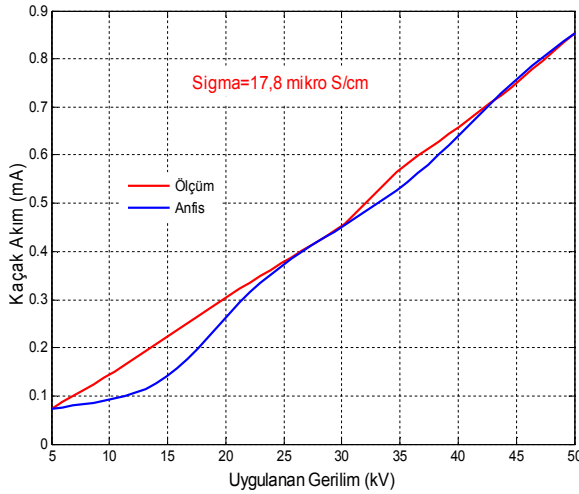
Şekil 2'de öz iletkenlik değeri 10,98'dir. Ölçüm ve tahmin değerlerinin birbirine yakın olduğu ancak 5-20 kV

arasında non-linear değişim gösterdiği görülmektedir. Tahmin değerlerinin, ölçüm değerleri gibi lineer bir yapıya sahip olmamasının nedeni, Anfis yönteminin sezgisel bir yöntem olmasıdır.



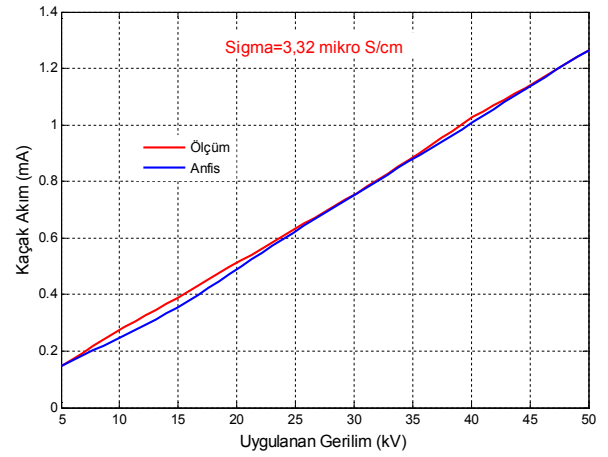
Şekil 2. %60 nem ve $\sigma=10,98 \mu\text{S/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonuçları

Şekil 3'de öz iletkenlik değeri 17,8'dir. Ölçülen ve tahmin edilen değerler birbirine yakın olmakla birlikte, hata değeri uygulanan gerilime göre değişmektedir. Ölçülen akım değerleri, ilk iki şekille benzerlik göstermektedir. Kuru durum ve farklı öz iletkenlik değerleri altında birbirine yakın kaçak akımların ölçülmesi; kir direncinin kaçak akıma etkisinin az olduğunu göstermektedir.

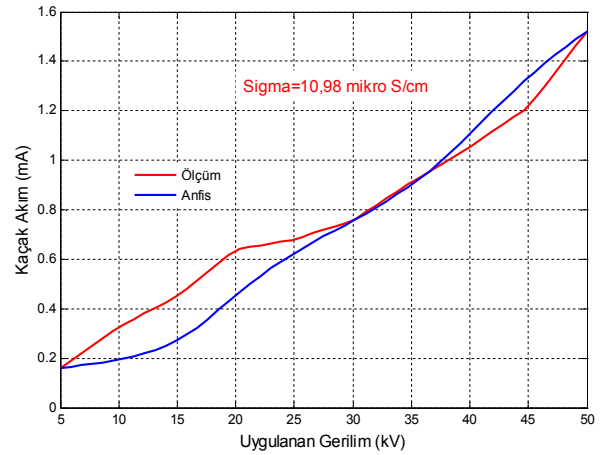


Şekil 3. %60 nem ve $\sigma=17,8 \mu\text{S/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonuçları

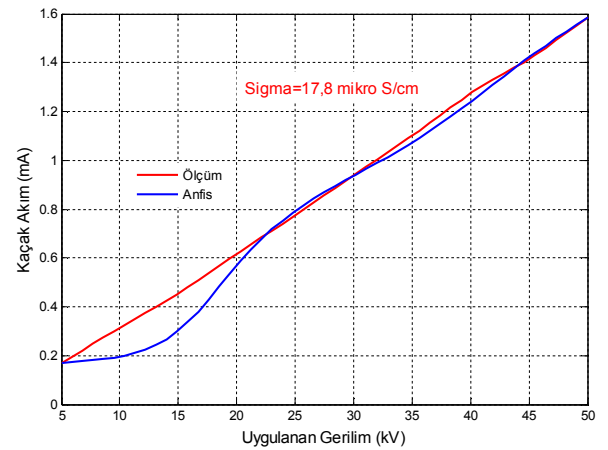
Şekil 4, 5 ve 6'da %85 nem ortamı için ölçülen ve tahmin edilen değerler gösterilmektedir. Nem oranı arttığında kaçak akım seviyesinin de arttığı görülmektedir. Öz iletkenlik değeri arttıkça kaçak akım artımı, lineer bir değişimden lineer olmayan bir değişime doğru kaymaktadır. $\sigma=3,32$ mikro S/cm değerinde ölçüm sonuçları doğrusal bir yapıya sahipken, $\sigma=10,98$ mikro S/cm değerinde ölçüm sonuçları doğrusal olmayan bir değişime sahiptir. Ölçüm sonuçlarının doğrusal olmaması, ölçüm ve tahmin sonuçları arasındaki hatayı artırmaktadır.



Şekil 4. %85 nem ve $\sigma=3,32 \mu\text{S/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonuçları



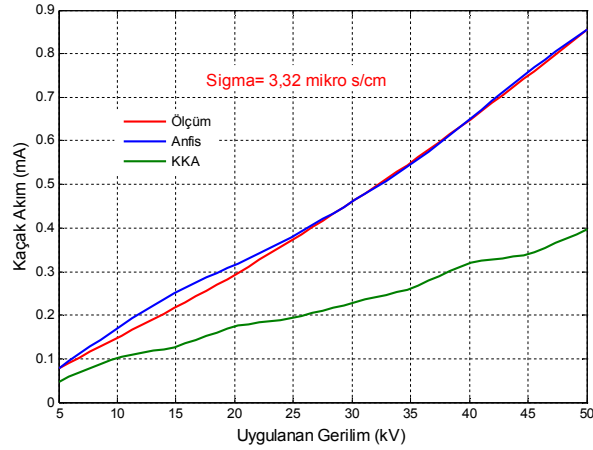
Şekil 5. %85 nem ve $\sigma=10,98 \mu\text{S/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonuçları



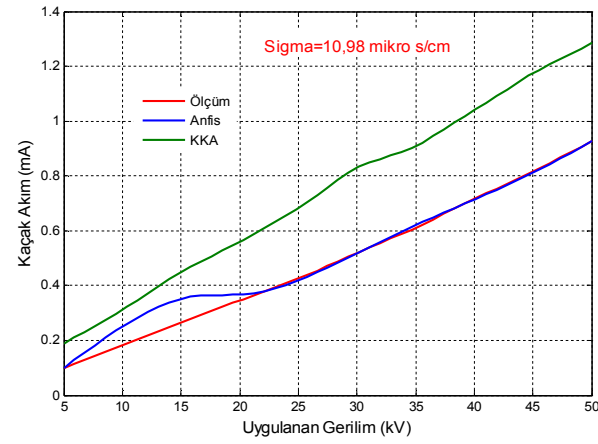
Şekil 6. %85 nem ve $\sigma=17,8 \mu\text{S/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonuçları

Şekil 7,8 ve 9'da farklı öz iletkenlik değerlerinde kuru durum için ölçüm, Anfis ve KKA ile hesaplanan kaçak akım değerleri gösterilmektedir. KKA hesaplama hataları öz iletkenlik değerlerine bağlı olarak değişim göstermektedir. $\sigma=3,32 \mu\text{S/cm}$ ve $\sigma=10,98 \mu\text{S/cm}$ öz iletkenlik değerlerinde hata değerleri benzer olmakla birlikte hata işaretleri farklıdır. $\sigma=10,98 \mu\text{S/cm}$ öz iletkenlik değerinde ise hata değerinin daha da arttığı görülmektedir. Anfis yöntemi,

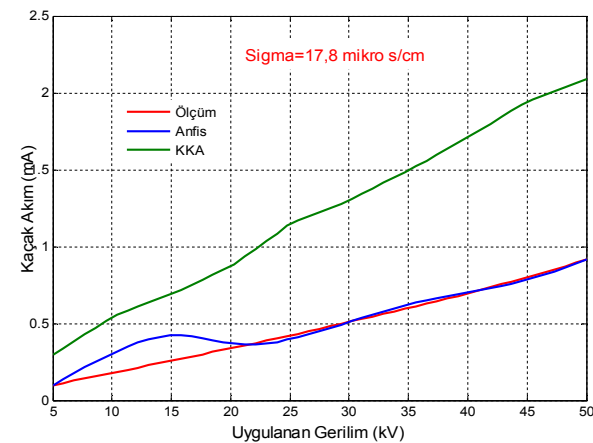
KKA hesaplamalarına göre daha iyi sonuçlar vermekte ve ölçüm sonuçlarına yakın değerler elde etmektedir. Uygulanan gerilim ve öz iletkenlik değerlerindeki farklılıklar hata payını fazla etkilememektedir.



Şekil 7. Kuru durum ve $\sigma=3,32 \mu\text{s/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonucları



Şekil 8. Kuru durum ve $\sigma=10,98 \mu\text{s/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonucları



Şekil 9. Kuru durum ve $\sigma=17,8 \mu\text{s/cm}$ değeri için akım ve gerilime bağlı ölçüm ve hesaplama sonucları

4. Sonuç

İzolator yüzeyinden akan kaçak akımların bulunması, lineer olmayan, birçok değişkene bağlı ve çözülmesi zor bir problemdir. Literatürde yüzey kaçak akım hesaplamalarına

yönelik birçok yöntem bulunmasına rağmen, bu yöntemler farklı çalışma koşulları ve izolator şekilleri için tutarlı sonuçlar vermemektedir. Ölçüm sonuçları ile eğitilen sezgisel yöntemler benzer problemlerin çözümünde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada izolator yüzeyinden akan kaçak akımlar Anfis yöntemiyle hesaplanmakta ve elde edilen değerler ölçüm ve KKA yöntemiyle bulunan hesaplama sonuçlarıyla karşılaştırılmaktadır. Farklı kir direnci ve uygulama gerilimlerinde Anfis yönteminin ölçüm sonuçlarına yakın değerler bulduğu ve KKA hesaplama sonuçlarına nazaran daha tutarlı olduğu analiz sonuçlarında görülmektedir. Farklı kir dirençlerinde KKA yöntemiyle hesaplanan değerlerin doğruluk oranı değişse de Anfis yöntemiyle bulunan değerlerin, ölçüm sonuçlarını ihmal edilebilir bir hatayla takip ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Anfis yönteminin farklı çevre koşulları ve uygulama gerilimi aralığında meydana gelen yüzey kaçak akımlarının hesabında etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

Referanslar

- [1] Wilkins R., Flashover Voltage of HV Insulators with Uniform Surface pollution Films, Proceedings of the IEEE, 116 (3): 457-465,1969.
- [2] Alston L.L., Zoledziowski S., Growth of Discharges on Polluted Insulation, Proceedings of the IEEE, 110: 1260-1266,1963.
- [3] Hampton B.F., Flashover Mechanism of Polluted Insulation, Proceedings of the IEEE, 111: 985-990, 1964.
- [4] Rizk F.A.M.,Rezzazada, A.Q., Modeling of Altitude Effects on AC Flashover of Polluted High Voltage Insulators, IEEE Transactions on Power Delivery, 12 (2),1997.
- [5] Bendapudi S.R., Flashover Voltage of Contaminated Insulators, Conference Record of the 1988 IEEE International Symposium on Electrical Insulation, Boston, 1988.
- [6] Kobayashi S., Matsuzaki Y., Arashitani Y.,Kimata, R., Development of Composite Insulators for Overhead Lines (Part 2), Furukawa Review, 21: 56-61, 2002.
- [7] Rumeli, A. Yüksek Gerilim izolatorlerinin kirlenme atlama gerilimlerinin hesaplanması, 168s, 1973.
- [8] Sundararajan R., Gorur R.S., Dynamic Arc Modeling of Pollution Flashover of Insulators Under DC Voltage, IEEE Transactions on Electrical Insulation, 28(2): 209-218,1993.
- [9] Schütz A. Besold, P., Reliability and economic advantages of silicon rubber insulators, Ceramtec AG, Germany, 1995.
- [10] Hackam R., Outdoor HV composite polymeric insulators, IEEE Transaction on Dielectric and Electrical Insulation, 6(5): 557-585, 1999.
- [11] Kontargyri V.T., Gialketsi A.A., Tsekouras G.J., Gonos I.F., Stathopoulos I.A., Design of an artificial neural network for the estimation of the flashover voltage on insulators, Electrical Power System Research, 77: 1532-1540, 2007.
- [12] Aydogmus Z., A neural network-based estimation of electric fields along high voltage insulators. Expert Systems with Applications, 36: 8705-8710, 2009.

- [13] Gencoglu M.T., Cebeci M. Investigation of pollution flashover on high voltage insulators using artificial neural network, *Expert Systems with Applications*, 36: 7338-7345, 2009.
- [14] Asimakopoulou G.E., Kontargyri V.T., Tsekouras G.J., Elias C.N., Asimakopoulou F.E., Stathopoulos I.A., A fuzzy logic optimization methodology for the estimation of the critical flashover voltage on insulators. *Electrical Power System Research*, 81: 580-588, 2011.
- [15] Ozturk D., Cebeci M., Calculation of surface leakage currents on high voltage insulators by ant colony algorithm-supported FEM. *Turk J Elec Eng & Comp Sci*, 23(4): 1009-1024, 2015.
- [16] SarkheyliA., ZainA.M., SharifS., Robust optimization of ANFIS based on a new modified GA, *Neurocomputing*, 166:357-366, 2015.
- [17] Öztürk D., İzolatör yüzey kaçak akımlarının karınca koloni algoritması yardımıyla incelenmesi, Fırat Üniversitesi, Doktora Tezi, 2012.



An investigation of microstructure of the worn surfaces on drum in brake systems

Muzaffer Erdoğan¹, İbrahim Yavuz¹, Ali Erçetin*²

Abstract

Every vehicle in motion has a kinetic energy. In order to control this motion, brake systems are used in vehicles. Brake systems are utilized so as to slow down the speed of moving vehicle or to stop it when desired. Many brake systems have been developed with development of technology until today. One of them is drum brake system. In this study, damaged material is heavy vehicle drum brake system. According to spectral analysis results of the material, optical microscope images of microstructure and hardness values were obtained. At the first visual inspection of the drum brake system, part integrity preserved, however due to long-continued and hard working conditions, fatigue, wear and due to intense corrosion, metal erosion were determined. Failure analysis was made by comparing the data obtained from experimental results with literature information.

Keywords: Brake drum; brake wheel mechanism; microstructure; hardness

Fren sistemlerindeki kampananın aşınmış yüzeylerinin mikroyapı incelemesi

Özet

Hareket halindeki her taşıtın sahip olduğu bir kinetik enerjisi bulunmaktadır. Bu hareketin kontrolünü sağlayabilmek için araçlarda fren sistemleri kullanılmaktadır. Fren sistemleri hareket halindeki aracın hızını yavaşlatmak veya istenildiğinde aracın durmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Günümüze kadar teknolojinin de gelişmesiyle birçok fren sistemi geliştirilmiştir. Bunlardan birisi de kampana fren sistemidir. Bu çalışmada, hasara uğramış malzeme, ağır vasıta kampana fren sistemidir. Malzemenin, spektral analiz sonuçlarına göre iç yapının optik mikroskop görüntüleri, sertlik değerleri elde edildi. Kampanalı fren sisteminin, gözle yapılan ilk muayenesinde parça bütünlüğünün korunduğu fakat uzun süreli ve sert çalışma koşullarından ötürü yorulma, aşınma ve yoğun korozyona bağlı metal erozyonu tespit edilmiştir. Deneysel sonuçlardan elde edilen veriler, literatür bilgileri ile karşılaştırılarak hasar analizi yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fren kampanası; fren teker mekanizması; mikroyapı; sertlik

1. Introduction

Brake is an instrument that is utilized to stop the motion of an object or slow its motion down. Most of brakes absorb kinetic energy via mechanical, hydro dynamical or electrical means by affecting on rotating mechanical parts. In the most common brake type mechanical brakes, the kinetic energy is wiped out through converting it to heat. In these mechanisms, friction is generated by means of a static friction element, hydraulics or pneumatics pressing on a rotating drum. When resistance or a friction is applied to a rotating wheel, vehicle brake system causes wheels to slow down and finally stop. During this heat process, brake temperature results in going up. There are factors determining deceleration of a vehicle,

and pressure distribution on the braking surface area [1-4]. When pressing the brake pedal, the pressure developed in the master cylinder is transmitted to brake wheel cylinders through pipes. Wheels push pressurised hydraulic pistons filled in their cylinders outwards. Pistons transmit received thrust to brake shoes via pushrods. Brake shoes recline balatas on drum by opening against drum and thus braking is provided thanks to the effect of occurring friction. As we release our foot from brake pedal, brake shoes move away from drum via return springs connected to brake shoes. Hence, braking mechanism gets ready for a new braking [5].

Arpat [6], in his study, investigated the amount of wear took place in the balata because of increasing heat on the friction surface of balatas in drum or disk brake systems for loaded light and heavy commercial vehicles as a result of frequently braking. In addition, Arpat determined that wearing in the balata decreases with decreasing heat while braking. Mosleh [7], in various speeds, wear and friction behaviors in the balatas subjected to braking were

¹ Afyon Kocatepe University, Faculty of Technology, Department of Automotive Engineering, 03200 Afyonkarahisar, Turkey

² Bingöl University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Mechanical Engineering, 12000 Bingöl, Turkey

* Corresponding author E-mail: aliercetin@bingol.edu.tr

which are vehicle weight, braking force, friction coefficient

investigated and investigations about tribological properties of corrosive materials were made by Mosleh. Characteristics of brake material were established in experimentally performed tests. Depending on differentness of brake materials, it was determined that change in wearing rate is low and change in wearing rate depends upon high slip velocities. Thermoelastic irregularity that formed from heat due to the friction during braking was described by Hwang. Change of temperature and temperature strain under full braking and repetitive braking was tackled through finite elements method [8]. Wear and cracks even fractures can occur on the drum in time as a result of extreme friction drum exposed. In this study, spectral analyses, hardness and optical microscopy inspections were conducted on the damaged drum which belongs to the heavy vehicle.

2. Material and Method

A piece of sample was taken from the worn surface of the damaged drum by cutting with a jet of water. Then, this piece was emiered with number 240, 320, 600, 800, 1000 and 1200 emery papers and subjected to polishing process with Al_2O_3 . Subsequently, particles and emery paper marks on the material were minimized by ultrasonic bath. Lastly, the sample was subjected to the etching process by proper etchant and inspected by the optical microscope. In order to examine the worn surface of the sample and the cleaned surface of the sample, SEM images were taken by Leo 1430 VP model SEM device. Later, hardness measurement was carried out by vickers hardness measurement device (Shimadzu brand).

3. Findings and Discussion

3.1. Mechanical and Chemical Properties

First observations associated with drum;

- Became unusable because of damage
- Depending on working, fatigues, crushes, wears, deep cavities, cracks and corrosion on the surface of balatas contacting with drum were observed (Fig. 1). Thus, these defects caused deterioration and loss of function in the most of the structure.

Hardness values of gray cast irons are average of approximately 210 HV in the literature review and this hardness changes with material composition [9]. In order to measure hardness value of the drum material, vickers hardness measurement method was used under 980 N load. The determined average hardness value of 198HV was measured.

As a result of the performed spectral analysis, it was determined that when we examined chemically internal structure of the specimen, element ratios in the internal structure were % 3.73 C , % 2.25 Si , % 1.01 Mn and the specimen contained other additive elements at various rates in itself (Table 1). When examined containing carbon ratio, it is understood that drum is manufactured from cast iron. In other words, it is Fe-C-Si alloy and generally contains % 2.5-4.5 C ve % 1-3.5 Si.

Table 1. Chemical composition of the damaged component

C	Si	Mn	P	S
3.73	2.25	1.01	0.0313	0.0347
Cu	Cr	Ti	Ni	Fe
0.187	0.162	0.0132	0.0102	92.5

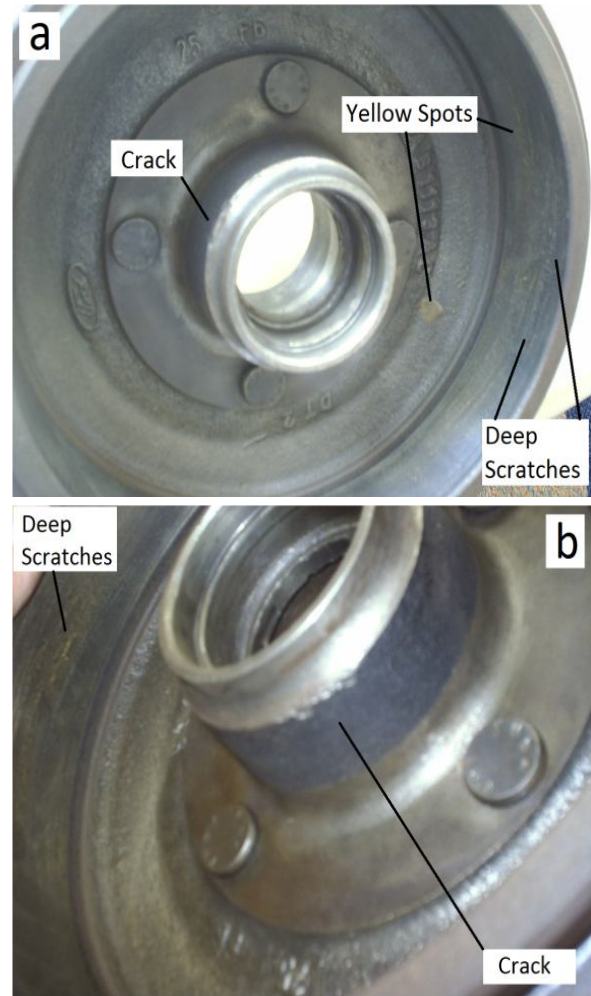


Fig. 1. The image of damaged drum in brake system (a, b)

Cast irons are ferrous cast alloys which include at least % 2.5 carbon. Based on chemical composition ratios, it is understood that the damaged component was manufactured from grey cast iron [10,11]. In general, gray cast irons contain between %1.7 and %4.5 carbon and between %1 and %3 silicon. Grey cast iron known as lamellar graphite cast iron as well consists of Fe-C-Si alloys and in the structure of which, lamellar shape graphite is material of iron-carbon content.

Chemical compositions that are specified in (Table 1) are the effects on microstructure of grey cast iron and carbon and silicon are the most effective ones among them. It is a material that has a high thermal conduction and high vibration damping feature. Grey cast iron cools quicker by enabling to scatter emerging heat during braking.

3.2. Optical Microscopy Analysis

When internal structure of the drum is analyzed, it is seen lamellar graphite grey cast iron as material (Fig. 2a, 2b). Graphite flakes spread homogeneously in the structure. These graphite flakes exist in the structure of the thick section of casting parts. Ferrites exist around raster data structure primarily pearlite graphites. It is considered that graphite lamellars are seen as thick lines and stresses concentrate at these points.

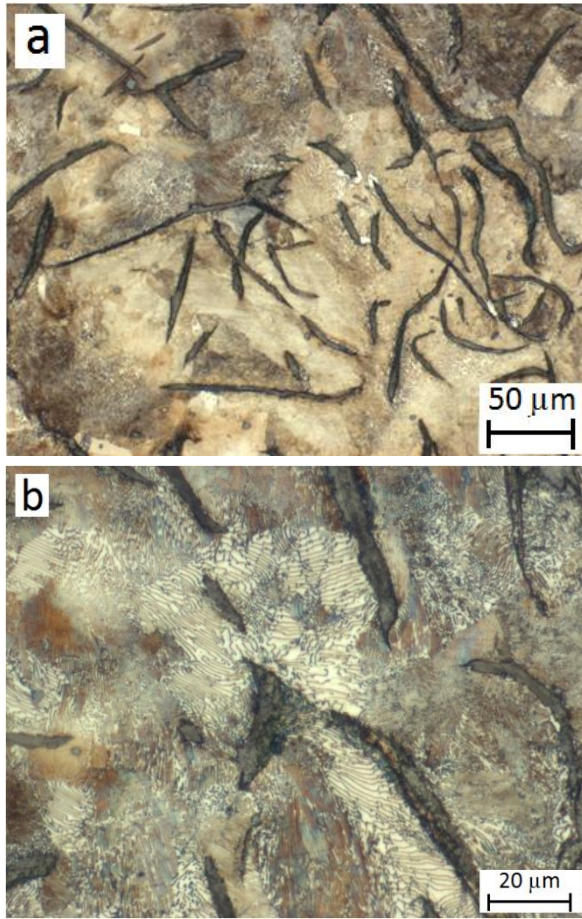


Fig. 2. The optical image of the drum material; a) 200x, b) 500x

3.3. SEM Analysis

After the specimen was passed from preparation stages, it was made prepared so as to be inspected by electron microscope. According to the specimen structure, changing vacuum time was waited. This time was average of 30 minutes. SEM image of worn surface of the taken specimen was shown in the (Fig. 3). Cavities were seen on the worn surface.

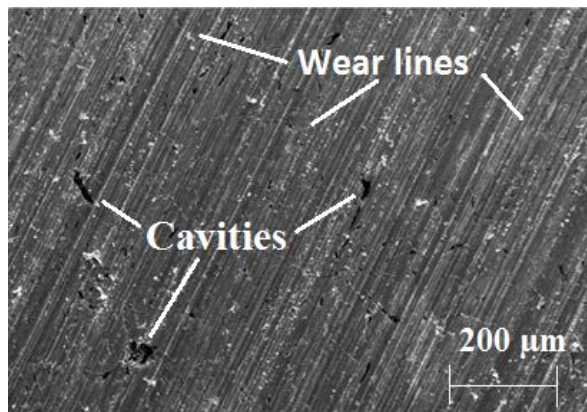


Fig. 3. The SEM image of worn surface of the drum material, 100x

In the Fig. 4, when SEM image of the cleaned surface of the material was examined, the material seen consisted of lamellar graphite grey cast iron. Curled black lines are lamellar graphites distributed regularly in the structure.

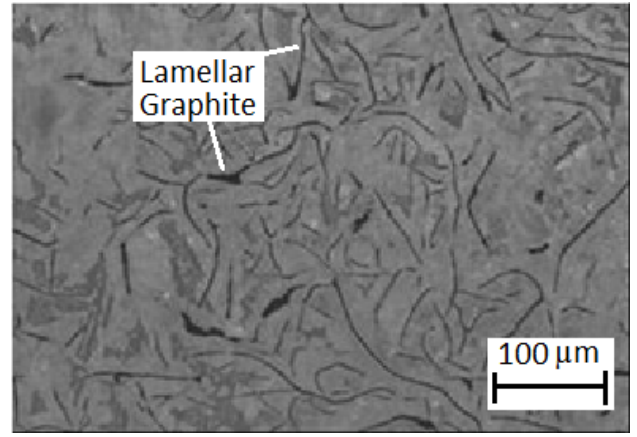


Fig. 4. The SEM image of the cleaned surface of the drum material, 200x

4. Conclusion

There is not fault in the design and material structure. It was determined that manufacturing and assembling were proper. However, fatigue, corrosion, stress corrosion cracking, friction, wear and distortion defects occurred since appropriate working conditions could not be provided.

As a result of investigations made, yellow-spotted structures have been found in the section where balata contacts with drum. These yellow-spotted structures took place because of the heat arising from friction during braking. Furthermore, deep scratches seen in the contact points show that as a consequence of lining wear, brake shoes contact with drum and remove metal pieces from surface due to the effect of the friction. These removed metal pieces entered between balata and drum during relative motion each other between balata and drum. Hence, Abrasive type wear appeared. It is considered that balatas were not renewed in time, which led to this situation. Deep scratches and cavities occurred on the surface of the drum prevented damaged the drum from being in the range of turning.

References

- [1] Day A.J., Drum brake interface pressure distribution, Proc ImechE, 205:127–36, 1991.
- [2] Day A.J., Tirovic M, Newcomb T.P. Thermal effects and pressure distribution in brakes, Proc ImechE, 205:199–205, 1991.
- [3] Scieszka S.F., Barecki Z. Geometry of contact between brake shoe and drums, South Africa Mech Eng, 5: 324–329, 1984.
- [4] Singh O.P., et al. Thermal seizures in automotive drum brakes, Engineering Failure Analysis, 17, 1155–1172, 2010.
- [5] Ministry of Education, Motor Vehicle Technology. http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/modulle_r_pdf/Fren%20Sistemleri.pdf 11.09.2015
- [6] Arpat S.K. Minimization Of The Pad Wear On Both Drum And Disc Brakes By Thermal Analysis, Dokuz Eylül Üniv. Fen Bilimleri Enst. (Yüksek Lisans Tezi), İzmir, 2001.
- [7] Mosleh M., Blau P. J., Dumitrescu D. Characteristics and Morphology of Wear Particles from Laboratory Testing of Disk Brake Materials, Wear, 352, 114-120, 2003.

- [8] Hwang J.H., et all. The Thermal Analysis of Brake Disc with 3-D Coupled Analysis, Key Engineering Materials Vols. 297-300: 305-310, 2005.
- [9] MatWeb Material Property Data, Automotive Gray Cast Iron.
<http://www.matweb.com/search/datasheet.aspx?MatG UID=327ac372d4d2493585748b45ae02ed52> 08. 01. 2014.
- [10] Aran A., Meta Casting Technology, Istanbul Technical Univ. Library, 1395, 1989.
- [11] Ersmer A., Iron Casting, Birsen Bookstore Publications, Istanbul, 1981.



Composition and antioxidant capacity of the essential oils of *Alyssum pateri* Nyár subsp. *prostratum* (Nyár) Dudley (Brassicaceae)

Mehmet Kadir Erdogan*¹, İbrahim Halil Geçibesler², Lütfi Behçet¹

Abstract

The aim of this study was examined the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil from the aerial parts of *Alyssum pateri* Nyár subsp. *prostratum* (Nyár) Dudley, which growing in Turkey. The essential oil of aerial parts of *A. pateri* subsp. *prostratum*, which belongs to Brassicaceae family, was obtained by hydrodistillation method and analyzed by HS-SPME/GC-MS. Forty one compounds were identified, which representing 92.84% of the oil. Among them 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (22.09%), 1,8-cineole (11.91%), thiobis-methane (6.43%), 2,6,10-trimethylpentadecane (6.05%) and hexadecane (4.19%) were the major constituents of the oil. The antioxidant activity of essential oil from *A. pateri* subsp. *prostratum* was evaluated by Superoxide Anion (O₂⁻) Scavenging Activity (SASA), Free Radical Scavenging Activity (FRSA), Metal Chelating Power (MCP) methods and IC₅₀ values. The results of antioxidant activity were compared with BHA, BHT, Vit.E and EDTA.

Keywords: *Alyssum*; Brassicaceae; essential oil; HS-SPME/GC-MS; antioxidant

Alyssum pateri Nyár subsp. *prostratum* (Nyár) Dudley (Brassicaceae)'in uçucu yağ kompozisyonu ve antioksidan kapasitesi

Özet

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de yetişen *Alyssum pateri* Nyár subsp. *prostratum* (Nyár) Dudley bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonunun ve antioksidan aktivitesinin incelenmesidir. Brassicaceae familyasına ait olan *A. pateri* subsp. *prostratum* bitkisinin toprak üstü kısmı uçucu yaği hidrodistilasyon yöntemiyle elde edildi ve HS-SPME/GC-MS ile analiz edildi. Uçucu yağın %92.84’ünü temsil eden kırk bir bileşik tanımlandı. Bunlar arasında 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon (%22.09), 1,8-sineol (%11.91), tiobis-metan (%6.43), 2,6,10-tetrametilpentadekan (%6.05) ve hegzadekan (%4.19) uçucu yağın ana bileşenleri olarak bulundu. *A. pateri* subsp. *prostratum* uçucu yağının antioksidan aktivitesi Süperoksit Anyon (O₂⁻) Radikalı Giderme Aktivitesi (SASA), Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi (FRSA), Metal Şelatlama Gücü (MCP) yöntemleri ve IC₅₀ oranları ile değerlendirildi. Antioksidan aktivite sonuçları BHA, BHT, Vit.E ve EDTA ile karşılaştırıldı.

Anahtar Kelimeler: *Alyssum*; Brassicaceae; uçucu yağ; HS-SPME/GC-MS; antioksidan

Abbreviations: AEOs: Essential oils of *Alyssum pateri* Nyár subsp. *prostratum* (Nyár) Dudley; BHA: butylated hydroxyanisole; BHT: butylated hydroxytoluene; Vit. E: Vitamin E; EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid; SASA: Superoxide anion (O₂⁻) radical scavenging activity; FRSA: DPPH· free radical scavenging activity; MCP: metal chelating power; FeCl₂: Iron (II) chloride; DPPH·: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; NADH: nicotinamide adenine dinucleotide; PMS: phenazine methosulfate; NBT: nitroblue tetrazolium.

1. Introduction

Brassicaceae (Cruciferae) family is widely distributed in the world with 350 genera and about 3500 species [1]. The species of this family are consumed by people all over the world as food, spices and as a source of vegetable oils [2,3]. Brassicaceae species are contain many health-promoting phytochemicals such as minerals, fat, vitamins, phenolic compounds and soluble sugars [4]. Several studies

showed that extracts of the different species of Brassicaceae reduce the oxidative damage and have anticarcinogenic, antioxidant, antimicrobial, antiinflammatory effects [5]. There is a growing interest in determining the phytochemicals and valuable compounds of herbs [6]. The genus *Alyssum*, which belongs to Brassicaceae family, is annual, biennial or perennial herbs and distributed in different regions of Turkey. *A. pateri* subsp. *prostratum* is suffrutescent perennial with sparsely foliate, procumbent or decumbent, fertile shoots up to 20 cm and numerous

¹ Bingöl University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 12000 Bingöl, Turkey

² Bingöl University, Health College, Laboratory of Natural Product Research, 12000 Bingöl, Turkey

*Corresponding author E-mail: mehmetkadirerdogan@gmail.com

conferted sterile shoots, stems reddish, with sparse, deciduous indumentum [7]. In this paper we report the composition and antioxidant activity of the essential oil from the aerial parts of *A. pateri* subsp. *prostratum* collected from the east part of Turkey.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

A. pateri subsp. *prostratum* was collected during April 2014, from natural populations around the province of Bingol in Turkey (38°89'673"N, 40°40'713"E, 1650 m). The plant material was identified with volume 1 of Flora of Turkey and East Aegean Islands and was deposited in the Herbarium of the Department of Biology, University of Bingol, Turkey (VoucherNo: BIN-HER-391) [7].

2.2. Isolation of essential oil

Finely dry powdered aerial parts of *A. pateri* subsp. *prostratum* (200 g) were subjected to hydrodistillation using Clevenger-type apparatus for 4 h. The obtained oil was collected, dried over anhydrous sodium sulphate and was stored in vials at low temperature prior to analysis.

2.3. GC-MS analysis

Analysis of the essential oil was performed using a gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) Agilent 5975C series GC/MSD with Triple-Axis HED-EM detector (Agilent Technology Inc., Santa Clara, CA, USA), equipped with HP-5 MS capillary column packed with fused silica (30 m×0.25 mm i.d., 0.25 µm film thicknesses) and interfaced with a HP chemstation. Helium was carrying gas and flow rate of helium was 1 mL/min. Oven temperature was programmed, 60 °C (1 min, isothermal) to 246 °C (3 min, isothermal) at 3 °C/min. The temperature of injector was 250 °C and for detector it was 300 °C. The ionization energy was 70 eV. Identification of the constituents was based on computer matching against commercial Mass Finder 2.1 Library, Wiley and MS literature data [8]. All the analysis were performed in triplicate.

2.4. HS-SPME procedure

The extraction of volatile compounds was carried out by HS-SPME (headspace solid phase microextraction) method using a DVB/CAR/PDMS fiber, with 50/30 µm film thickness; before the analysis the fiber was preconditioned in the injection port of the GC as indicated by the manufacturer. 6.0 g of the grounded and homogenized sample was weighed into a 40 mL vial and suspended in 14.5 mL; the vial was equipped with a “mininert” valve (Supelco, Bellafonte, PA, USA). The vial was kept at 35 °C with continuous internal stirring and the sample was left to equilibrate for 30 min; then, the SPME fiber was exposed for 40 min to the headspace while maintaining the sample at 35 °C. After sampling the SPME fiber was introduced into the GC injector, and was left for 3 min to allow the analytes thermal desorption. In order to optimize the technique, the effects of various parameters, such as sample volume, sample headspace volume, sample heating temperature and extraction time, were studied on the extraction efficiency as previously reported by Verzera et al [9]. Each measurement was repeated in triplicate.

2.5. Superoxide Anion (O₂^{•-}) Scavenging Activity (SASA)

The scavenging activity of the samples against superoxide anion radicals was measured by Liu et al., with a slight modification [10]. Briefly, 100 µL of the various concentrations (50–300 µg/mL) of AEOs and Vit. E (used as reference compound) solution were mixed with 3 mL of phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4) containing 1 mL of NBT (0.3 mM) solution, 1 mL of NADH (1 mM) solution. The reaction mixtures were initiated by addition of 1 mL of PMS (120 µM). After incubation at 25 °C for 10 min, the absorption was recorded at 560 nm with UV–visible spectrophotometer. Control solution (without sample) was prepared as described above. All the compounds and positive control were run in triplicates. The superoxide anion (O₂^{•-}) scavenging activity was calculated as can be seen in Equation 1:

$$\text{Scavenging Activity (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

where A₀ was the absorption of the control and A₁ was the absorption of the sample or positive control.

2.6. Free Radical Scavenging Activity (FRSA)

Hydrogen atom or electron-donation ability of the samples was measured from the bleaching of the purple-coloured methanol solution of DPPH[•]. The free radical-scavenging activity was evaluated as described by Ardestani and Yazdanparast, with a slight modification [11]. Various concentrations (75–375 µg/mL) of the AEOs and reference compounds were prepared and each of them (1 mL) was mixed with 1 mL of 0.4 mM freshly prepared methanolic solution containing DPPH[•] radicals. The resulting solutions were then left to stand at room temperature for 30 min prior to being spectrophotometrically detected at 517 nm. The solution without adding the DPPH[•] solution served as a blank.

The percentage of DPPH[•] scavenging activity was calculated in the form of Equation 2:

$$\% \text{ DPPH}^{\bullet} \text{ Scavenging Activity} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (2)$$

where A_c was the absorption of the control and A_s was the absorption of the sample or positive control.

2.7. Metal Chelating Power (MCP)

The ferrous chelating capacity of AEOs and the reference compounds (EDTA and Vit. E) was conducted following the method used by Decker and Welch, with slight modifications [12]. 2 mL of samples of concentration labeling between 55 and 275 µg/mL were added to 50 µL of 2 mM FeCl₂ and well mixed. The reaction mixture was incubated in laboratory conditions. The reaction occurred by the addition of 100 µL 5 mM ferrozine. After 10 min of incubation period, the absorbance of the solution was measured at 562 nm using a UV–visible spectrophotometer. For the ferrous-chelating activity, IC₅₀ values were calculated using the equation as described above was used for DPPH[•] free radical scavenging activity.

2.8. Statistical analysis

All experiments were carried out in triplicate. Data were expressed as means ± SD (standard deviation). A one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's post test was used for comparison between the ruthenium complexes and standard compounds. A difference was considered statistically significant when *p* < 0.05. All the

statistical analyses were accomplished using the computer software SPSS 16 for Windows.

3. Results and Discussion

The chemical composition and antioxidant activity of the essential oil from the aerial parts of *A. pateri* subsp. *prostratum* was studied. Forty one compounds representing 92.84% of the oil were identified. The main constituents of each oil, their retention times and percentages are summarized in Table 1.

The major compounds of AEOs were 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (22.09%), 1,8-cineole (11.91%), thiobis-methane (6.43%), 2,6,10-trimethylpentadecane (6.05%) and hexadecane (4.19%). Other components (<4.0 and > 1.30 %) identified in the oil were 1-butanol (3.71 %), ionone (2.57 %), naphthalene (1.84 %), β-citronellol (1.44 %), docosane (1.44 %), cyclopentane (1.43 %), palmitic acid (1.42 %), camphor (1.39 %), caryophyllene (1.35 %), 4-(methylthio) butanenitrile (1.34 %) and dihydropseudoionone (1.33 %). Also from isolongifolene (0.97 %) to n-octadecane (0.72 %) and oxirane, tridecyl (0.72 %), many minor compounds (<1.0 %) were identified in the oil.

Table 1. Essential oil composition of *A. pateri* subsp. *prostratum* (%)

No.	RT*	Compound	Percentage
1	7.891	Thiobis- methane	6.43
2	7.936	Cyclopentane	1.43
3	8.199	1-butanol	3.71
4	8.893	Pentanal	0.93
5	8.996	2-methyl, butanal	1.28
6	10.306	Hexanal	1.23
7	13.053	α-pinene	1.22
8	13.808	Camphene	1.03
9	14.489	γ-Terpinene	0.87
10	15.015	Furan, 2-pentyl	1.01
11	15.364	Cyclopropane, 1,1-dimethyl-2	0.74
12	16.623	p-cymene	1.02
13	16.835	1,8-cineole	11.91
14	19.318	Nonanal	0.94
15	19.959	2-nonyne	0.77
16	20.463	β-thujone	0.87
17	20.926	β-pinene	0.74
18	21.126	4-(methylthio) butanenitrile	1.34
19	21.990	Camphor	1.39
20	22.391	n-decanal	0.76
21	22.837	α-terpineol	0.83
22	23.615	Safranal	0.73
23	24.159	Tetradecamethyl cycloheptasiloxane	0.74
24	24.931	Bornyl acetate	0.74
25	25.338	Sulfurous acid	0.74
26	32.105	Tetradecane	1.27
27	34.125	Hexadecane	4.19
28	34.486	Naphthalene	1.84
29	35.796	Caryophyllene	1.35
30	37.072	Dihydropseudoionone	1.33
31	37.474	Oxirane, tridecyl	0.72
32	37.834	n-octadecane	0.72
33	39.235	Ionone	2.57
34	43.046	Isolongifolene	0.97
35	48.894	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	22.09
36	51.183	Palmitic acid	1.42
37	51.543	Phthalic acid	1.29
38	51.715	β-citronellol	1.44
39	55.727	Adipic acid	0.75
40	55.880	2,6,10-trimethylpentadecane	6.05
41	63.141	Docosane	1.44
		Total (%)	92.84

*Retention Time

IC50 values for SASA, MCP and FRSA are shown in Table 2. The values of IC50 for superoxide anion (O₂^{•-}) scavenging activity was 153.01±1.46µg/mL (AEOs),

100.67±0.88µg/mL (BHT) and 40.58±0.57µg/mL (Vit. E), respectively (p < 0.05). IC50 value of AEOs for metal chelating activity was 389.23±0.86µg/mL which is higher than the control and positive standards BHT (IC50 = 205.57±1.36µg/mL), Vit. E (130.05±1.32µg/mL) and EDTA (IC50 = 30.63±0.87µg/mL) (p < 0.05).

The amount of sample to scavenge the 50% of DPPH• radical in test solution were; 730.72±2.32 µg/mL (AEOs), 280.86±1.23 µg/mL (BHT), 200.07±2.07 µg/mL (Vit. E) and 96.50±3.17 µg/mL (BHA), respectively (p < 0.05).

Table 2. IC₅₀ values of AEOs and positive controls on different antioxidant activity parameters

	IC ₅₀ (µg/mL)		
	SASA	MCP	FRSA
AEOs	153.01±1.46 ^c	389.23±0.86 ^d	730.72±2.32 ^d
BHT	100.67±0.88 ^b	205.57±1.36 ^c	280.86±1.23 ^c
VIT. E	40.58±0.57 ^a	130.05±1.32 ^b	200.07±2.07 ^b
BHA	NT	NT	96.50±3.17 ^a
EDTA	NT	30.63±0.87 ^a	NT

Results are expressed as means ± standard errors of three replications determinations.

a-d: Differences within columns (samples not connected by the same letter are statistically different at p < 0.05).

IC₅₀: Concentration in micromole per liter required to inhibit radical formation by 50%.

NT: not tested.

The superoxide anion (O₂^{•-}) radical scavenging activity of various amounts of AEOs, BHT and Vit. E (50, 100, 150, 200, 250 and 300 µg/mL) are shown in Fig 1. At concentration of 300 µg/mL, AEOs showed a close scavenging activity to BHT, but Vit. E exhibited the highest scavenging activity. At the same concentration (300 µg/mL), the superoxide anion (O₂^{•-}) radical scavenging activity of AEOs, BHT and Vit. E were 70.27%, 78.50% and 93.01%, respectively.

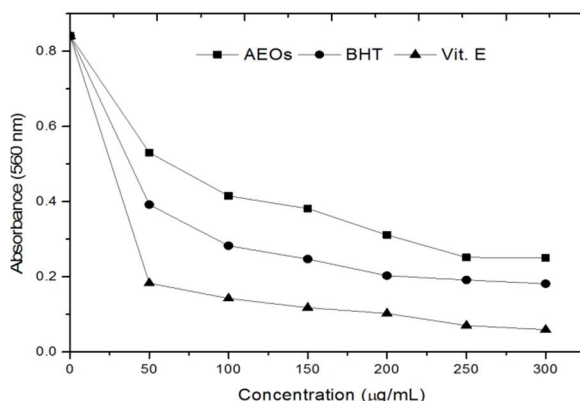


Fig 1. Superoxide anion (O₂^{•-}) radical scavenging activity of AEOs, BHT and Vit. E

The metal chelating power of various concentrations of AEOs, BHT, Vit. E and EDTA is presented in Fig 2. Significant differences in the chelating power were observed amongst the samples. At a concentration of 275 µg/mL, the chelating power of ferrous ions was following order; EDTA (97.44%), Vit. E (69.82%), BHT (50.37%), and AEOs (32.46%).

To evaluate the free radical scavenging activity of AEOs, concentration-dependent assay was performed and comparative results are shown in Fig 3. The rising concentration was increased the scavenging activity. At all concentrations which tested, AEOs showed the lower scavenging activity on the DPPH• radical than BHT, Vit. E and BHA. When 375 µg/mL concentrations tested, AEOs,

BHT, Vit. E and BHA scavenged the DPPH· radical following ratio; 26.34%, 52.29%, 63.20% and 89.23%.

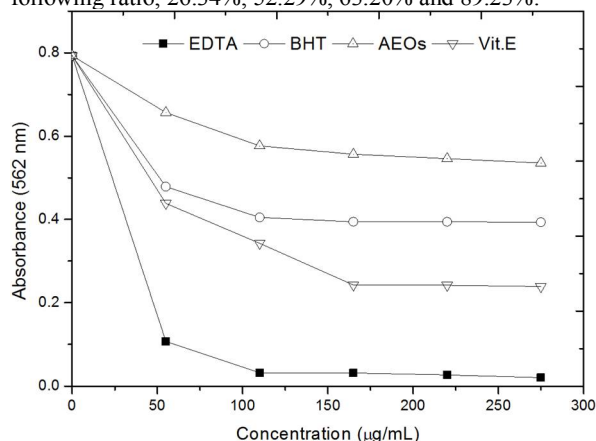


Fig 2. Metal chelating power of AEOs, BHT, EDTA and Vit. E

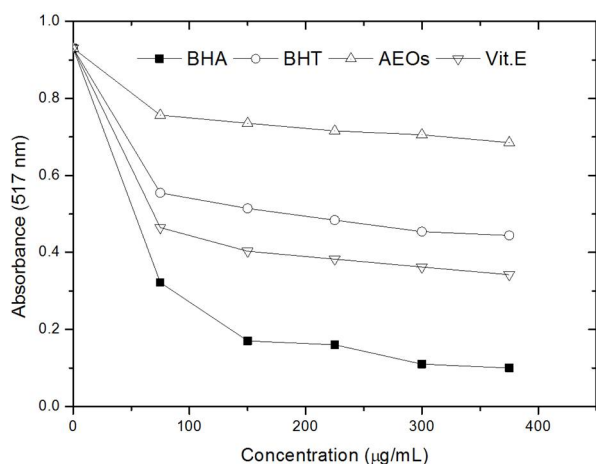


Fig 3. DPPH· free radical scavenging activity of AEOs, BHT, BHA and Vit. E

Maghsoudlou et al. (2014), analyzed the essential oil of *Alyssum maritimum* by GC/MS and was identified the *Alyssum maritimum* oil with 32 compounds representing 99.246%, and the major components were 3-butenyl iso thiocyanate (85.205%), naphtha (1, 2-c) furan-3 (1H)-one (3.059%), 2-thiazolecarboxylic acid, 4-methyl-, ethyl ester (2.872%) and cyclohexasiloxan, dodecamethyl (1.331%), respectively [13]. The essential oil of leaves from *B. rapa* var. *perviridis* was found to contain 48 volatile components, representing 94% to 96.6% of the oil. The main constituents were found to be 3-butenylisothiocyanate (1.4% to 29.2%), 4-pentenyl isothiocyanate (8.2% to 23.5%), 2-methyl 5-hexenenitrile (1.3% to 16.8%), 2-phenylethyl isothiocyanate (7% to 13.7%), and phytol (6.1% to 23.5%) [14]. The volatile oil from cabbage consisted mainly of monoterpenes (sabinene, limonene, α -thujene, 1,8-cineole, β -pinene, myrcene, α -pinene, and γ -terpinene), (Z)-3-Hexenyl acetate, sesquiterpene (E, E)- α -farnesene, and homoterpene (E)-4, 8-dimethyl-1, 3, 7- nonatriene [15]. The antiradical activity, polyphenols, flavonoids and total condensed tannins contents have been determined in the case of seven local edible Brassicaceae. The polyphenolic compounds detected were: kaempferol and quercetin glycosides and hydroxycinnamic esters. The EC₅₀ values ranged from 81.45 to 917.81 mg sample/mg DPPH· and the total phenolic content from 4.30 to 13.80 gallic acid equivalents (mg gallic acid/g sample) [16].

This is the first study of chemical composition and antioxidant activity of AEOs. There is a few work about the chemical compositions of *Alyssum* taxa and their antioxidative effects in literature. Therefore importance of current study becomes more obvious.

4. Conclusion

The composition and antioxidant activity of essential oil from the aerial parts of *A. pateri* subsp. *prostratum* was evaluated in GC-MS/HS-SPME analysis and three different antioxidant testing systems. The results clearly indicated that the major components of AEOs were 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone (22.09%), 1,8-cineole (11.91%), thiobis-methane (6.43%), 2,6,10-trimethylpentadecane (6.05%) and hexadecane (4.19%). The antioxidant capacity assays, which are Superoxide Anion (O₂^{•-}) Scavenging Activity (SASA), Free Radical Scavenging Activity (FRSA), Metal Chelating Power (MCP), revealed that AEOs has antioxidant activity. Further studies are needed to evaluate the beneficial health effects of this herb.

Acknowledgement

We thank Central Laboratory, Bingol University, Turkey, for the HS-SPME/GC-MS facilities.

References

- [1] Sasaki K., Takahashi T. A flavonoid from *Brassica rapa* flower as UV-absorbing nectar guide, *Phytochemistry*, 61, 339-343, 2002.
- [2] Kaushik N., Agnihotri A. GLC analysis of Indian rapeseed-mustard to study the variability of fatty acid composition, *Biochemical Society Transactions*, 28, 581-583, 2000.
- [3] Ferreres F., Sousa C., Valentao P., Seabra R.M., Pereira J.A., Andrade P.B. Tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) seeds: phytochemical characterization and antioxidant potential, *Food Chemistry*, 101, 549-558, 2007.
- [4] Jahangir M., Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R. Health-Affecting Compounds in Brassicaceae, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 31-43, 2009.
- [5] Wang L.I., Giovannucci E.L., Hunter D., Neuberger D., Su L., Christiani D.C. Dietary intake of cruciferous vegetables, glutathione S-transferase (GST) polymorphisms and lung cancer risk in a Caucasian population, *Cancer Cause Control* 15, 977-985, 2004.
- [6] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 152-159, 1997.
- [7] Davis P.H. *Flora of Turkey*, Edinburgh: Edinburgh University Press., 1, 1965.
- [8] Adams R.P. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, 2001.
- [9] Verzera A., Ziino M., Condurso C., Romeo V., Zappala M. Solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry for the rapid characterisation of semi-hard cheeses, *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 380, 930-936, 2004.

- [10] Liu F., Ooi V.E., Chang S.T. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts, *Life Science*, 60 (10), 763-771, 1997.
- [11] Ardestani A., Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts, *Food Chemistry*, 104, 21-29, 2007.
- [12] Decker E.A., Welch B. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38 (3), 674-677, 1990.
- [13] Maghsoudlou M.T., Valizade J., Ebrahimianchavoshlou S., Mohammadi B.M., Rahnesan N. Phytochemical and Antioxidant Activity of *Alyssum maritimum* and *Achillea wilhelmsii* from Sistan and Baluchestan Province, *Eco-Phytochemical Journal of Medical Plants*, 3 (7), 1-9, 2014.
- [14] Miyazawa M., Nishiguchi T., Yamafuji C. Volatile components of the leaves of *Brassica rapa* L. var. *perviridis* Bailey, *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 158-160, 2005.
- [15] Vuorinen T., Reddy G.V.P., Nerg A., Holopainen J.K. Monoterpene and herbivore-induced emissions from cabbage plants grown at elevated atmospheric CO₂ concentration, *Atmospheric Environment*, 38, 675-682, 2004.
- [16] Heimler D., Vignolini P., Dini M.G., Vincieri F.F., Romani A. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties, *Food Chemistry*, 99, 464-469, 2006.



Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



Ekmeklik buğday genotiplerinde erken kuraklığa dayanıklılığın ölçütü olarak fide kalımı

Sinan Bayram*¹, Ali Öztürk², Murat Aydın²

Özet

Bu çalışmada, tescilli ve yerel çeşitlerden oluşan toplam 64 ekmeklik buğday genotipi, kuraklık sonrası fide kalımı ölçüt alınarak fide gelişme dönemindeki kuraklığa dayanıklılık yönünden değerlendirilmiştir. Araştırma, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü serasında, tarla toprağında, tam şansa bağlı deneme planına göre ve 4 tekerrürlü olarak Nisan-Haziran 2011 döneminde yürütülmüştür. Kuraklık sonrası fide kalım oranı yönünden buğday genotipleri arasında önemli farklar olduğu belirlenmiştir. Genotiplerinin kuraklık sonrası fide kalım oranları %10,8 ile %37,3 arasında değişim göstermiş, genotiplerin ortalaması olarak %22,3 olmuştur. Kuraklık sonrası fide kalım oranının Lancer (%37,3), Kıraç 66 (%35,0), Gerek 79 (%34,3) ve Alparslan (%33,5) çeşitlerinde en yüksek; Karasu 90 (%10,8), Ak Buğday (%11,8), Bezostaja 1 (%12,0), Doğankent 1 (%12,8) ve Tir (%13,3) genotiplerinde ise en düşük olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada kontrol amacıyla kullanılan ve sulu tarım alanları için önerilen Bezostaja 1 ve Karasu 90 çeşitlerinin en düşük fide kalım oranlarına sahip genotipler içerisinde yer almaları dikkat çekmiştir. Zerin yerel çeşidi hariç, çalışmada yer alan diğer yerel çeşitlerimizin bu ölçüt yönünden gen kaynağı olarak ümitvar olmadıkları belirlenmiştir. Kuraklık sonrası fide kalım oranı yüksek bulunan Lancer, Kıraç 66 ve Gerek 79 genotiplerinin, erken kuraklığın görüldüğü çevrelere daha iyi uyum sağlayabilecekleri ve ilgili ıslah programlarında ebeveyn olarak kullanılabilirler sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ekmeklik buğday; erken kuraklık; fide kalımı

Seedling survival as a criterion of resistance to early drought in bread wheat genotypes

Abstract

In this study, total sixty-four bread wheat genotypes consisting of certified and local varieties was evaluated in terms of drought resistance in seedling development stage by considering that seedling survival after drought. This research was carried out completely randomized experimental design with four replications between April-June 2011, in the field soil in greenhouse of Faculty of Agriculture at Ataturk University. It was determined significant differences among genotypes in terms of seedling survival after drought rate. Seedling survival after drought rate of genotypes ranged between 10.8-37.3% and the mean of genotypes was determined as 22.3%. It was determined that highest seedling survival after drought rate in Lancer (37.3%), Kıraç 66 (35.0%), Gerek 79 (34.3%) and Alparslan (33.5%); the lowest in Karasu 90 (10.8%), Ak Buğday (11.8%), Bezostaja 1 (12.0%), Doğankent 1 (12.8%) and Tir (13.3%). Bezostaja 1 and Karasu 90 which are suggested for irrigated areas and used for control in the research were determined to the lowest seedling survival rates. Other local varieties used in this research except for Zerin local variety were determined to be not promising as genetic resources in terms of these criteria. It was concluded that genotypes such as Lancer, Kıraç 66 and Gerek 79 which have a higher seedling survival after drought rate can adapt better for environment in which early drought is problem and can be used as parent in concerned breeding program.

Keywords: Bread wheat; early drought; seedling survival

1. Giriş

Ülkemizdeki kuru tarım alanlarında düzensiz veya yetersiz yağışlar nedeni ile buğdayın ekim, çimlenme-çıkış ve fide gelişme dönemlerinde kuraklık yaşanabilmektedir.

Kuru tarım koşullarında yüksek verim ve istikrarlı bir buğday üretimi için erken ve iyi bir fide tesisi esastır. Gelişme dönemi başlangıcındaki toprak suyu yetersizliği çimlenme, çıkış, fide gelişmesi ve fide tesisini azaltmak suretiyle tane verimini önemli ölçüde sınırlar [1-3]. Kurağa dayanıklılık ıslahı ile ilgili araştırmalar, ekstrem veya ani kuraklık stresini atlatabilme yeteneği ile ilgili bitki özellikleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Erken gelişme dönemlerinde kuraklık stresinin yaşandığı çevreler için,

¹ GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi, 21110 Diyarbakır, TÜRKİYE

² Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 25240 Erzurum, TÜRKİYE

*Sorumlu yazar e-posta: sinanbayram011@gmail.com

öncelikli olarak çimlenme-çıkışın sağlanabilmesi ve fidenin hayatta kalabilmesini etkileyen bitki karakterlerinin dikkate alınması gerekmektedir [4].

Bitkilerde erken dönemlerdeki kuraklığın ilk sonuçları, stomal kapanmayı takiben yaprak gelişmesi ve sap uzamasında meydana gelen azalmalar olup, kuraklık sonrasında fidenin yeniden gelişme yeteneğini esas olarak canlı kalan yaprak alanı belirler [5]. Kurak ve yarı kurak koşullarda tahıllar, hayatta kalımın tehlike altında olduğu vejetatif evre boyunca su eksikliğinden zarar görmekte, fide kaybı ve bitki popülasyonundaki azalmalar sonucu verim azalmaktadır [6]. Erken gelişme dönemlerindeki kuraklığa dayanıklılık ıslahı çalışmalarında fidenin kuraklığı atlama yeteneğine, bununla ilgili özelliklerin önemine ve bu karakterler yönünden genetik varyasyona dikkat çekilmiştir [7]. Noorka ve Khaliq [8], 100 buğday genotipi üzerinde yürüttükleri araştırma sonucunda, çimlenme-çıkış özellikleri ile birlikte değerlendirildiğinde, kuraklık sonrası fide kalım oranının kurağa hassas ve toleranslı genotiplerin ayrılmasında kullanılabileceğine dikkat çekmişlerdir. Kışık buğdayda kurağa dayanıklılık ıslahı için 8 farklı eliminasyon tekniğini değerlendiren Winter ve Ark. [9], geniş popülasyonların eliminasyonu için en uygun tekniğin kuraklık sonrası fide kalımı testi olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, 3 farklı dönemde yürüttükleri testlerde kuraklık sonrası canlı kalan fide oranlarının genotiplere göre önemli derecede farklı olduğunu ve %3-86 arasında değişim gösterdiğini, 3 dönemde de TAM W-101 ve Scout 66 genotiplerinin en yüksek, Sturdy ve TAM 108 genotiplerinin ise en düşük fide kalım oranına sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Aydın ve Ark. [10], sera şartlarında 20 ekmeklik buğday çeşidinin fide dönemi kurağa dayanıklılığını araştırmışlardır. Fide dönemindeki kuraklıktan en az zarar gören çeşitler Yayla 305 (%20,2), Kıraç 66 (%24,1), Kırgız 95 (%24,9) ve Ak 702 (%27,2); en fazla zarar gören çeşitler ise ES SBVD 2-8 (%44,5), Gün 91 (%44,4) ve Kate A-1 (%44,1) olmuştur. Tomar ve Kumar [11], fide kalımı testi ile 90 ekmeklik buğday genotipinin çıkış sonrası kuraklık stresine toleransı ve fide kalımı karakterinin kalıtımını incelemişlerdir. Araştırmacılar, stres etkisinin en duyarlı genotiplerde ekim sonrası 20. günde en alt yaprakta sararma ile görüldüğünü, stresin artması ile genotipler arasındaki farkların belirginleştiğini ve 30. günde genotiplerin çoğunun öldüğünü saptamışlar, ekim sonrası 43. günde canlı kalan genotipleri toleranslı olarak tanımlamışlardır. Kurağa toleranslı HW 2044 ve kurağa duyarlı MP 1136 ebeveynleri ile onların F₁ ve F₂ popülasyonları üzerinde yapılan genetik analizler sonucunda, fide kalımının tek gen tarafından kontrol edilen dominant bir karakter olduğu ve genotiplerin fide dönemindeki kuraklığa toleranslarının tanımlanmasında seleksiyon ölçütü olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Fide dönemindeki su stresine 9 buğday genotipinin tepkisini araştıran Hameed ve Ark. [12], kuraklığın uygulandığı dönemde daha yavaş sararıp kuruyan ve kuraklık sonrası fide kalım oranı %100 olan 3 çeşidi (Sitta, Fareed, FD-83) kurağa toleranslı olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar, yaprak sararma oranı ile fide kalımı oranı arasında olumsuz bir ilişki bulunduğunu ve fide kalımı oranının buğdayda fide dönemindeki kuraklığa tolerans seleksiyonunda önemli bir ölçüt olduğunu vurgulamışlardır. Öztürk ve Ark. [13], fide kalımı, çim kını uzunluğu ve fide kuvveti ölçütlerini esas alarak 64 ekmeklik buğday genotipinin erken dönem kurağa dayanıklılığını araştırmıştır. Araştırmacılar, torf dolu kasalarda yürüttükleri çalışmada kuraklık sonrası fide kalım oranı yönünden buğday genotipleri arasında önemli farkların olduğunu, araştırmanın yürütüldüğü 3 dönemin ortalaması olarak genotiplerin kuraklık sonrası fide kalım oranlarının %18,5 ile %51,1 arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmada, en yüksek fide kalım oranı %51,1 ile Lancer çeşidinde belirlenmiş, bu çeşidi sırasıyla

Kıraç 66 (%50,9), Gerek 79 (%47,9), Mızrak (%46,5), Harmankaya 99 (%46,0) ve Dağdaş 94 (%45,3) çeşitleri izlemiştir. Bayram [14], kuraklık sonrası fide kalım oranının, tane veriminin regresyon analizinde katsayısı pozitif ve önemli olan ve tane verimindeki varyasyonun %20,5'ini açıklayan ilk bağımsız değişken olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, kuraklık sonrası fide kalımı oranının, tane verimi ve verim unsurları ile olumlu ilişkileri yanında, tane verimine yüksek pozitif katkı sağlaması ve fide kuvveti ile olumlu ilişkisi nedeniyle, ilgili ıslah programlarında basit ancak önemli bir seleksiyon ölçütü olarak kullanılabileceğini vurgulamıştır.

Sera koşullarında kuraklık sonrası fide kalımı ölçütü esas alınarak yürütülen bu araştırmada, tescilli ve yerel çeşitlerden oluşan toplam 64 ekmeklik buğday genotipi, tarla toprağında, kuraklık sonrası fide kalımı ölçütü esas alınarak fide gelişme dönemindeki kuraklığa dayanıklılık yönünden değerlendirilmiştir. Kurağa dayanıklılık ıslahı programlarında ebeveyn olarak kullanılabilecek ve buğdayın erken gelişme dönemlerinde kuraklığın görüldüğü çevreler için önerilebilecek uygun genotiplerin belirlenmesine çalışılmıştır.

2. Materyal ve Metot

Araştırmada bitki materyali olarak Çizelge 1'de kısa özellikleri sunulan toplam 64 ekmeklik buğday genotipi kullanılmıştır. Bu genotiplerin 44'ü 2007 yılı milli çeşit listesinde yer alan ve ülkemizin kuru tarım alanları için önerilen çeşitlerden (kontrol çeşitleri olarak, sulu tarım alanları için önerilen Bezostaja 1 ve Karasu 90), 20'si ise kuru tarım koşullarında daha önce yetiştirilmiş veya halen yetiştirilmekte olan tescilli ve yerel çeşitlerden oluşmaktadır. Denemede kullanılan tarla toprağının analizi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü laboratuvarlarında yapılmış olup bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Buna göre; deneme toprağının tekstür sınıfı killi-tın, organik madde oranı az, nötr reaksiyonlu, fosfor yönünden orta, potasyum yönünden ise çok zengindir [15,16]. Denemenin yürütüldüğü serada günlük minimum sıcaklıklar 5-17°C, günlük maksimum sıcaklıklar 18-29°C, nispi nem içeriği ise %42-58 arasında değişim göstermiştir.

Deneme, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü serasında, Nisan-Haziran 2011 döneminde yürütülmüştür. Boyutları 80x100x12 cm olan ahşap kasaların içi, kurutma kâğıdıyla kaplandıktan sonra tarla toprağı ile doldurulmuştur. Araştırma tam şansa bağlı deneme planına göre ve 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her genotipe ait aynı yaşta ve yakın irilikteki 50 canlı tohum, 3 cm derinliğinde açılan çizilere 2 cm aralıkla ekilip üzerleri özenle kapatılmış, genotipler (sıralar) arasında 5 cm mesafe bırakılmıştır. Ekim işleminden itibaren, bitkiler 3 yapraklı döneme ulaşıncaya kadar yeterince sulanmış ve her genotipe ait bitki sayısı kaydedilmiştir (Şekil 1). Bu dönemden sonra, fidelerin çoğunun susuzluktan öldüğü görüntüsü oluşuncaya kadar bitkilere su verilmemiştir. Fidelerin çoğunun susuzluktan öldüğü görüntüsü (Şekil 2) oluştuğu zaman toprağın 10 cm derinliğindeki hacim esasına göre nem içeriği toprak nemölçer (HH2 Soil Moisture Meter) yardımı ile belirlenmiş (kasalara göre %0,0-0,02) ve bitkilere homojen bir şekilde yeterince su verilerek yeniden gelişmeleri teşvik edilmiştir (Şekil 3). Kasalarda yeniden gelişmeler gözlemlendikten yaklaşık 10 gün sonra canlı kalan fideler sayılmış ve her genotip için kuraklık sonrası canlı kalan fide oranı % olarak hesaplanmıştır [9].

Elde edilen verilerin varyans analizi deneme planına uygun olarak SAS GLM (SAS Inst., Cary, NC) bilgisayar programı ile yapılmış, genotiplerin karşılaştırılmasında Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan ekmeklik buğday genotiplerine ait bazı bilgiler

No	Çeşit adı	Çeşit sahibi kuruluş / Orijin	Gelişme biyolojisi
2007 yılı milli çeşit listesinde yer alan çeşitler			
1	Aksel 2000	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
2	Alparslan	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
3	Altay 2000	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
4	Atlı 2002	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
5	Aytın 98	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
6	Bağcı 2002	Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Arş. Enst.	Alternatif
7	Bayraktar 2000	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
8	Bolal 2973	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Alternatif
9	Çetinel 2000	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
10	Dağdaş 94	Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Arş. Enst.	Alternatif
11	Demir 2000	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
12	Doğankent 1	Çukurova Tarımsal Arş. Enst.	Yazlık
13	Doğu 88	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
14	Gerek 79	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
15	Gün 91	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Kışlık
16	Harmankaya 99	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
17	İkizce 96	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
18	İzgi 2001	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
19	Karahan 99	Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
20	Kate A-1	Trakya Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
21	Kıraç 66	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
22	Kırgız 95	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
23	Kırkpınar 79	Trakya Tarımsal Arş. Enst.	Alternatif
24	Kutluk 94	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
25	Lancer	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
26	Mızrak	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
27	Müfitbey	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
28	Nenehatun	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
29	Palandöken 97	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
30	Pamukova 97	Sakarya Tarımsal Arş. Enst.	Yazlık
31	Pehlivan	Trakya Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
32	Prostor	Trakya Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
33	Seri 82	Çukurova Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
34	Soyer02	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
35	Sönmez 2001	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
36	Sultan 95	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
37	Süzen 97	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
38	Tosunbey	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Kışlık
39	Türkmen	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
40	Uzunyayla	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
41	Yakar 99	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
42	Zencirci 2002	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
2007 yılı milli çeşit listesinde yer almayan eski çeşitler ve yerel genotipler			
43	Ak-702	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
44	Ak Buğday	Orta Anadolu Bölgesi	Kışlık
45	Ankara 093/44	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Kışlık
46	Conkesme	Doğu Anadolu Bölgesi	Alternatif
47	Haymana 79	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Kışlık
48	Hawk (Şahin)	A.B.D.	Kışlık
49	Kılçıksız Buğday	Orta Anadolu Bölgesi	Kışlık
50	Kirik	Doğu Anadolu Bölgesi	Alternatif
51	Kırmızı Kılçık	Doğu Anadolu Bölgesi	Alternatif
52	Kırmızı Yerli	Doğu Anadolu Bölgesi	Alternatif
53	Koca Buğday	Orta Anadolu Bölgesi	Kışlık
54	Köse 220/39	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Alternatif
55	Orso	Sakarya Tarımsal Arş. Enst.	Alternatif
56	Özlü Buğday	Orta Anadolu Bölgesi	Kışlık
57	Polath Kösesi	Orta Anadolu Bölgesi	Alternatif
58	Sert Buğday	Orta Anadolu Bölgesi	Kışlık
59	Sürak 1593/51	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Enst.	Kışlık
60	Tir	Doğu Anadolu Bölgesi	Kışlık
61	Yayla 305	Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
62	Zerin	Orta Anadolu Bölgesi	Alternatif
Kontrol çeşitleri			
63	Bezostaja 1	Sakarya Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık
64	Karasu 90	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Enst.	Kışlık

Çizelge 2. Denemede kullanılan tarla toprağının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Tekstür sınıfı	Organik madde (%)	P ₂ O ₅ (kg/da)	K ₂ O (kg/da)	pH
Killi-tın	1.54	5.83	196.1	7.1



Şekil 1. Üç yapraklı dönemdeki buğday genotipleri



Şekil 2. Kuraklık stresi uygulanmış buğday genotipleri



Şekil 3. Sulama sonrası yeniden gelişen bitkiler

3. Bulgular ve Tartışma

Kuraklık sonrası fide kalım oranı yönünden buğday genotipleri arasındaki farklar istatistikî anlamda önemli olmuştur (Çizelge 3). Fide kalım oranları genotiplere göre %10,8 ile %37,3 arasında değişim göstermiş, ortalama oran ise %22,3 olarak belirlenmiştir. Lancer (%37,3), kuraklık sonrası fide kalım oranı en yüksek genotip olmuştur. Lancer çeşidini %35, %34,3 ve %33,5 fide kalım oranları ile sırasıyla Kıraç 66, Gerek 79 ve Alparslan çeşitleri izlemiştir. Kuraklık sonrası fide kalım oranı en yüksek olan bu çeşitlerin kışlık karakterli olması dikkat çekmiştir. Fide

kalım oranı bakımından bu dört genotip arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur. Denemeye alınan 64 genotip içerisinde fide kalım oranının en düşük Karasu 90 (%10,8) çeşidinde olduğu saptanmıştır. Karasu 90 çeşidinden sonra fide kalım oranı en düşük genotipler sırasıyla Ak Buğday (%11,8), Bezostaja 1 (%12,0), Doğankent 1 (%12,8) ve Tir (%13,3) olarak tespit edilmiştir. Winter ve Ark. [9] ve Aydın ve Ark. [10] gibi araştırmacıların bulgularına benzer olarak, bu araştırmada da buğday genotiplerinde kuraklık sonrası fide kalım oranı yönünden önemli genetik varyasyon bulunmuştur.

Çizelge 3. Buğday genotiplerinin kuraklık sonrası fide kalım oranları (%)

No	Genotipler	% Fide Kalımı
1	Aksel 2000	31.3 b-e
2	Alparslan	33.5 abc
3	Altay 2000	26.3 f-j
4	Atlı 2002	21.8 k-r
5	Aydın 98	16.0 t-z
6	Bağcı 2002	17.3 s-x
7	Bayraktar 2000	14.0 w-z
8	Bolal 2973	19.8 o-u
9	Çetinel 2000	20.0 n-t
10	Dağdaş 94	32.3 bcd
11	Demir 2000	15.3 v-z
12	Doğankent 1	12.8 yz
13	Doğu 88	31.8 bcd
14	Gerek 79	34.3 ab
15	Gün 91	21.3 l-s
16	Harmankaya 99	32.0 bcd
17	İkizce 96	20.5 m-s
18	İzgi 2001	20.5 m-s
19	Karahan 99	21.3 l-s
20	Kate A-1	21.3 l-s
21	Kıraç 66	35.0 ab
22	Kırgız 95	24.5 i-m
23	Kırkpınar 79	24.8 i-m
24	Kutluk 94	24.8 i-m
25	Lancer	37.3 a
26	Mızrak	32.3 bcd
27	Müfitbey	29.8 c-g
28	Nenehatun	25.8 g-k
29	Palandöken 97	25.5 h-l
30	Pamukova 97	14.8 v-z

Çizelge 3 (Devamı): Buğday genotiplerinin kuraklık sonrası fide kalım oranları (%)

No	Genotipler	% Fide Kalım
31	Pehlivan	24.3 i-n
32	Prostor	15.8 t-z
33	Seri 82	20.0 n-t
34	Soyer02	23.8 i-o
35	Sönmez 2001	30.0 c-f
36	Sultan 95	28.0 d-i
37	Süzen 97	29.5 c-h
38	Tosunbey	29.5 c-h
39	Türkmen	26.3 f-j
40	Uzunyayla	32.0 bcd
41	Yakar 99	17.0 s-y
42	Zencirci 2002	22.3 j-p
43	Ak-702	14.8 v-z
44	AkBuğday	11.8 z
45	Ankara 093/44	20.0 n-t
46	Conkesme	22.0 j-q
47	Haymana 79	25.0 i-l
48	Hawk (Şahin)	27.3 e-i
49	Kılçıksız Buğday	20.5 m-s
50	Kırık	17.3 s-x
51	Kırmızı Kılçık	19.0 p-v
52	Kırmızı Yerli	18.8 p-v
53	Koca Buğday	17.8 r-w
54	Köse 220/39	17.8 r-w
55	Orso	14.3 w-z
56	Özlu Buğday	14.3 w-z
57	Polatlı Kösesi	17.3 s-x
58	Sert Buğday	15.5 u-z
59	Sürak 1593/51	15.8 t-z
60	Tir	13.3 xyz
61	Yayla 305	17.5 r-x
62	Zerin	26.8 f-i
63	Bezostaja 1	12.0 z
64	Karasu 90	10.8 z
Ortalama		22.3
F değeri		46.13*
Varyasyon katsayısı (%)		8.9

* 0,01 ihtimal düzeyinde önemlidir.

Sulu tarım alanları için önerilen ve bu araştırmada kontrol amacıyla kullanılan Bezostaja 1 ve Karasu 90 çeşitlerinin en düşük fide kalım oranlarına sahip genotipler içerisinde yer almaları dikkat çekmiştir. Bu çeşitlerle birlikte düşük fide kalım oranları ile dikkat çeken Akbuğday, Doğan kent, Tir, Bayraktar 2000, Orso, Özlu Buğday, Ak-702, Pamukova 97 ve Demir 2000 genotipleri, bu seleksiyon ölçütü esas alındığında erken gelişme dönemlerindeki kuraklığa duyarlı olarak tanımlanabilir. Ayrıca Zerin yerel genotipi hariç, araştırmada yer alan diğer yerel çeşitlerimiz de bu ölçüt yönünden gen kaynağı olarak ümitvar olmadıkları söylenebilir.

4. Sonuç

Araştırmada Lancer, Kırac 66, Gerek 79, Alparslan, Dağdaş 94, Mızrak, Uzunyayla, Harmankaya 99 ve Doğu 88 çeşitleri yüksek fide kalım oranları ile dikkat çekmiştir. Kuraklık sonrası fide kalım oranı ölçütü alındığında, bu çeşitlerin erken gelişme dönemlerindeki kuraklığa dayanıklı oldukları söylenebilir. Öztürk ve Ark. [13] tarafından torf ortamında yapılan çalışmada en yüksek fide kalım oranının sırasıyla Lancer, Kırac 66, Gerek 79, Mızrak, Harmankaya 99 ve Dağdaş 94 çeşitlerinde belirlenmesi, toprak ortamında yapılan bu araştırmanın bulgularını desteklemektedir. Araştırma sonucunda kuraklık sonrası fide kalım oranı yüksek bulunan bu çeşitlerin erken kuraklığın görüldüğü çevrelere daha iyi

uyum sağlayabilecekleri ve ilgili ıslah programlarında ebeveyn olarak kullanılabilecekleri söylenebilir.

Referanslar

- [1] Blum A., Sinmena B., Ziv O. An evaluation of seed and seedling drought tolerance screening tests in wheat, *Euphytica*, 29, 727-736, 1980.
- [2] Naylor R.E.L., Gurmu M. Seed vigour and water relations in wheat, *Ann. Appl. Biol.*, 117, 441-450, 1990.
- [3] Richards R.A., Lukacs Z. Seedling vigour in wheat sources of variation for genetic and agronomic improvement, *Aust. J. Agric. Res.*, 53 (1), 41-50, 2002.
- [4] Monneveux P., Ribaut J.M., Drought Adaptation in Cereals. In, J.M. Ribaut (Eds): *Secondary Traits for Drought Tolerance Improvement in Cereals*, Food Products Press, New York, London, Oxford, pp. 97-143, 2006.
- [5] Hsiao T.C., Acevedo E. Plant responses to water deficits, water-use efficiency, and drought resistance, *Agricultural Meteorology*, 14, 59-84, 1974.

- [6] Lelièvre F. L'appoint fourrager par déprimage des céréales au Maroc: Différentes situations et premières études expérimentales, *Fourrages*, 88, 73-94, 1981.
- [7] Monneveux P., Belhassen E. The diversity of drought adaptation in the wide, *Plant Growth Regulation*, 20, 85-92, 1996.
- [8] Noorka I.R., Khaliq I. An efficient technique for screening wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm for drought tolerance, *Pakistan Journal of Botany*, 39 (5), 1539-1546, 2007.
- [9] Winter S.R., Musick J.T., Porter K.B. Evaluation of screening techniques for breeding drought resistant winter wheat, *Crop Sci.*, 28, 512-516, 1988.
- [10] Aydın M., Kalaycı M., Keser M., Altay F., Ekiz H., Yılmaz A., Kınacı E., Çakmak İ., Orta Anadolu Koşullarında Yetişen Bazı Buğday Genotiplerinde Fide Devresi Kuraklık Testi, *Hububat Sempozyumu, Hububat Fizyolojisi Bildiriler Kitabı, Konya*, 337-348, 1999.
- [11] Tomar S.M.S., Kumar G.T. Seedling survivability as a selection criterion for drought tolerance in wheat, *Plant Breeding*, 123, 392-394, 2004.
- [12] Hameed A., Goher M., Iqbal N. Evaluation of seedling survivability and growth response as selection criteria for breeding drought tolerance in wheat, *Cereal Research Communications*, 38 (2), 193-202, 2010.
- [13] Öztürk A., Bayram S., Haliloğlu K., Aydın M., Çağlar Ö., Bulut S. Characterization for drought resistance at early stages of wheat genotypes based on survival, coleoptile length, and seedling vigor, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38, 824-837, 2014.
- [14] Bayram S., Fide Kalımı, çim kını uzunluğu ve fide kuvveti ölçütleri ile buğday genotiplerinin erken dönem kuraklığa dayanıklılık yönünden karakterizasyonu, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enst. (Yüksek Lisans Tezi)*, Erzurum, 2013.
- [15] Ergene A., *Toprak Biliminin Esasları*, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, 267, Ders Kitapları Serisi No: 42, Erzurum, 1993.
- [16] Topbaş M.T., *Azotlu Gübreler*, Selçuk Üniversitesi Yayınları, 36, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 1987.



Resveratrol attenuates diabetic nephropathy by modulating organic transporters and heat shock proteins in streptozotocin-induced diabetic rats

Oguzhan Ozdemir¹, Zeynep Tuzcu*²

Abstract

Resveratrol is a natural polyphenol that occurs naturally in many plant species and has antioxidant and anti-inflammatory properties. The organic anion/cation transporters are exclusively localized in the kidney. This study aimed to assess the protective effect of resveratrol on the alterations in the 8-isoprostane and the renal expression of heat shock proteins (HSPs) and organic anion (OATs) and cation (OCTs) transporters in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Forty male Wistar rats were divided into 4 groups; of non-diabetic untreated, non-diabetic treated with resveratrol [20 mg/kg intraperitoneally (i.p.)], diabetic (a single dose of STZ; 55 mg/kg injected i.p.) and diabetic treated with resveratrol. Rats were administered with resveratrol for 8 weeks. Diabetes was associated with elevations in serum urea and creatinine concentrations and increased oxidative stress as reflected by elevated renal malondialdehyde (MDA) and 8-isoprostane concentrations. Diabetic rat kidney had decreased the activities of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase) and OAT-1, OAT-3, OCT-1 and OCT-2 levels and increased the HSP60, HSP70 and HSP90 levels as compared to healthy rat kidneys. However, administration of resveratrol (20 mg/kg i.p.) partially alleviated the STZ-induced nephropathy as reflected suppressed the expression oxidative stress parameters and HSPs levels and enhanced the activities of antioxidant enzymes and OATs and OCTs levels in the kidney of diabetic rats. Furthermore, they reduced severity of histopathological changes induced by STZ. Resveratrol reduces the severity of oxidative stress (MDA and 8-isoprostane) through inhibiting HSPs and activating antioxidative defense in diabetic rat kidney.

Keywords: Diabetes; resveratrol; 8-isoprostane; organic anion transporters; heat shock proteins

Streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda resveratrol organik taşıyıcıları ve ısı şok proteinlerini regule ederek diyabetik nefropatiyi hafifletir

Özet

Resveratrol, birçok bitki türünde bulunan ve antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklere sahip doğal bir polifenoldür. Organik anyon/kasyon taşıyıcıları sadece böbrekte lokalize olmaktadır. Bu çalışmada, resveratrolun streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan ratlarda ısı sok proteinleri (HSP'ler)'nin 8-isoprostan değişiklikleri ve böbrekteki ekspresyonları ile organik anyon (OATs) ve kation (OCTs) taşıyıcıları üzerine koruyucu etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda kırk adet Wistar cinsi erkek rat 4 gruba ayrıldı; kontrol grubu, Resveratrol uygulanan grup [20 mg/kg intraperitoneal (i.p.)], Diyabet grubu [tek bir doz STZ; 55 mg/kg intraperitoneal (i.p.)], diyabetli olan ve resveratrol uygulanan grup [STZ tek bir doz 55 mg/kg intraperitoneal (i.p.)]. İlgili gruplarda ratlara 8 hafta boyunca resveratrol uygulanmıştır. Diyabet, serum üre ve kreatinin konsantrasyonlarında yükselme ve ayrıca artan böbrek malondialdehit (MDA) ve 8-isoprotane konsantrasyonlarıyla ifade edilen artmış oksidatif stres parametreleri ile tanımlanmaktadır. Diyabetik ve sağlıklı ratların böbrekleri karşılaştırıldığında, antioksidan enzimlerin aktivitelerinin (katalaz, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz) ve OAT-1, OAT-3, OCT-1 ve OCT-2 protein düzeylerinin azalmış ve HSP60, HSP70 ve HSP90 düzeylerinin ise artmış olduğu gözlenmektedir. Ancak, resveratrol (20 mg / kg i.p.) tedavisinin STZ-kaynaklı nefropatiyi kısmen hafiflettiği diyabetik ratların böbreklerindeki oksidatif stres parametrelerinin ve HSP düzeylerinin baskılanması ile antioksidan enzimlerinin aktivitelerinin ve OAT ve OCT düzeylerinin artmasıyla gözlenmiştir. Ayrıca, söz konusu tedavi, STZ ile indüklenen histopatolojik değişikliklerin şiddetini azaltmıştır. Resveratrol diyabetik ratların böbreğinde HSP'leri inhibe ederek ve antioksidan savunma sistemini aktive ederek oksidatif stresin (MDA ve 8-isoprostan) şiddetini hafifletmiştir.

Anahtar Kelimeler: Diabet; Resveratrol; 8-isoprostane; organik anyon taşıyıcılar; ısı şok proteinler

¹ Firat University, Faculty of Science, Department of Biology, 23119 Elazığ, Turkey

² Bingöl University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology & Genetics, 12000 Bingöl, Turkey

*Corresponding author, E-mail: zmtuzcu@gmail.com

1. Introduction

Diabetes mellitus, an endocrine disease, is defined by hyperglycemia and multiple complications, such as nephropathy, neuropathy and retinopathy [1,2]. The hyperglycemia in diabetes causes oxidative stress that can trigger development of complications of diabetes [3–5]. The generation of reactive oxygen species (ROS) gives rise to oxidative damage, particularly in kidney, liver, eyes, and nerves. Oxidative stress probably contributes to the initiation and development of diabetic nephropathy [2,6,7], which is characterized by glomerular mesangial cell proliferation, mesangial expansion and an excessive accumulation of extracellular matrix proteins. Kidneys play important role in the elimination of many endogenous and exogenous organic anions and cations, including endogenous metabolites and various drugs from blood into the urine [8]. There are transporter-mediated secretory pathways for organic anions (e.g. OAT1, OAT3) and cations (e.g. OCT1, OCT2) in the renal proximal tubules and they facilitate active secretion of many exogenous and endogenous organic ions [8,9]. Renal basolateral isoforms of OAT1, OAT3, OCT1 and OCT2 have been cloned and characterized [8]. Significant reduction in tubular cation clearance associated with a down-regulation of the expression of tubular organic anion and cation transporters was observed in animal nephrotoxicity models [2,10,11]. Diabetes is also associated with elevated levels of heat shock proteins (HSPs) [12–14] that have a major role in tissue protection against a number of insults and pathological conditions, including diabetes and its complications [15,16].

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene), a natural polyphenol, occurs naturally in many plant species such as grape, vines and berries and plays a key role in lipid metabolism, anti-proliferation, and cellular differentiation with having anti-inflammatory, anticancer, and cardio-protective properties [5,7,17–19]. In diabetic animal models, resveratrol has been shown to alleviate hyperglycemia and hyperlipidemia [20,21]. Several reports revealed that resveratrol decreased oxidative stress in kidney and ameliorated renal functions [1,7,22,23]. Resveratrol contributes to the improvement of insulin resistance, presumably by modulating SIRT1-dependent mechanism, in diet-induced metabolic disorders [18]. Akar et al [24] reported that resveratrol protects endothelial integrity and functions from diabetic injury. In animal models, vasculoprotective effects of resveratrol were especially attributed to increased eNOS or SIRT1 and decreased NADPH oxidase [25–27]. However, the molecular mechanisms of resveratrol that mediate the HSPs, OATs and OCTs are poorly understood. Therefore, this study was conducted to investigate the effect of resveratrol on OATs, OCTs, HSPs, 8-isoprotanes levels and antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase) in the kidney of rats subjected to streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetes.

2. Material and Methods

2.1. Animals

Forty male Wistar albino rats (n =10, 8 weeks-old) weighing 200-250 gr were obtained from Laboratory Animal Research Center of Firat University (Elazig, Turkey). Animals were kept at the temperature of 22 ± 2°C, humidity of 55 ± 5%, and with a 12/12 h light/dark cycle. The experiment was conducted under the protocol approved by Firat University Ethical Committee. Rats consumed standard diet and tap water ad libitum.

2.2. Experimental design and induction of diabetes

Freshly prepared solution of STZ (0.1 g dissolved in 5 ml of freshly prepared sodium citrate buffer 0.1 M, pH 4.5) was injected intraperitoneally to the rats at a dosage of 55 mg/kg body weight at fasting state [28]. At the same time, an equal volume of citrate-citrate sodium buffer alone was injected into normal control rats. Blood was collected from the tail vein, and the blood glucose concentration was analyzed prior to the commencement of the dietary feeding using a blood glucose meter (Accu-Chek Go, Roche Diagnostics, Germany) and subsequently twice in a week throughout the experiment. After providing compliance with the conditions the rats were randomly divided into four groups each containing 10 animals. The groups were as follows: (i) control rats received standard rat diet (non-diabetic control); (ii) control rats administered resveratrol (RES; 20 mg/kg i.p.); (iii) diabetic rats administered STZ (55 mg/kg body weight) (STZ); (iv) diabetic rats administered resveratrol (STZ+RES). At the end of study, blood samples were obtained from the abdominal aorta for biochemical parameters. The kidneys were removed from each rat. Right kidneys were sliced transversely and fixed in 10% formalin for subsequent light microscopic evaluation. Left kidneys were frozen at -80 °C after rinsing with PBS. The experiment lasted for 8 weeks.

2.3. Laboratory analyses

Blood samples were centrifuged at 3000 x g for 10 min and sera were separated and stored at -80°C until laboratory analyses. Serum urea-N and creatinine concentrations were determined using biochemical analyzer (Olympus AU-660, Tokyo, Japan). Lipid peroxidation was measured in terms of MDA formation, which is the major product of membrane lipid peroxidation done with slight modification by the method of Karatepe [29]. MDA level of kidney tissue was measured by high performance liquid chromatography (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japan) using Shimadzu UV- vis SPD-10 AVP detector and C18- ODS-3, 5µm, 4.6 x 250 mm column. The mobile phase was 30 mM KH₂PO₄ -Methanol (82.5+ 17.5, v/v %, pH 3.6) and the flow rate was 1.2 mL min⁻¹. Chromatograms were monitored at 250 nm and injection volume was 20 µL 8-isoprostane, another marker of oxidative stress, was measured using a commercial kit from Cayman Chemicals (Ann Arbor, MI) according to the manufacturer's instructions. Activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) of homogenized kidney were measured using a commercial kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). Glutathione (GSH) was also measured using a glutathione assay kit from Cayman Chemicals (Ann Arbor, MI) according to the manufacturer's instructions.

2.4. Western blot analysis

The levels of OATs, OCTs HSP60, HSP70 and HSP90 proteins were analyzed by a Western blot technique. The kidneys were homogenized in 1 ml ice-cold hypotonic buffer A, containing 10 mM HEPES (pH 7.8), 10 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, and 0.1 mM PMSF. To the homogenates 80µl of 10% Nonidet P-40 (NP-40) solution was added and the mixture was centrifuged for 2min at 14.000 g. The precipitates were washed once with 500 µl of buffer A plus 40µl of 10% NP-40, centrifuged, resuspended in 200 µl of buffer C [50 mM HEPES (pH 7.8), 50 mM KCl, 300 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1 mM PMSF, 20% glycerol], and centrifuged for 5 min at 14.800 x g. The supernatant were collected for OATs and OCTs. Equal amounts of total protein (20µg/lane) were

electrophoresed together with molecular weight markers on a SDS-polyacrylamide gel and subsequently transferred to nitrocellulose membrane (Schleicher and Schuell Inc., Keene, NH, USA) and transferred to a nitrocellulose membrane. Next, after blocking with 5% fat-free milk solution at 37°C for 60 min, the membranes were treated with the antibodies. The antibodies against HSPs, OATs and OCTs were purchased from Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, CA, USA). Protein loading was controlled using a monoclonal mouse antibody against β -actin antibody (A5316, Sigma). Bands were analyzed densitometrically using an image analysis system (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA).

2.5. Histological analysis

For histopathological studies, the excised left kidney from each animal was embedded in paraffin, cut into 5- μ m sections, and stained with hematoxylin and eosin for histological examination according to standard procedure [30]. Histological changes were evaluated semiquantitatively by an expert pathologist unaware of the type of treatment. A minimum of 10 fields for each kidney slide was examined and assigned for severity of changes using the following scale: -, none; +, mild damage; ++, moderate damage; and +++, severe damage.

2.6. Statistical analysis

All data were analyzed using the GLM procedure of SAS (2002). The treatments were compared using ANOVA and Student's unpaired t-test; $P < 0.05$ or less was considered statistically significant. Differences between groups in latencies were analyzed by the analysis of variance for repeated measurements (ANOVAR) followed by Fisher's post-hoc test for all groups. Data are expressed as means \pm SE.

3. Results

3.1. Renal function

Levels of serum urea-N and creatinine were significantly different between groups ($P < 0.001$; Fig. 1). STZ group had significantly higher urea (Fig. 1A; 96.4 ± 4.1 mg/dl) and creatinine (Fig. 2B; 1.84 ± 0.21 mg/dl) levels than control group (32.6 ± 8.4 and 0.41 ± 0.04 mg/dl; $P < 0.0001$). In comparison with STZ group, STZ+RES group urea (57.9 ± 3.5 mg/dl) and creatinine (0.75 ± 0.14 mg/dl) levels declined significantly ($P < 0.001$). There was no difference between RES group and control group ($P > 0.05$).

3.2. MDA, 8-isoprostanes and antioxidant enzymes

Kidney MDA (Fig. 2A) and 8-isoprostane (Fig. 2B) concentrations and SOD (Fig. 2C), CAT (Fig. 2D) and GPx (Fig. 2E) activities and GSH (Fig. 2F) levels in the healthy rats did not change in response to resveratrol administration ($P > 0.05$). Diabetes was associated with a 93.31, 139.65 % fold elevation in MDA and 8-isoprostane concentrations and with a 53.73, 36.29, 32.21, 50.8 % reduction in SOD, CAT and GPx activities and GSH levels (Fig. 2; $P < 0.0001$). Resveratrol administration partially alleviated oxidative stress, as reflected by 68.12, 71.07% reduction kidney MDA and 8-isoprostane concentrations as compared to the unsupplemented diabetic rats ($P < 0.05$). Resveratrol administration partially alleviated suppression in the SOD, CAT and GPx activities and GSH levels (Fig. 2C-F; 30.65, 31.35, 19.88, 48.38 % increase; $P < 0.05$) in the diabetic rats.

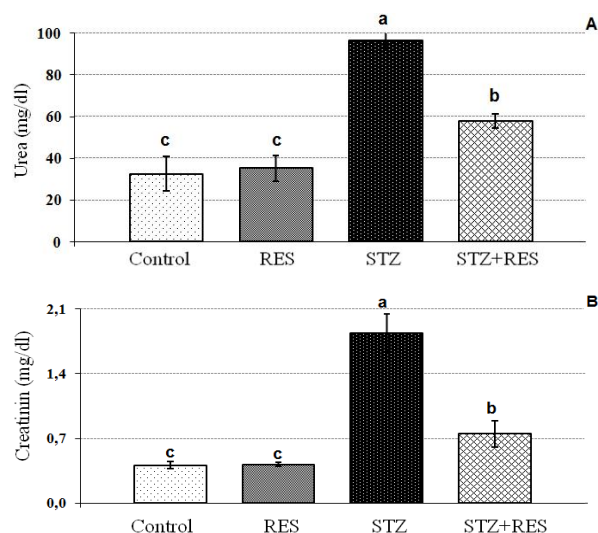


Fig. 1. The Effect of resveratrol on serum urea-N (Panel A) and creatinine (Panel B) levels in rats. Values are mean \pm SE of 10 rats from each group; Superscripts (a-c) indicate that means in the same line no common superscript differ significantly at the level of $P < .001$ by Fisher's multiple comparison test

3.3. Western blot analysis

Resveratrol administration affected expressions of neither OATs (Fig. 3A-C) nor OCTs (Fig. 3D-E) in healthy rats. Levels of OATs and OCTs were shown in Figure 3. Treatment of STZ decreased the levels of OAT1, OAT3, OCT1 and OCT2 in the kidney (Fig. 3; $P < 0.001$). However, resveratrol administration reversed this effect and the expression of OAT1 (Fig. 3B), OAT3 (Fig. 3C), OCT1 (Fig. 3D) and OCT2 (Fig. 3E) was increased in kidney from animals treated with STZ and resveratrol ($P < 0.05$).

Resveratrol administration did not affect the HSP60 (Fig. 3F), HSP70 (Fig. 3G) and HSP90 (Fig. 3H) expressions in the healthy rats. Diabetes caused increases in the HSP60, HSP70 and HSP90 expression (Fig. 3; $P < 0.001$). Resveratrol administration partially suppressed elevation in the HSP60, HSP70 and HSP90 expression in the diabetic rats (Fig. 3F-H; $P < 0.05$).

3.4. Histopathological findings

No histopathology was observed in the control and RES groups. On the other hand, basement membrane thickening in the cortex and outer medulla, nodular glomerulosclerosis, diffuse mesangial sclerosis, and inflammation was observed in the group treated with STZ. Severity of histopathological changes due to STZ decreased in RES + STZ group (Table 1; Fig. 3).

4. Discussion

Hyperglycemia causes oxidative stress by generation of excessive ROS, and helps develop kidney injury, which is characterized by thickening of glomerular basement membranes, glomerular hypertrophy, expansion of mesangial cells and tubular basement membranes, tubular atrophy, arteriosclerosis and interstitial fibrosis [3,31,32]. Das and Sil [32] reported that the inexorable generation of ROS during diabetes-mediated oxidative stress could be correlated to decline in the levels of non-enzymatic antioxidant, activities of antioxidant enzymes and increase in the levels of MDA, and altered the redox ratio of GSH/GSSG. Resveratrol with significant antioxidant

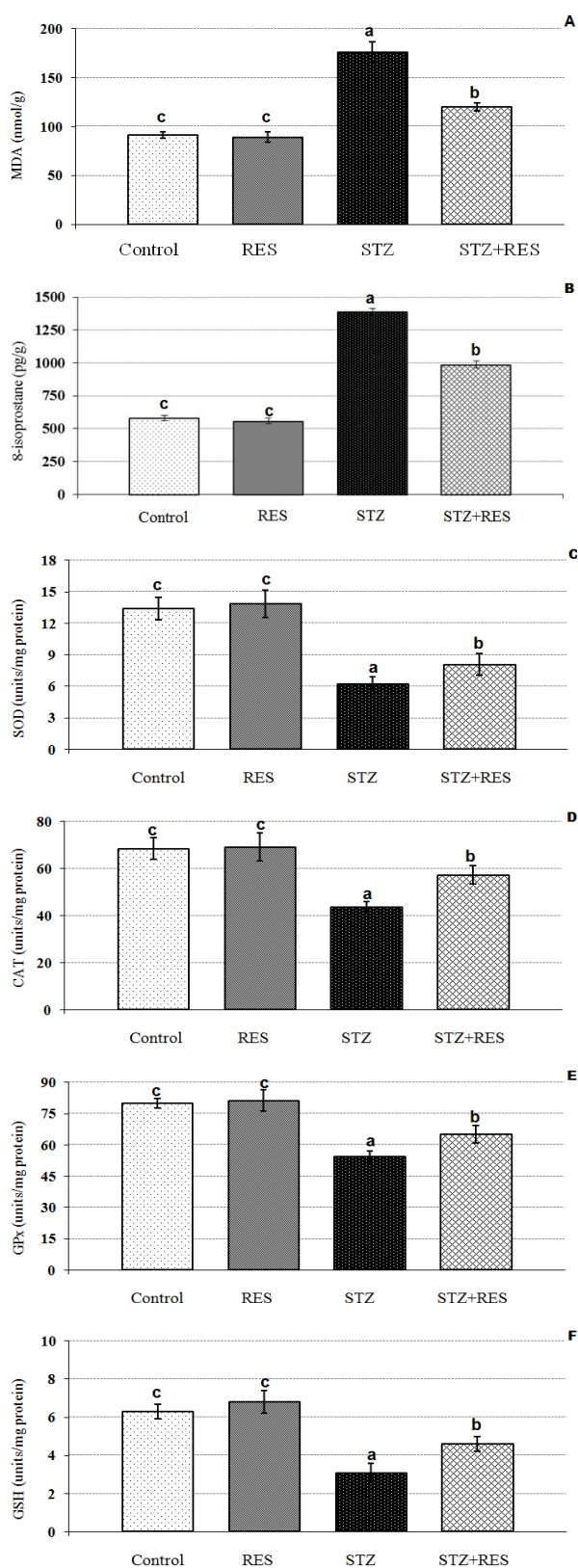


Fig. 2. The effect of resveratrol on kidney MDA (Panel A), 8-isoprostane (Panel B), superoxide dismutase (Panel C), catalase (Panel D), glutathione peroxidase (Panel E) and glutathione (Panel F) levels in rats. Values are mean \pm SE of 10 rats from each group; Superscripts (a–c) indicate that means in the same line no common superscript differ significantly at the level of $P < .001$ by Fisher's multiple comparison test

potential has been reported to elicit protection on diabetic kidney damage by reducing the renal complications in

experimental diabetes [21,22]. Resveratrol showed a significant reduction of the elevated levels of renal damage markers, such as plasma levels of urea-N, creatinine and glomerular hypertrophy, thereby proving it to be an effective renoprotectant under diabetic conditions. Similar hypoglycemic effects of resveratrol have been observed in rodent models [21,22,33]. The present study also suggests that supplementation of resveratrol to diabetic nephropathy rats causes a decreased level of MDA and 8-isoprostane as well as increased activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GSH-Px) in kidney, indicating the important role of resveratrol in the reduction of oxidative stress. However, the mechanism by which resveratrol could affect free radical production, as well as CAT, SOD and GPx activities, is due to its highly efficient antioxidant with a singlet-oxygen and free radical scavenging capacity [21,22]. Furthermore, resveratrol has been reported to possess antihyperglycemic effect in experimental diabetes [20], which is mediated by modulating the activities of key carbohydrate metabolizing enzymes in the renal tissues of experimental diabetic rats [34]. Sharma et al [22] reported that diabetic rats exhibited renal dysfunction, as evidenced by reduced creatinine and urea clearance, and proteinuria along with a marked increase in oxidative stress. They also found that treatment with resveratrol significantly attenuated renal dysfunction and oxidative stress in diabetic rats. Similar to our results, Palsamy and Subramanian [21] reported that resveratrol treatment revealed a significant improvement in superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase and glutathione reductase activities and vitamins C and E, and reduced glutathione levels, with a significant decline in lipid peroxides, hydroperoxides and protein carbonyls levels in diabetic kidneys. Similarly, mRNA and protein analyses substantiated that resveratrol treatment notably normalizes the renal expression of Nrf2/Keap1 and its downstream regulatory proteins in the diabetic group of rats [21]. Soufi et al [35] showed that four-month oral resveratrol administration significantly attenuated the elevated levels of the blood glucose, glycosylated hemoglobin, total protein, albumin, urea, creatinine, and 8-isoprostane in diabetic rats. They also reported that resveratrol administration to diabetic rats improved the reduced levels of glutathione, total antioxidant capacity, and the antioxidant enzymes activities [35].

Membrane transporters are critical for the uptake as well as elimination of chemicals and by-products of metabolism from the liver and kidneys [36]. OATs and OCTs play crucial roles in the renal secretion of various drugs [37]. It has been reported that renal secretion of organic ions mediated by OATs and OCTs is decreased with the development of renal failure [38]. Additionally, chemical-induced nephrotoxicity was shown to be associated with a decrease in the OCT2 transporter[10]. This study reports the protective effect of resveratrol on the renal expression of OATs and OCTs of kidneys in streptozotocin-induced diabetic rats. Administration of resveratrol in diabetic rat model, OAT-1 and 3 and OCT-1 and 2 protein expression levels has been significantly increased. Histopathological findings such as tubular damage and ameliorated pathological lesion in STZ-induced diabetes group revealed with resveratrol treatment. However, there have been no previous studies in kidney yet, investigating the effects of resveratrol on the organic anion and cation transporters. In a previous study, performed by an antioxidant, thymoquinone increased OAT1, OAT3 OCT1 and OCT2 levels in kidney of rats treated with cisplatin [2]. Additionally, resveratrol has been reported to have protective effects against diabetic nephropathy in animal models [21–23,39].

Table 1. The effect of resveratrol administration on morphological changes as assessed by histological analysis of kidneys in rats (n=10)

Morphological Assessment	Groups			
	Control	RES	STZ	STZ+RES
Basement Membrane	-	-	++	+
Nodular	-	-	+	-
Diffuse Mesangial	-	-	++	-
Chronic Inflammation	-	-	++	+

- : None +(Light): < %25 ++(Median): 25-50 % +++(Heavy): More than 50%

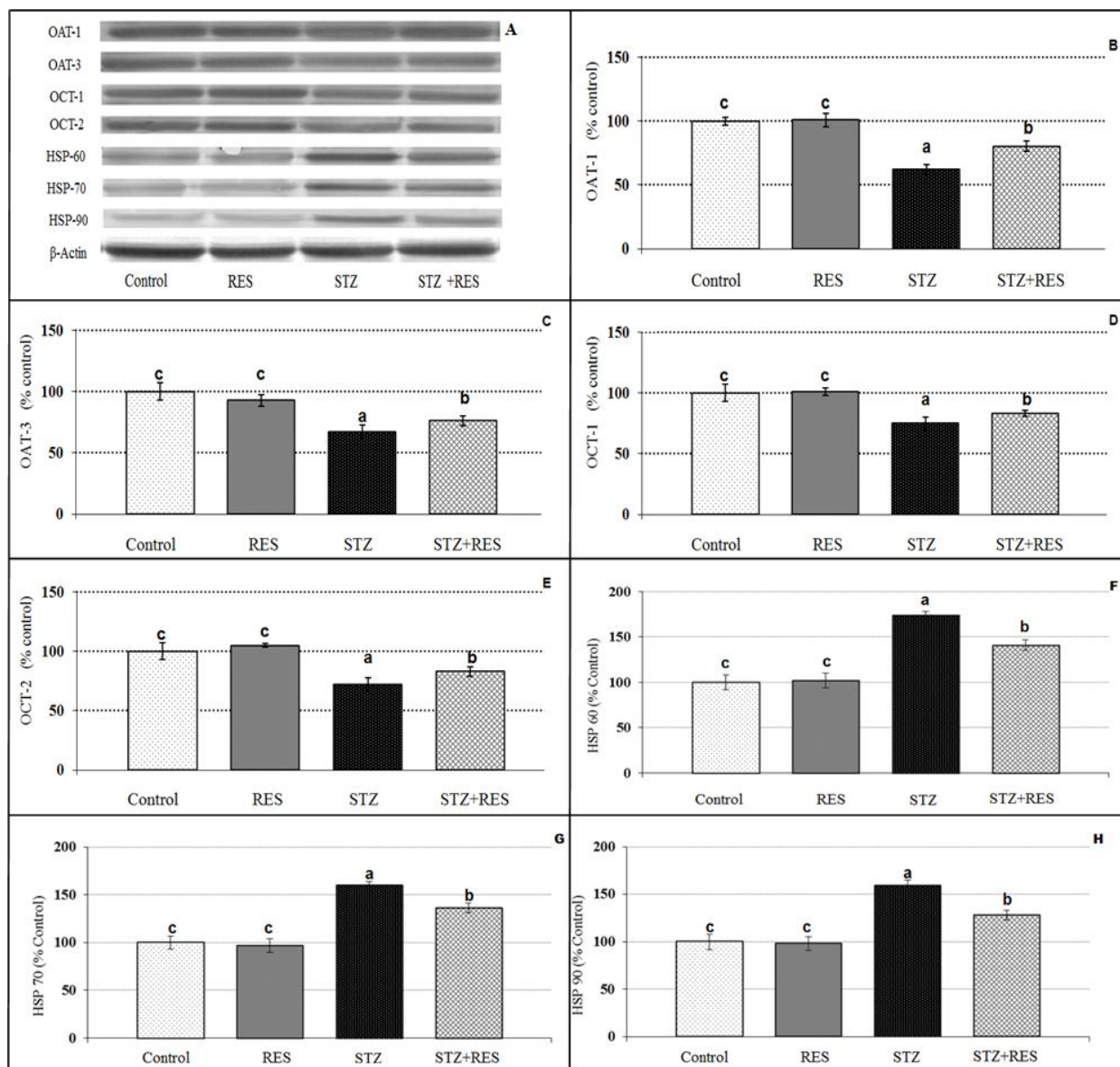


Fig. 3. Kidney tissue OAT-1, OAT-3, OCT-1, OCT-2, HSP-60, HSP-70 and HSP-90 expressing levels (Panel A) western blot strips. The effect of resveratrol on OAT-1 (Panel B), OAT-3 (Panel C), OCT-1 (Panel D), OCT-2 (Panel E), HSP-60 (Panel F), HSP-70 (Panel G) and HSP-90 (Panel H) protein expression levels of kidney tissue in rats. The intensity of the bands was quantified by densitometric analysis. Data are expressed as a ratio of normal control value (set to 100 %). The bar represents the standard error of the mean. Blots were repeated at least 3 times (n=3) and a representative blot is shown. β -actin was included to ensure equal protein loading. (a-c) Means on the bars with no common superscript differ significantly at the level of $P < .01$ by Fisher's multiple comparison test

In the present study, we found levels of HSP60 HSP70 and HSP90 were slightly decreased in diabetic animals (Figure 3). Resveratrol administration partially suppressed elevation in the HSP60, HSP70 and HSP90 levels in the diabetic rats. To our knowledge, no information was available previously on HSP60, HSP70 and HSP90 response of kidney to diabetes and resveratrol. However, in previous

studies, diabetes has been found to be associated with elevated levels of HSPs [12,13]. For example, HSP60 levels have been found to be reduced increased in the kidney and liver of diabetic animals [40,41]. Additionally, Ugurlucan et al [42] reported that elevated blood glucose was correlated with elevated HSP 70 levels and increased serum HSP 70 levels were correlated with tissue HSP 70 values.

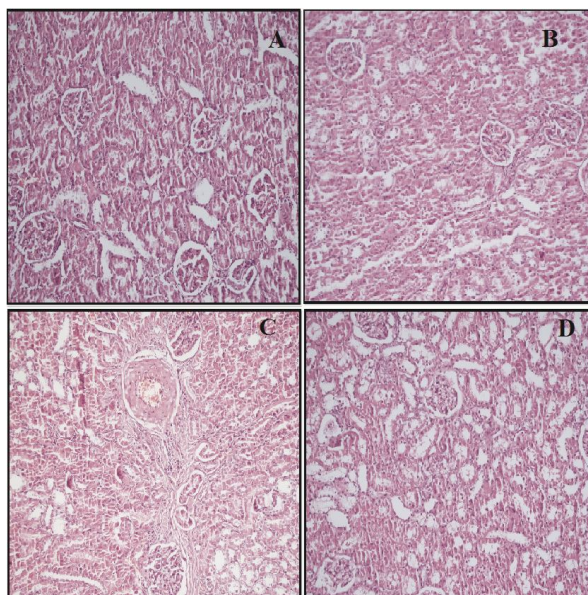


Fig. 4. The effect of resveratrol on histopathology of kidneys in rats. Histopathology of kidneys, using hematoxylin and eosin stains. (A) Control: normal renal tubular architecture and normal glomeruli of control rats. (B) RES: normal renal tubular architecture and normal glomeruli of RES rats. (C) STZ: Thickness of basement membrane, nodular glomerulosclerosis, diffuses mesangial sclerosis, chronic inflammation. (D) STZ+RES: RES-treated diabetic rats had a reduced development of STZ-induced diabetic alterations in kidneys

Kidney pathological changes were aggravated in the STZ-injected rats after the onset of diabetes, such as thickened glomerular basement membrane, renal hypertrophy, expanded mesangial cells, serum creatinine and blood urea nitrogen were increased. It is well known that renal hypertrophy, urine albumin and extracellular matrix accumulation are early features of diabetic nephropathy. In septic status, resveratrol produces improvement in capillary perfusion and increased renal blood flow and the glomerular filtration rate without raising systemic pressure [5]. Resveratrol may have a dual mechanism of action to ameliorate the renal microcirculation and scavenge reactive nitrogen species, thus protecting the tubular epithelium even when administered after the onset of sepsis [43]. The uricosuric and nephroprotective actions of resveratrol are mediated by regulating renal organic ion transporters in hyperuricemic mice, supporting its beneficial effects for the prevention of hyperuricemia [44]. In db/db mice, it was shown that resveratrol prevents diabetic nephropathy by the phosphorylation of AMPK and activation of SIRT1-PGC-1 α signaling, which appears to prevent lipotoxicity-related apoptosis and oxidative stress in the kidney [45].

In conclusion, resveratrol prevents diabetes-induced nephropathy by modulation of organic anion cation transporters and heat shock proteins and attenuates oxidative stress by inhibition of lipid peroxidation (MDA and 8-isoprostane) and activation of antioxidant enzymes.

Acknowledgements

Authors thank Firat University Scientific Research Projects Unit (FUBAP) for supporting this study (FF.12.07).

References

- [1] J.K. Bhatt, S. Thomas, M.J. Nanjan, Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus, *Nutr. Res. N.Y.N.* 32 (2012) 537–541. doi:10.1016/j.nutres.2012.06.003.
- [2] R. Ulu, A. Dogukan, M. Tuzcu, H. Gencoglu, M. Ulas, N. Ilhan, et al., Regulation of renal organic anion and cation transporters by thymoquinone in cisplatin induced kidney injury, *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 50 (2012) 1675–1679. doi:10.1016/j.fct.2012.02.082.
- [3] J.M. Forbes, M.T. Coughlan, M.E. Cooper, Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes, *Diabetes.* 57 (2008) 1446–1454. doi:10.2337/db08-0057.
- [4] F. a. D.T.G. Wagener, D. Dekker, J.H. Berden, A. Scharstuhl, J. van der Vlag, The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney, *Apoptosis Int. J. Program. Cell Death.* 14 (2009) 1451–1458. doi:10.1007/s10495-009-0359-1.
- [5] L. Wu, Y. Zhang, X. Ma, N. Zhang, G. Qin, The effect of resveratrol on FoxO1 expression in kidneys of diabetic nephropathy rats, *Mol. Biol. Rep.* 39 (2012) 9085–9093. doi:10.1007/s11033-012-1780-z.
- [6] H. Ha, I.-A. Hwang, J.H. Park, H.B. Lee, Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy, *Diabetes Res. Clin. Pract.* 82 Suppl 1 (2008) S42–45. doi:10.1016/j.diabres.2008.09.017.
- [7] L. Zhang, S. Pang, B. Deng, L. Qian, J. Chen, J. Zou, et al., High glucose induces renal mesangial cell proliferation and fibronectin expression through JNK/NF- κ B/NADPH oxidase/ROS pathway, which is inhibited by resveratrol, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 44 (2012) 629–638. doi:10.1016/j.biocel.2012.01.001.
- [8] T. Morisaki, T. Matsuzaki, K. Yokoo, M. Kusumoto, K. Iwata, A. Hamada, et al., Regulation of renal organic ion transporters in cisplatin-induced acute kidney injury and uremia in rats, *Pharm. Res.* 25 (2008) 2526–2533. doi:10.1007/s11095-008-9668-2.
- [9] J.B. Pritchard, D.S. Miller, Mechanisms mediating renal secretion of organic anions and cations, *Physiol. Rev.* 73 (1993) 765–796.
- [10] Q. Huang, R.T. Dunn, S. Jayadev, O. DiSorbo, F.D. Pack, S.B. Farr, et al., Assessment of cisplatin-induced nephrotoxicity by microarray technology, *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* 63 (2001) 196–207.
- [11] H. Komazawa, H. Yamaguchi, K. Hidaka, J. Ogura, M. Kobayashi, K. Iseki, Renal uptake of substrates for organic anion transporters Oat1 and Oat3 and organic cation transporters Oct1 and Oct2 is altered in rats with adenine-induced chronic renal failure, *J. Pharm. Sci.* 102 (2013) 1086–1094. doi:10.1002/jps.23433.
- [12] M. Nakhjavani, A. Morteza, L. Khajeali, A. Esteghamati, O. Khalilzadeh, F. Asgarani, et al., Increased serum HSP70 levels are associated with the duration of diabetes, *Cell Stress Chaperones.* 15 (2010) 959–964. doi:10.1007/s12192-010-0204-z.
- [13] J. Yuan, P. Dunn, R.D. Martinus, Detection of Hsp60 in saliva and serum from type 2 diabetic and non-diabetic control subjects, *Cell Stress Chaperones.* 16 (2011) 689–693. doi:10.1007/s12192-011-0281-7.

- [14] L. Hall, R.D. Martinus, Hyperglycaemia and oxidative stress upregulate HSP60 & HSP70 expression in HeLa cells, *SpringerPlus*. 2 (2013) 431. doi:10.1186/2193-1801-2-431.
- [15] S. Kelly, Z.J. Zhang, H. Zhao, L. Xu, R.G. Giffard, R.M. Sapolsky, et al., Gene transfer of HSP72 protects cornu ammonis 1 region of the hippocampus neurons from global ischemia: influence of Bcl-2, *Ann. Neurol.* 52 (2002) 160–167. doi:10.1002/ana.10264.
- [16] Z. Lappalainen, J. Lappalainen, N.K.J. Oksala, D.E. Laaksonen, S. Khanna, C.K. Sen, et al., Exercise training and experimental diabetes modulate heat shock protein response in brain, *Scand. J. Med. Sci. Sports*. 20 (2010) 83–89. doi:10.1111/j.1600-0838.2008.00872.x.
- [17] B.B. Aggarwal, A. Bhardwaj, R.S. Aggarwal, N.P. Seeram, S. Shishodia, Y. Takada, Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies, *Anticancer Res.* 24 (2004) 2783–2840.
- [18] J.A. Baur, K.J. Pearson, N.L. Price, H.A. Jamieson, C. Lerin, A. Kalra, et al., Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet, *Nature*. 444 (2006) 337–342. doi:10.1038/nature05354.
- [19] L. Zhao, J.Y. Lee, D.H. Hwang, Inhibition of pattern recognition receptor-mediated inflammation by bioactive phytochemicals, *Nutr. Rev.* 69 (2011) 310–320. doi:10.1111/j.1753-4887.2011.00394.x.
- [20] H.-C. Su, L.-M. Hung, J.-K. Chen, Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290 (2006) E1339–1346. doi:10.1152/ajpendo.00487.2005.
- [21] P. Palsamy, S. Subramanian, Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling, *Biochim. Biophys. Acta*. 1812 (2011) 719–731. doi:10.1016/j.bbadis.2011.03.008.
- [22] S. Sharma, M. Anjaneyulu, S.K. Kulkarni, K. Chopra, Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, attenuates diabetic nephropathy in rats, *Pharmacology*. 76 (2006) 69–75. doi:10.1159/000089720.
- [23] K.-H. Chen, C.-C. Hung, H.-H. Hsu, Y.-H. Jing, C.-W. Yang, J.-K. Chen, Resveratrol ameliorates early diabetic nephropathy associated with suppression of augmented TGF- β /smad and ERK1/2 signaling in streptozotocin-induced diabetic rats, *Chem. Biol. Interact.* 190 (2011) 45–53. doi:10.1016/j.cbi.2011.01.033.
- [24] F. Akar, M.B. Pektas, C. Tufan, S. Soylemez, A. Sepici, A.T. Ulus, et al., Resveratrol shows vasoprotective effect reducing oxidative stress without affecting metabolic disturbances in insulin-dependent diabetes of rabbits, *Cardiovasc. Drugs Ther. Spons. Int. Soc. Cardiovasc. Pharmacother.* 25 (2011) 119–131. doi:10.1007/s10557-010-6255-7.
- [25] A. Csiszar, N. Labinskyy, J.T. Pinto, P. Ballabh, H. Zhang, G. Losonczy, et al., Resveratrol induces mitochondrial biogenesis in endothelial cells, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 297 (2009) H13–20. doi:10.1152/ajpheart.00368.2009.
- [26] H. Zhang, J. Zhang, Z. Ungvari, C. Zhang, Resveratrol improves endothelial function: role of TNF α and vascular oxidative stress, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29 (2009) 1164–1171. doi:10.1161/ATVBAHA.109.187146.
- [27] F. Akar, O. Uludağ, A. Aydın, Y.A. Aytekin, S. Elbeg, M. Tuzcu, et al., High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol, *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 50 (2012) 2135–2141. doi:10.1016/j.fct.2012.03.061.
- [28] R. Schmatz, C.M. Mazzanti, R. Spanevello, N. Stefanello, J. Gutierrez, P.A. Maldonado, et al., Ectonucleotidase and acetylcholinesterase activities in synaptosomes from the cerebral cortex of streptozotocin-induced diabetic rats and treated with resveratrol, *Brain Res. Bull.* 80 (2009) 371–376. doi:10.1016/j.brainresbull.2009.08.019.
- [29] Karatepe, M., Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV, *LCGC N. Am.* 22 (2004) 362–365.
- [30] Ross, M.H., Reith, E.J., Romrell, L.J., *Histology: a text and atlas*, 2nd edition, Williams and Wilkins, Baltimore, 1989.
- [31] K. Winiarska, K. Szymanski, P. Gorniak, M. Dudziak, J. Bryla, Hypoglycaemic, antioxidative and nephroprotective effects of taurine in alloxan diabetic rabbits, *Biochimie*. 91 (2009) 261–270. doi:10.1016/j.biochi.2008.09.006.
- [32] J. Das, P.C. Sil, Taurine ameliorates alloxan-induced diabetic renal injury, oxidative stress-related signaling pathways and apoptosis in rats, *Amino Acids*. 43 (2012) 1509–1523. doi:10.1007/s00726-012-1225-y.
- [33] R. Schmatz, L.B. Perreira, N. Stefanello, C. Mazzanti, R. Spanevello, J. Gutierrez, et al., Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats, *Biochimie*. 94 (2012) 374–383. doi:10.1016/j.biochi.2011.08.005.
- [34] P. Palsamy, S. Subramanian, Modulatory effects of resveratrol on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats, *Chem. Biol. Interact.* 179 (2009) 356–362. doi:10.1016/j.cbi.2008.11.008.
- [35] F.G. Soufi, R. Sheervalilou, M. Vardiani, M. Khalili, M.R. Alipour, Chronic resveratrol administration has beneficial effects in experimental model of type 2 diabetic rats, *Endocr. Regul.* 46 (2012) 83–90.
- [36] M.T. Nowicki, L.M. Aleksunes, S.P. Sawant, A.V. Dnyanmote, H.M. Mehendale, J.E. Manautou, Renal and hepatic transporter expression in type 2 diabetic rats, *Drug Metab. Lett.* 2 (2008) 11–17.
- [37] K. Ogasawara, T. Terada, H. Motohashi, J.-I. Asaka, M. Aoki, T. Katsura, et al., Analysis of regulatory polymorphisms in organic ion transporter genes (SLC22A) in the kidney, *J. Hum. Genet.* 53 (2008) 607–614. doi:10.1007/s10038-008-0288-9.
- [38] H. Sun, L. Frassetto, L.Z. Benet, Effects of renal failure on drug transport and metabolism, *Pharmacol. Ther.* 109 (2006) 1–11. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.05.010.

- [39] N.K.J. Oksala, D.E. Laaksonen, J. Lappalainen, S. Khanna, C. Nakao, O. Hämmänen, et al., Heat shock protein 60 response to exercise in diabetes: effects of alpha-lipoic acid supplementation, *J. Diabetes Complications*. 20 (2006) 257–261. doi:10.1016/j.jdiacomp.2005.07.008.
- [40] N.K.J. Oksala, J. Lappalainen, D.E. Laaksonen, S. Khanna, K. Kaarniranta, C.K. Sen, et al., Alpha-lipoic Acid modulates heat shock factor-1 expression in streptozotocin-induced diabetic rat kidney, *Antioxid. Redox Signal*. 9 (2007) 497–506. doi:10.1089/ars.2006.1450.
- [41] [41] M. Ugurlucan, D. Erer, O. Karatepe, S. Ziyade, A. Haholu, F. Gungor Ugurlucan, et al., Glutamine enhances the heat shock protein 70 expression as a cardioprotective mechanism in left heart tissues in the presence of diabetes mellitus, *Expert Opin. Ther. Targets*. 14 (2010) 1143–1156. doi:10.1517/14728222.2010.521500.
- [42] K. Tikoo, K. Singh, D. Kabra, V. Sharma, A. Gaikwad, Change in histone H3 phosphorylation, MAP kinase p38, SIR 2 and p53 expression by resveratrol in preventing streptozotocin induced type I diabetic nephropathy, *Free Radic. Res*. 42 (2008) 397–404. doi:10.1080/10715760801998646.
- [43] W.-P. Chen, T.-C. Chi, L.-M. Chuang, M.-J. Su, Resveratrol enhances insulin secretion by blocking K(ATP) and K(V) channels of beta cells, *Eur. J. Pharmacol*. 568 (2007) 269–277. doi:10.1016/j.ejphar.2007.04.062.
- [44] A. Hambroek, C.B. de Oliveira Franz, S. Hiller, A. Grenz, S. Ackermann, D.U. Schulze, et al., Resveratrol binds to the sulfonylurea receptor (SUR) and induces apoptosis in a SUR subtype-specific manner, *J. Biol. Chem*. 282 (2007) 3347–3356. doi:10.1074/jbc.M608216200.
- [45] S. Sharma, C.S. Misra, S. Arumugam, S. Roy, V. Shah, J.A. Davis, et al., Antidiabetic activity of resveratrol, a known SIRT1 activator in a genetic model for type-2 diabetes, *Phytother. Res. PTR*. 25 (2011) 67–73. doi:10.1002/ptr.3221.



Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



Erzurum ve çevresinde yetiştirilen bazı domates çeşitlerinin (*Lycopersicon esculentum*) besinsel bileşimi

İhsan Güngör Şat*¹, Nurhan Turhan²

Özet

Araştırmada Erzurum ve çevre illerde yetiştirilen 11 çeşit domatesin bazı kimyasal özellikleri incelenmiştir. Taze domateslerde kuru madde, suda çözünür kuru madde (SÇKM), pH, titrasyon asitliği, C vitamini, likopen ve β -karoten, kurutulmuş örneklerde de ham kül, ham protein ve ham selüloz analizleri yapılmıştır. Çeşitlerin incelenen parametreleri arasındaki farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir. Domates çeşitlerinde kurumadde; %4,98-7,43, SÇKM; %2,50-6,50, pH; 4,14-4,78, titrasyon asitliği; %0,38-0,85, C vitamini; 11,82-29,55 mg/100g, likopen; 29,00-83,00 mg/kg ve β -karoten miktarlarının 6,96-18,07 mg/kg, ham kül, ham protein ve ham selüloz miktarlarının ise kurumaddede sırasıyla %7,26-13,20, %10,87-22,84, %9,48-17,90 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Domates; besinsel bileşim; likopen

Nutrient composition of some tomato varieties (*Lycopersicon esculentum*) cultivated in Erzurum and surrounding provinces

Abstract

In this study some chemical composition were determined in eleven tomato cultivars which were cultivated in Erzurum and surrounding provinces. Dry matter, water soluble solids, pH, titratable acidity, vitamin C, lycopene and β -karoten analysis were determined in fresh tomato cultivars. Crude ash, crude protein and crude cellulose analysis were determined in dried tomato cultivars. There were many significant differences in the mean values between the analysed parameters according to the cultivars. Dry matter in tomato species were ranging from 4,98-7,43%, water soluble solids from 2,50-6,50%, pH from 4,14-4,78; titratable acidity from 0,38-0,85%, vitamin C from 11,82-29,55 mg/100g, lycopene from 29,00-83,00 mg/kg and β -caroten from 6,96-18,07 mg/kg. Crude ash, protein and cellulose in dry matter were determined to range from 7,26-13,20%, 10,87-22,84%, 9,48-17,9%, respectively.

Keywords: Tomato; nutrient composition; lycopene

1. Giriş

Domates (*Lycopersicon esculentum*), özellikle sanayileşmiş ülkelerde en fazla tüketilen, amatör olarak neredeyse bütün ev bahçelerinde yetiştirilen, sera şartlarında da üretimi yaz kış devam eden en popüler taze sebzelerden biridir. Taze olarak tüketildiği gibi gıda sanayi için önemli bir hammadde olan domates; soyulmuş domates, doğranmış domates, domates sosu, domates salçası, kurutulmuş domates ve ketçap gibi ürünlerin ana unsurunu oluşturmaktadır [1]. Yapılan çalışmalar, domates ve ürünlerinin tüketimi ile çeşitli kanser türleri ve koroner kalp hastalıkları riskinin azalması arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir [2]. Yemeklere kazandırdığı rengin yanı sıra besin öğeleri içeriği bakımından da oldukça zengindir. Çeşide, yetiştiği bölgeye, olgunluk düzeyine ve

yetiştirme tekniklerine bağlı olarak kimyasal bileşimi değişiklik göstermekle birlikte [3], domates ve ürünleri, C ve E vitamini, likopen, beta karoten ve fenolik maddeler gibi önemli antioksidan bileşenleri içermektedir. Bu bileşenlerden özellikle likopenin, sindirim sistemi hastalıkları, kanser (özellikle prostat kanseri) ve kalp damar hastalıklarının önlenmesinde etkili olduğu belirlenmiştir [4,5].

Dünyada birçok ülkede yetiştirilmekle birlikte Türkiye uygun iklim koşulları nedeniyle domates üretiminde önemli ülkelerden biridir. 2013 yılı verilerine göre Türkiye’de 311.000 ha alanda 11.820.000 ton yıllık domates üretimi olduğu belirtilmektedir [6]. Ülkemiz, domatesin gen merkezi içerisinde olmamasına rağmen geniş bir çeşitliliğe sahiptir ve dünya geneli üretim sıralamasında Çin, Hindistan ve ABD’den sonra 4. sırada yer almaktadır. Domates tarımındaki gelişmelerle tarımsal bölgelerin tümünde domates ekiliş alanları ve üretim miktarları yönünden yıllar itibarıyla hızlı artış görülürken, aynı zamanda üretilen

¹ Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240 Erzurum, Türkiye

² Gıda Yüksek Mühendisi, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: ihsat@hotmail.com

domates çeşitleri de çoğalmıştır. Bugün dünyada yetiştirilen domates çeşidinin 2000 civarında olduğu sanılmaktadır. Genel olarak domates çeşitleri; serada yetiştirilen çeşitler, açık arazide yetiştirilen çeşitler olarak sınıflandırılır. Açık arazide yetişen çeşitler ise kendi arasında sofralık (yer ve sırk), sanayi tipi (yer) diye başlıca iki sınıfa ayırmak mümkündür[7].

Bu araştırmada severek tükettiğimiz ve sağlık açısından önemli bir gıda olan domatesin bazı kimyasal özellikleri belirlenerek besinsel bileşiminin ortaya çıkarılmasına çalışılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Araştırmada açık arazide yetiştirilen tarla domates çeşitleri kullanılmıştır. Erzurum'un İspir ilçesinden Angon, Tortum ilçesinden Linda, Erzincan'ın Üzümlü ilçesinden Beril7314, Yağmur, Berilya, Malike, Alambra, Kağızman'dan Merve, Iğdır'dan Tanya, Tokat'tan Talget ve Yusufeli'nden kültürü belli olmayan ilçede yetiştirilen ve nesilden nesile geçmiş olan domates çeşidi (çalışmamızda Yusufeli olarak adlandırılmıştır) olmak üzere toplam 11 adet örnek incelenmiştir.

2.2. Metot

Taze domateslerde yapılan kimyasal analizler için domates örnekleri önce bıçakla parçalara ayrılıp blenderden geçirilerek homojenize edilmiştir. Kuru maddede yapılan analizler için etüvde 55 °C'de 48 saat kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra öğütülen (Tefal 800 Multifunction) örnekler, kilitli buzdolabı poşetlerine konularak analiz edilinceye kadar +4 °C'de saklanmıştır [8]. Taze domateslerde; kuru madde, SÇKM, pH, titrasyon asitliği ve C vitamini Keleş [9] ve Cemeroğlu [10]'na göre yapılmıştır. Likopen ve β-karoten tayini için, 50 ml'lik santrifüj tüpüne homojenize edilmiş taze domates örneğinden 2 g konularak üzerine 10 ml saf su ve 10 ml aseton eklenmiştir. İçerik kaynamaya başlayınca kadar kaynayan su banyosu içinde tutulmuş ve cam bir baget yardımıyla karıştırılmıştır. Tüp içeriği kaynamaya başlayınca 300 devir/dakikada 50 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki berrak sıvı, içerisinde 50 ml damıtık su ve 50 ml petrol eter bulunan 250 ml'lik ayırma hunisine aktarılmıştır. Daha sonra santrifüj tüpüne 10 ml daha aseton eklenip cam bagetle tüpteki katı maddeler karıştırılarak tekrar santrifüj edilmiştir. Üstteki berrak kısım ayırma hunisine aktarılmıştır. Bu işlem, aseton renksiz hale gelinceye kadar 4-5 kez tekrarlanmıştır. Petrol eter fazı 25 ml saf su ile üç kere yıkanmıştır. Karoten içeren petrol eter fazına susuz sodyum sülfat eklenerek karıştırılmış ve sodyum sülfatın çökmesi için beklenmiştir. Petrol eter fazı

100 ml'lik ölçü balonuna aktararak üzeri petrol eterle çizgisine tamamlanıp ağzı kapatılarak karıştırılmıştır. Kör olarak petrol eter kullanılarak spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) likopen için 505 nm'de, β-karoten için ise 452 nm'de örneklerin absorbanans değerleri ölçülmüştür. Likopen ve β-karoten miktarları sırasıyla Denklem 1 ve Denklem 2'ye göre hesaplanmıştır [11].

$$\text{Likopen miktarı} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{(E^{505}) \times V \times 5}{W} \quad (1)$$

$$\text{Karoten miktarı} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{(E^{452}) - ((E^{505}) \times \frac{1335}{2000})}{1477} \times \frac{V \times 10^4}{W} \quad (2)$$

Denklemlerde;

E⁴⁵²=452 nm'de karoten değeri

E⁵⁰⁵=505 nm'de likopen değeri

V=Eriyiğin son hacmi (ml)

W=Örnek miktarı (g)'dir.

Kurutulmuş domates örneklerinde ise; ham protein ve ham kül Keleş [9]'e göre, ham selüloz da Anon., [12]'a göre yapılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Taze domates örneklerinde yapılan analizler sonucu elde edilen veriler Çizelge 1' de gösterilmiştir.

Domates örneklerinde kurumadde miktarları %4,98-7,43 değerleri arasında değişmektedir. Talget çeşidi en yüksek kurumadde değerine sahip iken en düşük değer Yusufeli çeşidinde saptanmıştır. Salça sanayinde kullanılacak olan domateslerin en az %6 oranında kurumaddeye sahip olması istenmektedir. Buna göre kurumadde miktarları %6'nın üzerinde çıkan örnekler Talget çeşidinden sonra en yüksek kurumadde değerlerine sahip olan Tanya, Malike, Alambra, Merve ve Yağmur çeşitlerine ait örneklerdir. Domates örnekleri arasında kurumadde miktarları bakımından farklılıkların önemli (p<0,01) olduğu tespit edilmiştir. İspanyada dokuz çeşit domateste yapılan araştırmada kurumadde oranının %5,27-6,79 arasında olduğu belirlenmiştir [13]. Toor and Savage [1], domatesin kurumadde oranının %5,1-6,2 aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Domates örneklerinin SÇKM değerleri ise %2,50-6,50 arasında değişmektedir. Tanya ve Talget en yüksek SÇKM miktarına sahip olan iki çeşit olmuş bunları Alambra, Yağmur, Malike, Linda ve Berilya çeşitleri izlemiştir. En düşük SÇKM miktarı ise Angon çeşidinde tespit edilmiştir. Domateste çeşide, olgunluk devresine, depolama koşulları ve süresine bağlı olarak SÇKM miktarının değişebileceği bildirilmiştir [14-17].

Çizelge 1. Taze domates örneklerinde kimyasal analiz sonuçları

Çeşit	Kurumadde,%	SÇKM, %	pH	Titrasyon Asitliği	C Vit. (g/100g)	Likopen (mg/kg)	β-karoten (mg/kg)
Beril 7314	5,83±0,24	4,60±0,14	4,14±0,08	0,42±0,02	16,62±0,42	34,75±1,27	8,88±0,31
Yağmur	6,25±0,38	5,89±0,05	4,40±0,05	0,44±0,01	11,82±0,28	38,92±0,23	13,50±0,64
Merve	6,35±0,35	4,80±0,00	4,15±0,11	0,61±0,04	24,99±0,72	35,50±0,92	16,32±0,61
Angon	5,71±0,16	2,50±0,14	4,41±0,16	0,45±0,02	20,90±0,70	46,50±0,76	11,12±0,24
Tanya	6,71±0,01	6,50±0,14	4,29±0,16	0,51±0,04	28,85±0,64	30,00±2,46	12,15±0,38
Talget	7,43±0,41	6,50±0,00	4,40±0,14	0,54±0,03	29,55±0,50	59,75±2,12	12,70±0,45
Linda	5,35±0,08	5,00±0,00	4,56±0,17	0,38±0,03	26,20±0,28	81,24±0,34	16,94±0,45
Yusufeli	4,98±0,14	4,20±0,00	4,78±0,20	0,44±0,01	15,45±0,21	31,25±1,70	10,01±0,20
Malike	6,66±0,23	5,20±0,14	4,35±0,09	0,48±0,01	23,70±0,42	69,00±1,06	15,80±0,51
Berilya	5,96±0,17	5,00±0,00	4,25±0,09	0,85±0,01	19,80±0,00	83,00±0,35	18,07±0,41
Alambra	6,40±0,28	5,95±0,07	4,40±0,07	0,62±0,02	18,60±0,21	29,00±0,91	6,96±0,52

Domates örnekleri arasında SÇKM değerleri açısından farklılıklar önemlidir ($p<0,01$). Genel olarak domates çeşitlerinde SÇKM miktarının %5,57-6,54 arasında değişebileceği bildirilmiştir [18]. Şen ve Ark. [19], dört farklı sera domatesinde yaptıkları bir çalışmada suda çözünür kurumadde miktarının %4,1-5,0 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Kaur et al. [20], yedi çeşit domatesin olgunlaşma süresince (yeşilden kırmızı olum devresine kadar) yaptıkları çalışmada SÇKM miktarının %4,15-6,62 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Gomez et al. [21], oniki çeşit domatesin SÇKM miktarının %3,15-5,38 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Kiraz domateslerde yapılan bir çalışmada suda çözünür kurumadde miktarının %5,03-6,07 arasında olduğu bildirilmiştir [22]. Martinez et al. [13], İspanyada dokuz çeşit domates çeşidinde yaptıkları çalışmada SÇKM miktarının %4,00-7,50 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Tespit edilen değerlerle önceki çalışmalar uyum göstermektedir.

Domates örneklerinin pH değerleri 4,14-4,78 arasında değişmektedir. En yüksek pH değeri Yusufeli çeşidinde en düşük pH değeri ise Beril 7314 çeşidinde saptanmıştır. Bu çalışmada domates çeşitlerinin pH değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Turhan ve Şeniz [23], 33 domates genotipinde pH değerini 3,78-5,25, Caliman et al. [24] Brezilya'da yetiştirilen 4 domates çeşidinde 4,34-4,56, Rai et al. [25], 4 çeşit domateste 3,78-4,24 olarak belirlemişlerdir. Araştırma bulgularımız literatür değerleriyle uyumludur.

Örneklerin titrasyon asitliği değerleri sitrik asit cinsinden % 0,38-0,85 arasında değişmektedir. En yüksek titrasyon asitliği değeri Berilya en düşük titrasyon asitliği değeri ise Linda çeşidinde tespit edilmiştir. Titrasyon asitliği değerleri bakımından çeşitler arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Şen ve ark. [19], sera domateslerinde titre edilebilir asitliği %0,40 ile %0,45 arasında belirlemişlerdir. Kaur et al. [20], yedi çeşit taze domateste yaptıkları çalışmada olgun çeşitlerde titre edilebilir asit miktarının 0,43-0,54 g/100g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Toor ve Savage [1], üç domates çeşidinde yaptıkları çalışmada titre edilebilir asit oranının %0,41-0,56 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada bazı çeşitlerin önceki çalışmalara yakın olduğu, bazı çeşitlerde de farklılıklara rastlanıldığı görülmüştür. Domateste çeşide, yetiştirme tekniklerine ve depolama şartlarına bağlı olarak titre edilebilir asit miktarı değişebilmektedir [14,16,17].

C vitamini miktarları 11,82-29,55 mg/100g arasında değişmektedir. En yüksek C vitamini miktarı Tanya ve Talget çeşitlerinde, en düşük ise Yağmur çeşidinde saptanmıştır. Domates örneklerinin C vitamini içerikleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). Şen ve ark. [19], sera domateslerinde C vitamini oranını 11,30-14,03 mg/100ml olarak tespit etmişlerdir. Lavelli et al [26], taze domateslerde askorbik asit oranlarını kuru maddede 1550-3050 µg/g olarak tespit etmişlerdir. Gabuniya et al. [18], domateslerde askorbik asit miktarının 19-30 mg/100g arasında olduğunu belirlemişlerdir. Toor and Savage [1], kurumadde de C Vitamini miktarının 247-310 mg/100g arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Kaynaş ve ark. [14], domatesin C vitamini bakımından zengin sebze türleri arasında yer aldığını; çeşide, olgunluk düzeyine ve yetiştirme şartlarına bağlı olarak miktarının 5,6-15,7 mg/100g arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Domatesin en önemli bileşenlerinden biri olan likopen, en yüksek 83,0 mg/kg ile Berilya çeşidinde, en düşük ise 29,0 mg/kg ile Alambra çeşidinde saptanmıştır. Domates örneklerinin likopen içerikleri arasındaki farklılık $p<0,01$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Bramley [27], taze domateste 8,8-42,0 µg/g, domates suyunda 50,0-116,0 µg/g,

domates sosunda 62,0 µg/g, domates ketçabında 99,0-134,0 µg/g, domates salçasında 54,0-1500 µg/g oranlarında likopen bulunduğunu bildirmiştir. Yedi çeşit domateste olgunlaşma süresince yapılan çalışmada olgun domateslerin pulp kısmında bulunan likopen miktarının 3,12-6,73 mg/100g arasında, kabuğunda ise 7,97-14,28 mg/100g arasında değiştiği bildirilmiştir [20]. Gomez et al. [21], İspanya'da yöresel olarak yetiştirilen oniki çeşit domateste likopen oranlarının 0,054-0,0986 g/kg olduğunu bildirmişlerdir. Martinez et al. [13], İspanyada dokuz domates çeşidinde yaptıkları çalışmada likopen miktarlarını 18,60-64,98 mg/kg aralıklarında tespit etmişlerdir. Leonardi et al. [28], farklı şekil ve büyüklükteki domates çeşitlerinde yaptıkları çalışmada likopen oranlarının 0,11-10,80 mg/100g arasında değiştiğini ve bu farklılıkların domates çeşidi, yetiştirme teknikleri ve olgunluk durumuna göre değişebileceğini belirtmişlerdir. Takeoka et al. [29], taze domateste likopen miktarlarını 17,32-23,65 mg/100g arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Çeşitler arasındaki farklılık olgunluk durumuna ve yetiştirme çevre ile iklim koşullarına bağlı olmakla birlikte özellikle sıcaklık arttıkça kabuk rengi de artmaktadır [30]. Domateste bulunan likopen miktarının renk yoğunluğu, domatesin genetik yapısı, gübreleme, toprağın yapısı, güneşe maruz kalma, depolama, sulama ve olgunluk durumuna bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir [13,31,32]. Domates çeşitlerinde en yüksek β-karoten miktarının 18,07 mg/kg ile Berilya çeşidinde, en düşük miktarın ise 6,96 mg/kg ile Alambra çeşidinde olduğu tespit edilmiştir. Domates örneklerinin β-karoten içerikleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). Domateste β-karoten miktarının 540-2300 µg/100g arasında olduğu bildirilmiştir [33]. Lavelli et al. [26], taze domates çeşitlerinde β-karoten oranlarının kuru maddede 56-161 µg/g aralıklarında olduğunu belirtmişlerdir. Leonardi et al. [28], farklı şekil ve büyüklükteki domates çeşitlerinde yaptıkları çalışmada β-karoten miktarlarının 0,08-1,05 mg/100g arasında değiştiğini ve bu farklılıkların domates çeşidi, olgunluk durumu ve yetiştirme tekniklerine bağlı olarak değişebileceğini bildirmişlerdir. Bulduğumuz değerler literatür ile uyum göstermektedir.

Domates örneklerinin ham protein, ham kül ve ham selüloz miktarları kuru ağırlık üzerinden hesaplanmıştır. Bu analizlere ait sonuçlar Çizelge 2' de verilmiştir. Ham protein miktarları, kurumadde en yüksek %22,84 ile Yusufeli çeşidinde, en düşük %10,87 ile Alambra çeşidinde tespit edilmiştir. Çeşitler arasında ham protein oranları bakımından farklılıklar önemlidir ($p<0,01$). Duke and Atchely [34], domateslerde protein miktarının kurumadde ortalama olarak %16,6 olduğunu bildirmişlerdir. Hernandez Suarez et al. [35], altı çeşit olgun domateste protein miktarının yaş ağırlık üzerinden %0,78-0,87 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Pinela et al. [36], dört çeşit domateste yaptıkları çalışmada protein miktarlarının yaş ağırlık üzerinden %0,40-0,61 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Görüldüğü gibi domates çeşitleri kurumaddeinde değerlendirildiğinde yüksek miktarda protein içermektedir. Bu durum domatesin beslenme için yerini daha da önemli kılmaktadır.

Domates çeşitlerinde ham kül miktarları açısından önemli farklılığın ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Kurumadde üzerinden en yüksek miktar Yusufeli çeşidinde %13,20, en düşük miktar ise Talget çeşidinde %7,26 olarak tespit edilmiştir. Domateslerde kurumadde kül miktarının ortalama olarak %8,1 olduğu bildirilmiştir [34]. Çeşitlerin ham selüloz miktarları kurumadde %9,48-17,90 arasında değişmektedir. Çeşitler arasında ham selüloz oranları bakımından farklılıklar önemlidir ($p<0,01$). Guil-Guerrero ve Reboloso-Fuentes [37], sekiz domates çeşidinde ham selüloz miktarlarının yaş ağırlık üzerinden %0,74-1,60

Çizelge 2. Domates örneklerinin ham protein, ham kül ve ham selüloz miktarları, %

Çeşit	Ham Protein	Ham Kül	Ham Selüloz
Beril 7314	15,04±0,92	8,37±0,16	9,48±0,33
Yağmur	14,79±0,25	10,48±0,03	10,82±0,56
Merve	16,89±0,21	9,16±0,13	13,82±0,24
Angon	22,75±0,08	11,79±0,07	12,79±0,71
Tanya	17,99±0,18	8,20±0,11	13,38±0,88
Talget	13,62±0,45	7,26±0,09	17,90±0,47
Linda	18,12±0,04	10,37±0,12	13,35±0,21
Yusufeli	22,84±0,01	13,20±0,35	15,40±0,07
Malike	11,78±0,18	10,42±0,29	14,60±0,92
Berilya	11,60±0,35	9,71±0,08	14,15±0,07
Alambra	10,87±0,34	10,23±0,29	14,15±0,14

arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Suda çözünmeyen diyet lifi olan selülozun kan şekerini düzenlemesi, kolesterol seviyesini düşürmesi, bağırsak kanseri ve kalp-damar hastalıklarına karşı koruyucu olması bakımından sağlık üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır.

4. Sonuçlar

Bu çalışmada Erzurum ve çevre illerinde yetiştirilen Beril 7314, Yağmur, Merve, Angon, Tanya, Talget, Linda, Yusufeli, Malike, Berilya ve Alambra domates çeşitlerinin bazı kimyasal özellikleri incelenmiştir. Salça üretiminde salçaya işlenecek domateslerde rengin kırmızı olmasının yanı sıra kuru madde miktarlarının da yüksek olması istenmektedir. Talget, Tanya, Malike, Alambra, Merve ve Yağmur çeşitleri yüksek kurumadde içeriklerinden dolayı salça üretimi için önerilebilir. Salçalık domates çeşitlerinde asitlik miktarının düşük olması istenmektedir. Kurumaddeleri yüksek olan çeşitlerin nispeten düşük asitlik değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Domates çeşitleri günde iki porsiyon tüketildiğinde günlük C vitamini ihtiyacının yarısını karşılamaktadır. Kuvvetli bir antioksidan olan likopen çeşitlerde günlük ihtiyacı karşılayacak miktarda bulunmaktadır.

Referanslar

- [1] Toor R, Savage G., Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. Food Res. Int., 38: 487-494, 2005.
- [2] Burdurlu H.S. ve Karadeniz F., Likopen ve Sağlık. Standart, 21-27, 2003.
- [3] Gautier H., Rocci A., Fruit load or fruit position alters response to temperature and subsequently cherry tomato quality. J.Sci. Food Agric., 85:1009-1016, 2005.
- [4] Agarwall S., Rao A.V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. J Am Coll Nutr., 19, 563-569, 2000.
- [5] Rao A.V., Agarwall S., Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases. A Review Nutr. Res., 2 (19), 305-323, 2000.
- [6] Anonymous, Agriculture Production Data. <http://faostat3.fao.org> Erişim tarihi: 10 Kasım 2015, 2015.
- [7] Bingöl Ş., Türkiyede Domates Salçası Sanayinde Gelişmeler ve Pazarlama Durumu, 31-35s, Erzurum, 1980.
- [8] El-Adawy T.A., Rahma E.H., El-Bedawy A.A., Sobihah T.Y., Effect of soaking process on nutritional

quality and protein solubility of some legume seeds. Nahrung/Food, 44 (5), 339-343, 2000.

- [9] Keleş F., Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Laboratuvar Notları, Erzurum, 1983.
- [10] Cemeroglu B., Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metotları, Ankara, 1992.
- [11] Anonim, Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri Kitabı. T.C. Tarım ve Orman Köyişleri Bakanlığı Gıda İşleri Genel Müdürlüğü. 72s, 265-266s, Ankara, 1983.
- [12] Anonymous., Official Methods of Analysis. Association of Chemists, Washington, DC, 1975.
- [13] Martinez-Valverde I., Periago J.M., Provan G. and Chesson A., Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*), J Sci Food Agric., 82 (3), 323-330, 2002.
- [14] Kaynaş K., Çelikel G., Türkeş N., Sürmeli N., Yalova ve İznik bölgesinde yetiştirilen bazı domates çeşitlerinin depolama olanakları ve fizyolojileri üzerine çalışmalar. Açıkta Sebze Yetiştiriciliği Araştırma Projesi Ara Sonuç Raporu. Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, 1988.
- [15] Picha D.H., Ripening and storage characteristics of the "alcobaca" ripening mutant in tomato. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109 (4): 504-507, 1984.
- [16] Tuncel N., Yanmaz R., Ağaoğlu S.Y., Domatesin derim sonrası fizyolojisi ve soğukta muhafazası üzerine araştırmalar: I. Farklı olgunluk devrelerinde yapılan derimin olgunlaşma sırasındaki bazı kalite özellikleri üzerine etkileri. Gıda 16 (2) 131-137, 1991.
- [17] Tuncel N., Yanmaz R., Ağaoğlu S., Domatesin derim sonrası fizyolojisi ve soğukta muhafazası üzerine araştırmalar: Türkiye I. Ulusal bahçe Bitkileri Kongre Bildirileri, İzmir, Cilt II. 283-285, 1992.
- [18] Gabuniya N., Esaiasvili L., Chemical composition of tomatoes. G. Nauc. Sku Ins. P. Promyshlennosti, 142-146 Trudy, 1971.
- [19] Şen F., Uğur A., Bozokalfa M.K., Eşiyok D., Boztok K., Bazı Sera Domates Çeşitlerinin Verim Kalite ve Depolama Özelliklerinin Belirlenmesi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 41 (2):9-17, 2004.
- [20] Kaur D., Sharma R., Wani A.A., Gill B.S. and Sogi D.S., Physicochemical changes in seven tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivars during ripening. Int. J. Food Properties, 9: 747-757, 2006.

- [21] Gómez R., Costa J., Amo M., Alvarruiz A., Physicochemical and colorimetric evaluation of local varieties of tomato grown in SE Spain, *J Sci Food Agric.*, 81: 1101-1105, 2001.
- [22] Raffo A., Leonardi C., Fogliano V., Ambrosino P., Salucci M., Gennaro L., Bugianesi R., Giuffrida F., Quaglia G., Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *J Agric Food Chem.* 50(22):6550-6556, 2002.
- [23] Turhan A., Seniz V., Estimation of certain chemical constituents of fruits of selected tomato genotypes grown in Turkey, *Afr. J. Agric. Res.*, 4 (10), 1086-1092, 2009.
- [24] Caliman F.R.B., da Silva D.J.H., Stringheta P.C., Fontes P.C.R., Moreira G.R., Mantovani E.C., Quality of tomatoes grown under a protected environment and field conditions. *Páginas* 28:75–82, 2010.
- [25] Rai G.K., Kumar R., Singh A.K., Rai P.K., Rai M., Chaturvedi A.K. and Rai A.B., Changes in antioxidant and phytochemical properties of tomato (*Lycopersicon esculentum* mill.) under ambient condition. *Pak. J. Bot.*, 44(2): 667-670, 2012.
- [26] Lavelli V., Claudio P., and Rizzolo A, Antioxidant Activity of Tomato Products As Studied by Model Reactions Using Xanthine Oxidase, Myeloperoxidase, and Copper-Induced Lipid Peroxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (5), 1442–1448, 2000.
- [27] Bramley P.M., Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry.* 54(3):233-6, 2000.
- [28] Leonardi C., Ambrosino P., Esposito F. and Fogliano V., Antioxidant activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. *J Agric Food Chem.*, 48, 4723-4727, 2000.
- [29] Takeoka G., Dao L., Flessa S., and Gillespie D., Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 3713-7, 2001.
- [30] Gautier H., Rocci A., Buret M., Grasselly D., Causse M. Interactions between Fruit load or fruit position alters response to temperature and subsequently cherry tomato quality. *J Sci Food Agric.*, 85 (6) 1009-1016, 2005.
- [31] Tawfik E., Lycopene content in raw tomato varieties and tomato products. Food and Nutrition Division of California State University, 2002.
- [32] Anonymous, Lycopene. <http://www.lycopene.org/> (15.12.2006), 2006
- [33] Cemeroglu B. ve Acar J., Meyve ve sebze işleme teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No:6, Ankara, 1986.
- [34] Duke J.A., and Atchley A.A., CRC handbook of proximate analysis tables of higher plants. Boca Raton, Fla: CRC Press, 1986.
- [35] Hernandez Suarez M., Rodriguez Rodriguez E.M., Diaz Romero C., Chemical composition of tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands, *Food Chem.*, 106 1046–1056, 2008.
- [36] Pinela J., Barros L., Carvalho A.M., Ferreira ICFR., Nutritional composition and antioxidant activity of four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmer' varieties in Northeastern Portugal homegardens, *Food Chem. Toxic.*, 50, 829–834, 2012.
- [37] Guil-Guerrero J.L., Reboloso-Fuentes M.M., Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties, *J. Food Compos. Anal.*, 22, 123–129, 2009.



Türk Doğa ve Fen Dergisi Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



In vitro* antioxidant activities of various solvent extracts from *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita

Mehmet Kadir Erdogan¹, Gıyasettin Baydas*²

Abstract

In this study, the antioxidant activities of the aerial parts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* were investigated by using different methods. For this purpose, after the plants were dried and ground to fine powder, the aerial parts extractions were done separately by using acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water as solvents. In order to determine the antioxidant and radical scavenging activities, each extract were assayed by various methods including DPPH• free radical scavenging activity, metal chelating capacity, total reducing power, hydrogen peroxide scavenging activity, total antioxidant activity. Furthermore, total phenol contents by Folin-Ciocalteu reagent (FCR), total β -carotene and lycopene contents, total flavonoid contents and total phenolic acid contents of each extract were determined. The results were evaluated by comparing with the standard antioxidant BHA, BHT and α -tocopherol. In all methods, various solvent extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* were found to be effective against free radicals.

Keywords: Antioxidant activity; *T. balsamita* L. subsp. *Balsamita*; free radicals; Flavonoid; medicinal plant

***Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinden elde edilen farklı çözücü ekstraktlarının *in vitro* antioksidan aktiviteleri**

Özet

Bu çalışmada *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin topraküstü kısımlarının antioksidan aktiviteleri çeşitli yöntemler kullanılarak incelendi. Bu amaçla, bitki kurutulup öğütüldükten sonra toprak üstü kısmının ekstraksiyonu çözücü olarak aseton, etil asetat, diklorometan, metanol ve saf su kullanılarak ayrı ayrı yapıldı. Antioksidan ve radikal giderme aktivitelerinin belirlenmesi için, her bir ekstre DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi, toplam indirgeme gücü, hidrojen peroksit giderme aktivitesi, toplam antioksidan aktivitesi gibi çeşitli metodlarla analiz edildi. Ayrıca her bir ekstre nin Folin-Ciocalteu ayrıacı ile toplam fenol içeriği, toplam β -karoten ve likopen içeriği, toplam flavonoid içeriği ve fenolik asit içeriği de belirlendi. Sonuçlar BHA, BHT, α -tokoferol standart antioksidan maddeleriyle kıyaslanarak değerlendirildi. Kullanılan bütün yöntemlerde, serbest radikallere karşı *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin ekstraktlarının etkili olduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite; *T. balsamita* L. subsp. *Balsamita*; serbest radikal; Flavonoid; tıbbi bitki

Abbreviations: DPPH•, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; BHA, butylated hydroxyanisole; BHT, butylated hydroxytoluene; ROS, reactive oxygen species; sodium phosphate (NaH₂PO₄); ferrozine, 3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phenyl-sulfonic acid)-1,2,4-triazine; sodium hydroxide (NaOH); iron-II-chloride (FeCl₂·4H₂O); potassium ferricyanide [K₃Fe(CN)₆]; iron-III-chloride (FeCl₃); sodium carbonate (Na₂CO₃); Folin-Ciocalteu reagent (FCR); sodium nitrite (NaNO₂); hydrochloric acid (HCl); hydrogen peroxide (H₂O₂); sulfuric acid (H₂SO₄); 1,10-phenanthroline; trichloroacetic acid (TCA); aluminum chloride (AlCl₃); sodium nitrate (NaNO₃); sodium molybdate (Na₂MoO₄); ammonium molybdate [(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O]; dw, dry weight.

1. Introduction

Living organisms need energy for biological processes and produce of this energy trigger the oxidation. However, oxygen-centred free radicals and other reactive oxygen species (ROS), such as hydroxyl radicals (OH•), singlet oxygen (¹O₂), hydrogen peroxide (H₂O₂) and superoxide anion radicals (O₂⁻), are continually produced *in vivo* and

result in cell death and tissue damage. The oxygen radicals play an important role in different diseases, including cardiovascular diseases, diabetes, cancer and ageing, etc [1]. Although the organisms protect themselves against the oxidative damage by using a variety of defense systems, such as endogenous enzymes (e.g., glutathione peroxidase, SOD, catalase) and by dietary antioxidant molecules that accumulate within cells (e.g., ascorbic acid, α -tocopherol, β -carotene, isoflavones), constantly accumulation of chemicals and contaminants in the body may cause the high level of

¹ Bingöl University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 12000 Bingöl, Turkey

² Bingöl University, Bingöl University Rectorate, 12000 Bingöl, Turkey

*Corresponding author E-mail: baydas@hotmail.com; Tel.: (+90) (426) 216-0001 (3400); Fax: (+90) (426) 215-1020

free radicals beyond control and irreversible oxidative damage [2,3]. Antioxidants are compounds that are able to inhibit or prevent the oxidation processes. Since the beginning of this century, synthetic antioxidants such as butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) have been used as antioxidants [4]. Because of the potential risks of synthetic antioxidants as promoters of carcinogenesis and liver swelling, there is a huge interest in the use of natural antioxidants and establishing their association with health benefits [5]. The plant kingdom, including medicinal and dietary plants, offers many natural phytochemicals, e.g. phenolic diterpenes, flavonoids and phenolic acids. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of these compounds might help prevention of oxidative damage [6,7]. The genus *Tanacetum* (Compositae) is distributed in Europe and West Asia throughout the northern temperate regions. It contains several annual and perennial species. *Tanacetum* is represented in Turkey by 44 species and altogether 59 taxa [8]. *Tanacetum* spp. are rich in essential oils, bitter substances and sesquiterpene lactones and are used for their antihistaminic, anti-inflammatory and insecticidal effects [9]. *T. balsamita* L. subsp. *balsamita*, has been cultivated in Europe (as costmary) since mediaeval times as a culinary and medicinal herb [8].

The current study is aimed to investigate the *in vitro* antioxidant activities of various solvent extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* as well as the contents of total phenols, phenolic acids, flavonoids, antioxidant, β -carotene and lycopene in order to evaluate its potential as a substitute for synthetic antioxidants. Additionally, another aim is evaluated to the relationship between antioxidant capacity and the quantity of phenolic substances in the samples. The current study is a first attempt to analyze the phytochemical content and antioxidant activities of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* extracts.

2. Material and Methods

2.1. Chemicals and reagents

Sodium phosphate (NaH_2PO_4), sodium hydroxide (NaOH), sodium nitrite (NaNO_2), iron-II-chloride ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH \cdot), hydrochloric acid (HCl), iron-III-chloride (FeCl_3), sodium carbonate (Na_2CO_3), Folin-Ciocalteu reagent (FCR), potassium ferricyanide [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$], sulfuric acid (H_2SO_4) and α -tocopherol were obtained from Sigma-Aldrich.

Hydrogen peroxide (H_2O_2), ferrozine, 1,10-phenanthroline, trichloroacetic acid (TCA), aluminum chloride (AlCl_3), sodium nitrate (NaNO_3), gallic acid, sodium molybdate (Na_2MoO_4), butylated hydroxytoluene (BHT), ammonium molybdate [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$], butylated hydroxyanisole (BHA), quercetin, caffeic acid, acetone, ethyl acetate, dichloromethane and methanol were purchased from Merck. All chemicals and solvents used in these studies were of analytical grade.

2.2. Plant and extraction procedure

The aerial parts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* were collected from Bingol region (38°50'10"N, 40°24'45"E, 1755 m), located in the east Turkey province, during July 2011. A voucher specimen (no. BIN-HER-91) has been deposited in the Herbarium of the Department of Biology, University of Bingol, Turkey.

The aerial parts of sample was dried at room temperature and pulverized. The powdered aerial parts of plant (20 g) was extracted for three times with 150 ml of five different solvents of increasing polarity

(dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol, water) using a Soxhlet extractor. Consequently, extracts were filtered and the combined filtrates were concentrated in a rotary evaporator at 50 °C. All solvent extracts kept in the fridge (4 °C) until use.

2.3. Total phenolic content

The amount of total phenolic compounds in various solvent extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* was determined by Folin-Ciocalteu reagent according to method of Singleton and Rossi, with some modifications [10]. Briefly, 200 μL (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) of the extract solution was mixed with the Folin-Ciocalteu reagent (200 μL). After addition of 200 μL 2% sodium carbonate (Na_2CO_3) solution and 1.4 mL water, the mixture was vortexed and the absorbance was read after 1 h against water at 760 nm, using a Shimadzu UV-Vis V650 spectrophotometer (the same equipment was used for all spectrophotometric analysis). Gallic acid was used to prepare a calibration curve (50-500 $\mu\text{g}/\text{mL}$; $y = 0.0023x + 0.0521$; $R^2 = 0.9999$; y value indicates the absorbance; x value indicates the solution concentration). The amount of total phenolic compounds was calculated as gallic acid equivalents (GAE) in milligrams per gram dry plant extract. Analysis was repeated in triplicate and the mean value was reported.

2.4. Total phenolic acid content

The total phenolic acid content of extracts was determined by the method of Koncic et al., with minor modifications [11]. To 0.25 mL of the plant extracts (1 mg/mL) were added 0.5 mL of 0.5 M hydrochloric acid and 0.5 mL of reagent (a mixture of 1 g of sodium nitrite and 1 g sodium molybdate in 10 mL of water). Afterwards, 8.5% (w/w) solution of sodium hydroxide (0.5 mL) and 2.25 mL water were mixed to solution. The resulting mixture was then vortexed vigorously and absorbance was measured spectrophotometrically at 505 nm. For each extract blank solutions were prepared with 0.25 mL extract and 2.25 mL water. The total phenolic acid content was expressed as caffeic acid equivalents (mg CAE/g extract) from a standart curve recorded for this standard (100-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; $y = 0.0002x + 0.125$; $R^2 = 0.9912$; y value indicates the absorbance; x value indicates the solution concentration).

2.5. Total flavonoid content

The content of flavonoids was determined by using a method described by Chang et al. [12]. Briefly, 250 μL of 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ plant extract was mixed with 30 μL of NaNO_2 15% solution and 15 μL of 10% AlCl_3 solution. After centrifugation and 5 min at room temperature, 200 μL of 4% NaOH and 0.5 mL water were added, then the mixture was vortexed and the absorbance was measured after 40 min at 415 nm. Blank sample was prepared like resulting mixture but not including plant extract. The results were expressed as quercetin equivalents (QE) in milligrams per gram of samples from calibration curve (50-500 $\mu\text{g}/\text{mL}$; $y = 0.0033x + 0.0749$; $R^2 = 0.9977$; y indicates the absorbance; x indicates the solution concentration).

2.6. Free radical scavenging activity by using DPPH \cdot

Measurement of free radical scavenging capacity of extracts was based on the reported procedure using the stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH \cdot) which described by Blois, with slight modification [13]. In this experiment, extracts (0.05-0.20 mg/mL) diluted in methanol (1 mL) was mixed with 1 mL DPPH \cdot solution in methanol

(0.1 mM). The reaction mixture was vigorously shaken and incubated in the dark for 30 min. Afterwards the absorbance at 517 nm was measured against blank sample. Decreased absorbance of the reaction mixture show the heighten free radical scavenging activity. The percentage inhibition of free radical DPPH• (I%) was calculated by using Equation 1:

$$I\% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (1)$$

In equation 1 A_0 is the absorbance of the control and A_1 is the absorbance of the tested sample. BHA, BHT and α -tocopherol dissolved in methanol were also analyzed for comparison. DPPH• solution was used as control and methanol was used as blank. All data are an average of triplicate analyses.

2.7. Scavenging of hydrogen peroxide

Hydrogen peroxide scavenging activity of the various solvent extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* was measured according to the method of Ruch et al. [14]. To 1 mL of various concentrations of extracts (5–20 μ g/mL), 2.4 mL of phosphate buffer (0.1 M H_2SO_4 , pH=7.4) and 0.6 mL H_2O_2 (40 mM H_2O_2) was added. After the mixed solution was vigorously shaken it was incubated in the dark for 30 min and the absorbance was measured at 230 nm. The percentage of scavenging of hydrogen peroxide was calculated by using Equation 2.

$$\text{Scavenging rate } \% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (2)$$

In Equation 2 A_0 was the absorbance of the control (without extract) and A_1 was the absorbance in the presence of the extract. BHA, BHT and α -tocopherol were used for comparison. As blank sample, phosphate buffer was used. All analyses were performed in triplicate and the results were represented as mean \pm standard deviations.

2.8. Metal chelating activity on ferrous ions

Metal-chelating abilities of acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* and standards was estimated by the method of Dinis et al. [15]. Briefly, each extract at different concentrations (25, 50, 75, 100 μ g/mL) was added to a solution of 2 mM $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ (25 μ l) and this mixture incubated at room temperature for 60 min. After 5 mM ferrozine (100 μ l) was added then, the final mixture was shaken vigorously and left stand at room temperature for 10 min until stable absorption values were obtained. The absorbance of the mixture was read at 562 nm. The percentage inhibition of ferrozine- Fe^{2+} complex formation was calculated using the following equation:

$$\% \text{ of inhibition} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (3)$$

A_0 was the absorbance of the control ($FeCl_2$ and ferrozine) and A_1 was the absorbance of the sample extracts and standards. All experiments were done in triplicate and the results were represented as mean \pm standard deviations.

2.9. Reducing power assay

The reducing power of solvent extracts was determined by the method of Oyaizu, with minor modification [16]. The extracts at different concentrations (50–200 μ g) were mixed with sodium phosphate buffer (1 mL, 0.2 M, pH 6.6) and potassium ferricyanide [$K_3Fe(CN)_6$] (1 mL, 1%). The mixture was incubated at 50 °C for 20 min. After the incubation, trichloroacetic acid (1 mL, 10%) was added to

the mixture, followed by centrifuging at 3000 rpm for 10 min. The upper layer of solution (1 mL) was mixed with distilled water (1 mL) and ferric chloride (0.2 mL, 0.1%), and the absorbance was measured at 700 nm. Higher absorbance of the reaction mixture indicated increased reductive power. BHA, BHT and α -tocopherol were used for comparison. Analysis was repeated in triplicate and the mean value was reported.

2.10. Total β -carotene and lycopene contents

β -carotene and lycopene contents of plant extracts were determined according to the method of Barros et al. [17]. 50 mg of each dried extract was separately mixed with 5 mL of acetone–hexane mixture (2:3) and this mixture was shaken for 1 min, then filtered by Whatman no. 4 filter paper. The absorbance of the filtrate was read at 453, 505 and 663 nm. β -carotene and lycopene content of plant material was calculated using the Equation 4 and 5 respectively.

$$\text{Lycopene (mg/100 mL)} = -0.0458A_{663} + 0.372A_{505} - 0.0806A_{453} \quad (4)$$

$$\beta\text{-carotene (mg/100 mL)} = 0.216A_{663} - 0.304A_{505} + 0.452A_{453} \quad (5)$$

The assays were performed in triplicate for each sample and the results were represented as mean \pm standard deviations and expressed as milligrams of carotenoid per gram of extract.

2.11. Total antioxidant capacity assay

The total antioxidant capacity of the plant extracts was evaluated according to the method of Prieto et al. [18]. 0.2 mL sample extract, which was prepared with different solvents (acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water), was combined in a tube with 2 mL of reagent solution (0.6 M sulphuric acid, 28 mM sodium phosphate and 4 mM ammonium molybdate). The tubes were capped and the reaction mixture was incubated at 95 °C for 90 min. After the mixtures had cooled to room temperature, the absorbance of the each mixture was read at 695 nm against a blank solution which contained 2 mL of reagent solution and 0.2 mL methanol. The readings were taken each 30 min and the results were expressed as α -tocopherol equivalents (α -TE) in milligrams per gram of samples from calibration curve (200–1000 μ g/mL; $y = 0.0025x + 0.3545$; $R^2 = 0.9933$; y value indicates the absorbance; x value indicates the solution concentration).

2.12. Statistical analysis

The experimental results were expressed as means \pm SD of three replicates of each sample measurements. Statistical analysis was carried out by ANOVA procedure.

3. Results and discussion

The values of total extractable compounds ranged from 43.5 to 93.5 mg/g dry extract and was 43.5, 78.0, 93.5, 89.5 and 75.0 mg/g for acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water extracts, respectively. These results presented in Table 1 as total extractable compounds. The highest amount of total extractable compounds obtained when dichloromethane (93.5 mg/g dw) and methanol (89.5 mg/g dw) used as solvents while the lowest value of them resulted in acetone extract (43.5 mg/g dw). The extraction ability of ethyl acetate (78.0 mg/g dw) and water (75.0 mg/g dw) were almost same.

The phenolic, phenolic acid and flavonoid contents of extracts are closely related with antioxidant activity and it

has been implicated by many studies [19,20]. Additionally, the solvent used in extraction may also affect the antioxidant capacity of the extract [19].

Total phenolic content of extracts, as gallic acid equivalents (GAE) in milligrams per gram dry plant extract, was maximum when methanol was used (103.25±1.01) followed by acetone (76.81±2.08), ethyl acetate (63.90±0.74), water (54.70±1.93) and dichloromethane (46.75±2.09) (Table 1).

Total phenolic acid content of different solvent extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* exhibited the following order: dichloromethane > ethyl acetate > acetone > methanol > water; 0.89; 0.68; 0.59; 0.49 and 0.34 mg CAE/g dry plant material, respectively (Table 1).

With regard to the *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* extracts, Table 1 illustrates that the sequence for total flavonoid content was dichloromethane > acetone > methanol > ethyl acetate > water. The total flavonoid content of extracts were 60.48±5.48; 45.67±3.64; 40.27±2.40; 36.77±1.05 and 9.39±2.14 mg QE/g dry extract, respectively.

To determine free radical scavenging activity, the DPPH• radical is used on a large scale. Fig.1 indicate the DPPH• scavenging activity curves of various extracts depending on dose-response. The results of ability to scavenge the DPPH• radical following the order BHA > methanol extract > α-tocopherol > BHT > acetone extract > ethyl acetate extract > water extract > dichloromethane extract which presented values at 0.20 mg/mL of 82.50±0.70%; 81.13±1.22%; 80.26±0.37%; 79.83±1.65%; 79.22±1.10%; 75.85±1.21%; 74.67±0.47%; 69.92±1.11% and 62.73±1.04%, respectively (Table 2).

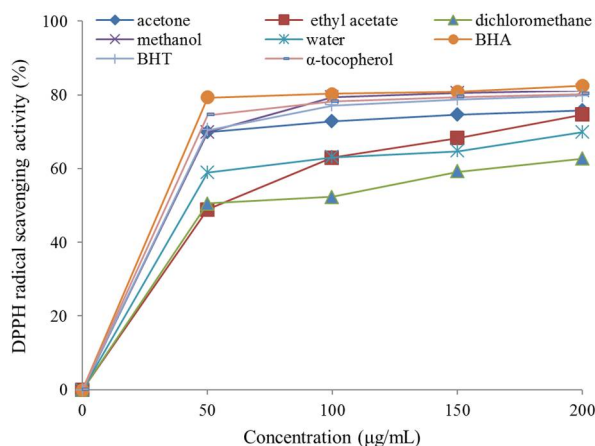


Fig. 1. Free radical scavenging activity of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* extracts, BHA, BHT and α-tocopherol by 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radicals

Table 1. Total extractable compounds (EC), total flavonoids (as quercetin equivalents), total phenolic compounds (PC) (as gallic acid equivalents), β-carotene, lycopene, phenolic acid contents and total antioxidant capacity (TAC) (as α-tocopherol equivalents) in acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water extracts from *T. balsamita* L. subsp. *balsamita*

Extract	EC (mg/g dw)	Flavonoids (mg/g dw)	PC (mg/g dw)	β-carotene (mg/g dw)	Lycopene (mg/g dw)	Phenolic acid (mg/g dw)	TAC (mg/g dw)
Acetone	43.5	45.7±3.6	76.8±2.1	9.24±0.08	1.41±0.13	0.59	212.1±9.6
Ethyl acetate	78.0	36.8±1.0	63.9±0.7	5.45±0.17	1.73±0.04	0.68	163.1±7.5
Dichloromethane	93.5	60.5±5.5	46.7±2.1	10.97±0.24	3.73±0.06	0.89	159.0±4.6
Methanol	89.5	40.3±2.4	103.2±1.0	4.32±0.03	0.95±0.02	0.49	161.4±8.9
Water	75.0	9.39±2.1	54.7±1.9	5.38±0.09	2.32±0.06	0.34	38.5±3.9

*Values were the means of three replicates ± standard deviation

EC₅₀ value defined as the amount of sample necessary to scavenge 50% of DPPH• present in the test solution. The lower EC₅₀ value means higher DPPH• radical scavenging activity. EC₅₀ values of scavenging DPPH• radicals for the methanol, acetone, water, ethyl acetate and dichloromethane extracts were 0.056, 0.064, 0.076, 0.078 and 0.098 mg/mL, respectively, while BHA, BHT and α-tocopherol had an EC₅₀ of 0.043, 0.047 and 0.053 mg/mL, respectively (Table 2).

The ferrous chelating capacities of standards and *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* extracts were in descending order: BHA > water ≈ BHT > dichloromethane > ethyl acetate > acetone > α-tocopherol > methanol (Fig.2).

The percentages of these values were; 57.01±0.6; 55.91±0.70; 55.80±0.70; 52.82±0.01; 47.37±2.91; 38.08±0.98; 37.53±0.76; 34.96±1.03 and 25.05±5.38, respectively. The metal chelating activities of extracts and standart antioxidants are presented in Table 2.

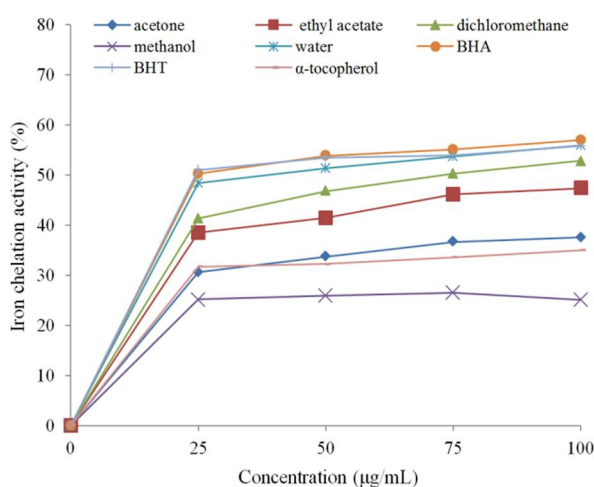


Fig. 2. Metal chelating effect of different concentrations of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* extracts, BHA, BHT and α-tocopherol on ferrous ions

All the extracts exhibited various levels of reducing power (Fig. 3). The reducing capacity increased with the concentration of each extract. The absorbance of Fe³⁺-Fe²⁺ transformation of 200 µg/mL concentration of acetone, water, ethyl acetate, methanol and dichloromethane extracts and BHA, BHT and α-tocopherol were found as 0.345±0.0142; 0.265±0.0188; 0.262±0.0084; 0.231±0.0089; 0.132±0.0038; 0.192±0.0094; 0.152±0.0100; 0.140±0.0058, respectively. The sequence for reducing power was acetone > water > ethyl acetate > methanol > BHA > BHT > α-tocopherol > dichloromethane.

Table 2. EC₅₀ values, scavenging ability on DPPH• radicals (0.20 mg/mL), scavenging activity of hydrogen peroxide (20 µg/mL), chelating activity (100 µg/mL) and reducing capacity (200 µg/mL) of various extracts from *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* and from BHA, BHT and α-tocopherol

Extract	EC ₅₀ (µg/mL)	Scavenging ability on DPPH• (%)	Scavenging activity of H ₂ O ₂ (%)	Chelating activity (%)	Reducing capacity
Acetone	64±1.0	75.8±1.2	69.8±0.6	37.5±0.8	0.35±0.01
Ethyl acetate	78±2.0	74.7±0.5	69.9±0.4	47.4±2.9	0.26±0.01
Dichloromethane	98±3.0	62.7±1.0	70.5±1.1	52.8±0.1	0.13±0.00
Methanol	56±4.0	81.1±1.2	70.8±0.8	25.1±5.4	0.23±0.01
Water	76±5.0	69.9±1.1	72.8±1.3	55.9±0.7	0.26±0.02
BHA	43±3.0	82.5±0.7	72.9±1.4	57.0±0.6	0.19±0.01
BHT	47±5.0	79.8±1.6	72.9±1.0	55.8±0.7	0.15±0.01
α-tocopherol	53±1.0	80.3±0.4	73.2±1.3	35.0±1.0	0.14±0.01

*Values were the means of three replicates ± standard deviation

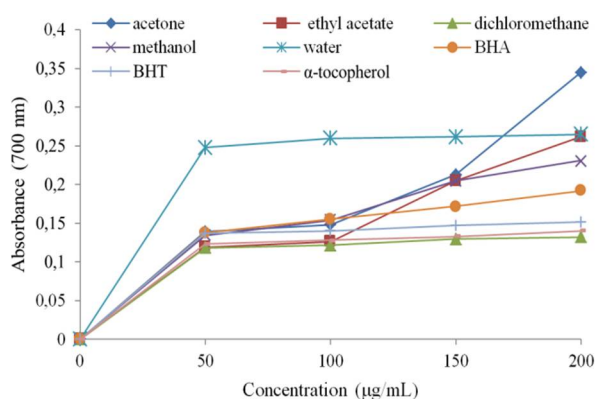


Fig. 3. Total reductive potential of different concentrations (50–200 µg/mL) of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* extracts, BHA, BHT and α-tocopherol using spectrophotometric detection of Fe³⁺-Fe²⁺ transformation

Hydrogen peroxide scavenging activity of various solvent extracts and standards at 20 µg/mL was exhibited to 73,19±1,32%; 72,91±1,07%; 72,89±1,38%; 72,87±1,32%; 71,39±1,15%; 70,76±0,84%; 70,48±1,13%; 69,99±0,43% and 69,77±0,62%, respectively (Table 2). At this concentration, the hydrogen peroxide scavenging effect of extracts and standard compounds decreased in the order of α-tocopherol > BHT ≈ BHA ≈ water extract > methanol extract > dichloromethane extract > ethyl acetate extract > acetone extract (Fig. 4).

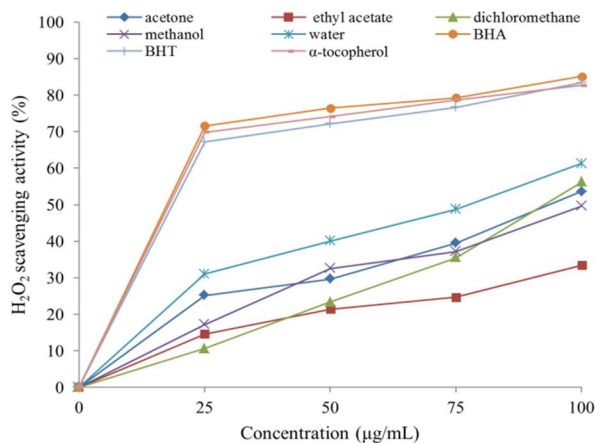


Fig. 4. Hydrogen peroxide scavenging activity of different concentration of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* extracts, BHA, BHT and α-tocopherol.

The content of β-carotene (mg/g) in plant extracts, varied between 4.32 and 10.97 (Table 1). The highest amount of β-carotene were found in dichloromethane extract (10.97 ± 0.24) and acetone extract (9.24±0.08), followed by ethyl acetate extract (5.45±0.17), water extract (5.38±0.09) and methanol extract (4.32±0.03).

The content of lycopene in plant extracts (mg/g) was maximum when dichloromethane was used (3.73±0.06) as a solvent, followed by water (2.32±0.06), ethyl acetate (1.73±0.04), acetone (1.41±0.13) and methanol (0.95±0.02) (Table 1).

The total antioxidant capacity of acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* were in descending order:

acetone > ethyl acetate > methanol > dichloromethane > water (Table 1).

These values were; 212.11±9.64; 163.11±7.47; 161.43±8.92; 159.05±4.57 and 38.48±3.86 mg α-TE/g dry plant material, respectively.

Medicinal and beneficial properties of plants intimately related to their natural antioxidant contents. Therefore, antioxidant capacity of medicinal plants are widely used as a scale for identifying the bioavailability of herbs. To evaluate the antioxidant activity of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita*, we compared 5 antioxidant capacity methods and 5 different solvent extracts, i.e., acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water, in this study. The results indicated that *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* had strong antioxidant activity.

4. Conclusion

Several studies indicate that herbs have natural compounds such as flavonoids, phenolic acids, ascorbic acid (vitamin C), α-tocopherol (vitamin E) and carotenoids, which protect the human body against free radicals [21]. Many species of Compositae family have medical significance because of their secondary metabolites contents [22- 24]. Due to the large number of *Tanacetum* species in Turkey and remarkable rate of endemism, new bioactive compounds may obtain from this genus. The results clearly indicate that various solvent extract of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* present different antioxidant activities in different experiment systems. All the extracts of *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* showed effective DPPH• free radical scavenging activity, reducing power, metal chelating capacity and hydrogen peroxide scavenging activity. The obtained results suggesting that this herb may offer real benefits to human health. Further scientific studies on *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* may ensure identification of

new active compounds and may contribute to the drug development.

Acknowledgements

We would like to thank Bingol University Scientific Research Project Unit, Bingol/Turkey for the financial support (Project no. BAP-481-73-2011).

References

- [1] Halliwell B., Gutteridge J.M.C., Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, Oxford, 1999.
- [2] Valenta P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B., Seabra R.M., Bastos M.L., Antioxidative Properties of Cardoon (*Cynara cardunculus* L.) Infusion Against Superoxide Radical, Hydroxyl Radical and Hypochlorous Acid, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4989-4993, 2002.
- [3] Lopaczynski W., Zeisel S.H., Antioxidants, programmed cell death, and cancer, *Nutrition Research*, 21, 295-307, 2001.
- [4] Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D., Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113-4117, 1998.
- [5] Babbar N., Oberoi H.S., Uppal D.S., Patil R.T., Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues, *Food Research International*, 44, 391-396, 2011.
- [6] Erkan N., Ayranci G., Ayranci E., Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol, *Food Chemistry*, 110, 76-82, 2008.
- [7] Lee J.Y., Hwang W.I., Lim S.T., Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* a. De Candolle roots, *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 409-415, 2004.
- [8] Davis P.H., *Flora of Turkey and The East Aegean Island*, Vol. 5, Edinburgh University Press. P. 256-294, 1975.
- [9] Bařer K.H.C., Demirci B., Tabanca N., Özek T., Gören N., Composition of the essential oils of *Tanacetum armenum* (DC.) Schultz Bip., *T. balsamita* L., *T. chiliophyllum* (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* and *T. Haradjani* (Rech. fil.) Grierson and the enantiomeric distribution of camphor and carvone, *Flavour and Fragrance Journal*, 16, 195-200, 2001.
- [10] Singleton V.L., Rossi J.A., Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158, 1965.
- [11] Koncic M.Z., Kremer D., Gruz J., Strnad M., Bisevac G., Kosalec I., Samec D., Piljac-Zegarac J., Karlovic K., Antioxidant and antimicrobial properties of *Moltkia petraea* (Tratt.) Griseb. flower, leaf and stem infusions, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1537-1542, 2010.
- [12] Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C., Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182, 2002.
- [13] Blois M.S., Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, *Nature* 181, 1199-1200, 1958.
- [14] Ruch R.J., Cheng S.J., Klaunig J.E., Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea, *Carcinogenesis*, 10, 1003-1008, 1989.
- [15] Dinis T.C.P., Madeira V.M.C., Almeida L.M., Action of Phenolic Derivatives (Acetaminophen, Salicylate, and 5-Aminosalicylate) as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315, 161-169, 1994.
- [16] Oyaizu M., Studies on products of browning reaction-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315, 1986.
- [17] Barros L., Calhella R.C., Vaz J.A., Ferreira I.C.F.R., Baptista P., Estevinho L.M., Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms, *European Food Research and Technology*, 225, 151-156, 2007.
- [18] Prieto P.M., Pineda M., Aguilar M., Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341, 1999.
- [19] Liu X., Dong M., Chen X., Jiang M., Lv X., Yan G., Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*, *Food Chemistry*, 105, 548-554, 2007.
- [20] Verzelloni E., Tagliacuzzi D., Conte A., Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsam vinegar, *Food Chemistry*, 105, 564-571, 2007.
- [21] Halvorsen B.L., Holte K., Myhrstad M.C.W., Barigmo I., Hvattum E., Remberg S.F., A systematic screening of total antioxidants in dietary plants, *The Journal of Nutrition*, 132(3), 461-471, 2002.
- [22] Thomas O.O., Phytochemistry of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum cilicium*, *Fitoterapia*, Vol.LX, No.2, 131-134, 1989.
- [23] Kalodera Z., Papeljnjak S., Blazevic N., Petrak T., Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* oil, *Pharmazie* 52,11, 885-886, 1997.
- [24] Rezende M., Urzua A., Bortoluzzi A.J., Vasquez L., Variation of The Antimicrobial Activity of *Pseudognaphalium vira vira* (Asteraceae): Isolation and X-ray Structure of ent-3 β -Hydroxy-16-Oic Acid, *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 459-464, 2000.



Türk Doğa ve Fen Dergisi Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



Yapay zekâ tekniklerinin inşaat mühendisliği problemlerinde kullanılması üzerine bir çalışma

Mehrzaad Mohabbi Yadollahi¹, Ahmet Benli*¹

Özet

Mühendislik problemlerinde sonuçları önceden yani tahribatlı deneyler (*destructive test*) yapılmadan tahmin etmek çok önemlidir. Son yıllarda, yapay zekâ ve bulanık –yapay sinir ağı gibi yeni teknikler bu amaçla geliştirilmiştir. Yapay zekâ yöntemlerinden yapay sinir ağları (YSA) ve adaptif ağ tabanlı bulanık mantık çıkarım sistemi (ANFIS) yöntemlerinin kullanılması bu çalışmada vurgulanmıştır. Regresyon ve tahmin analizinde veri setini analiz etmek oldukça önemlidir. Çünkü tek bir gözlem bile regresyon modelindeki parametre kestirimleri üzerinde büyük bir etkiye yapabilir. Aykırı ve/veya uç değerlerin veri setinden çıkartılması zamanında önerilse de bu regresyon denklemini tamamen değiştirebilir. Bazı çalışmalarda ANFIS ve YSA, klasik regresyona göre daha iyi sonuçlar verdiği ve daha doğru tahmin ettikleri ileri sürülmektedir. Bu çalışmada, mühendislikte çok önemli olan hava durumu tahmini, bir örnek olarak klasik yöntemine dayanan lineer ve lineer olmayan regresyon analizi, ANFIS ve YSA analizleriyle incelenmiştir. Bu amaçla Tebriz şehrinin üç yıllık hava durumunun ortalamasına göre, dün ve bugünün hava durumu temel alarak yarınki günün hava durumu tahmin edilmiştir. Bu konudaki çalışmalara göre, incelenen tekniklerin birbiri üzerine bir üstünlüğe sahip olmadığı, veri setinin yapısına göre her bir tekniğin birbiri üzerine üstün olabileceği kanaatine varılmıştır. Bu çalışmada lineer ve lineer olmayan analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS ve YSA, ANFIS modellemesi için MATLAB programı kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yapay sinir ağı; regresyon; bulanık-yapay sinir ağı

A study on using artificial neural network techniques in civil engineering problems

Abstract

It is very important to estimate results in advance in engineering problems without using destructive tests. In recent years, new techniques such as artificial intelligence and fuzzy neural network -Artificial been developed for this purpose. In this study, methods of artificial intelligence neural networks (ANN) and adaptive network-based fuzzy inference system (ANFIS) has been emphasized. In regression analysis and forecasting, it is very important to analyze the data set. Because, it can make a major impact on even a single observation in the regression model parameter estimation. Outliers and / or extreme values are recommended to be removed from the data set, this can also completely change regression equation. In some studies, It is suggested that ANFIS and ANN give better and estimate more accurate results than the classical regression. In this study, which is very important in engineering aspect of weather forecasting, as an example, based on the classical methods of linear and non-linear regression analysis were examined by ANFIS and ANN analysis. For this purpose, according to the three-year average weather forecast of the city of Tabriz, taking the basis of yesterday and today's weather forecast, tomorrow's weather forecast was estimated. According to the studies on this subject, the techniques of which have superiority over one another, it was concluded that each technique on each other may be superior to the structure of the data sets. In this study, the realization of linear and non-linear analysis using SPSS and ANN, ANFIS modeling and MATLAB is used for these programs.

Keywords: Artificial neural network; regression; fuzzy neural network

1. Giriş

Regresyon analizi en basit anlamda bir veya birden fazla bağımsız değişkenle bir bağımlı değişkeni açıklama esasına dayanmaktadır. Regresyon terimi ilk olarak 19. yüzyılda İngiliz istatistikçi Francis Galton tarafından bir biyolojik inceleme sırasında ortaya atılmıştır.

¹ Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, 12000 Bingöl, Türkiye

*Sorumlu yazar E-posta: ahbenli@hotmail.com; ahbenli@bingol.edu.tr

Galton, baba ve annenin boyu ile çocukların boyu arasındaki bağlantıyı araştırmak istemiştir. Sonrasında Udny Yule, Karl Pearson yöntemi çeşitli istatistiksel alanlarda uygulamış ve geliştirmişlerdir [1]. Günümüzde geleneksel yöntemlere alternatif olarak regresyon problemlerin çözümünde, yapay sinir ağı tabanlı akıllı sistemler kullanılmaktadır. Bulanık mantık ve sinir ağları, akıllı sistemlerin geliştirilmesinde birlikte kullanılan tamamlayıcı araçlardır. Yapay sinir ağları,

ham verilerle uğraşıldığında iyi sonuçlar veren düşük seviyeli yapılarıdır. Bulanık mantık ise, uzman görüşü sonucu elde edilen dilsel bilgileri kullanarak daha yüksek seviyeli sonuçlar çıkarmaktadır [2,3]. Aslında bulanık sistemlerin öğrenme kabiliyeti yoktur ve kendilerini yeni çevreye adapte edemezler. Diğer yandan yapay sinir ağları öğrenme kabiliyetine sahiptir; fakat kullanıcı tarafından anlaşılabilirler. Sinirsel bulanık sistemler, yapay sinir ağlarının paralel hesaplayabilme ve öğrenme kabiliyeti ile bulanık mantığın uzman bilgisini kullanarak sonuçlar çıkarabilme özelliklerinin birleşiminden oluşur. Sonuç olarak sinirsel bulanık sistemler sayesinde yapay sinir ağları daha anlaşılır hale gelir [4]. Örnek olarak inşaat mühendisliğinde olan çalışmalardan beton mukavemet tahmini [5-7], elastisite modülünün tahmin etmesi[8] klorid geçirirliği [9] ve yazarların [10,11] çalışmalarına rastlayabiliriz. Hava durumu günlük hayatımızın büyük bir kısmını önemli ölçüde etkilemektedir. Bu yüzden, doğru hava tahmini insan yaşamı için önemli bir yere sahiptir. Özellikle sıcaklığın tahmini hem canlı hem de diğer atmosferik parametreler üzerinde etkisi olduğundan ayrı bir öneme sahiptir İnşaat mühendisliğinde hava durumunun tahmini özellikle beton ve kür işlemlerinde çok önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada sıcaklık tahmini, adaptif ağ yapısına dayalı bulanık çıkarım sistemi (ANFIS) uygulayarak elde edilmiş ve ANFIS'in etkin sonuç verdiği görülmüştür [12].

1.1. Yapay Sinir Ağları (YSA)

İnsanların beyin çalışmasını sayısal bilgisayarlar üzerinde taklit etmek istemesi sonucunda yapay sinir ağları ortaya çıkmıştır. Temelde beyin çalışma yapısı, insanlar gibi düşünen ve öğrenen sistemler elde etme fikrinin olması, çalışmaları insan beynini oluşturan hücrelerin incelenmesi üzerine yoğunlaştırmıştır. YSA'lar, insan beyninin çalışma prensibi örnek alınarak geliştirilmeye çalışılmıştır ve aralarında yapısal olarak bazı benzerlikler vardır. Bu benzerlikler Tablo 1'de ve istatistiksel terimler yapay sinir ağları terimleri arasındaki terminolojik ilişkiler de Tablo 2'de verilmiştir.[13]

Tablo 1. Sinir sistemi ve yapay sinir ağı [13]

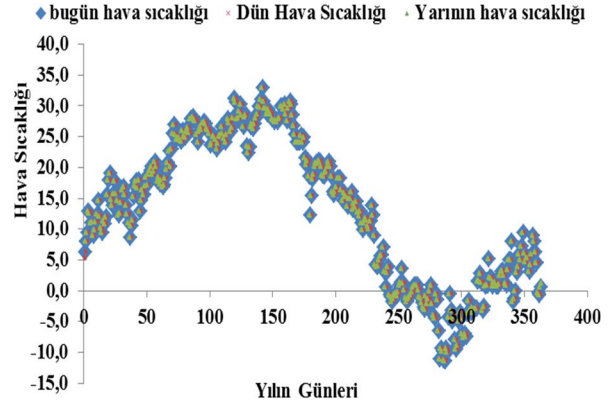
Sinir Sistemi	Yapay Sinir Ağı
Nöron	İşlemci Eleman
Dentrit	Girdiler
Hücre Gövdesi	Transfer Fonksiyonu
Akson	Yapay Nöron Çıkışı
Sinaps	Ağırlıklar

Tablo 2. Normal istatistik ve YSA karşılaştırması [13]

İstatistik	Yapay Sinir Ağı
Model	Ağ
Tahmin	Öğrenme
Regresyon	Danışmalı Öğrenme
İnterpolasyon	Genelleştirme
Gözlem	Öğrenme Algoritması
Parametre	Ağ Parametreleri
Bağımsız Değişken	Giriş Verileri
Bağımlı Değişken	Çıkış Verileri
Sınır Regresyonu	Ağırlık Budama İşlemi

2. Materyal ve Metot

Bu aşamada hava durumunun incelemesi için farklı modeller oluşturulup her bir oluşturulmuş modelin belirlilik katsayısının (R^2) hesaplanıp modelin ne kadar iyi tahmin ettiğini inceleyeceğiz. Dün, bugün ve yarının hava durumu Tebriz şehrinde bir yıl boyunca aşağıdaki diyagram yardımıyla açıklanmıştır (Şekil 1)



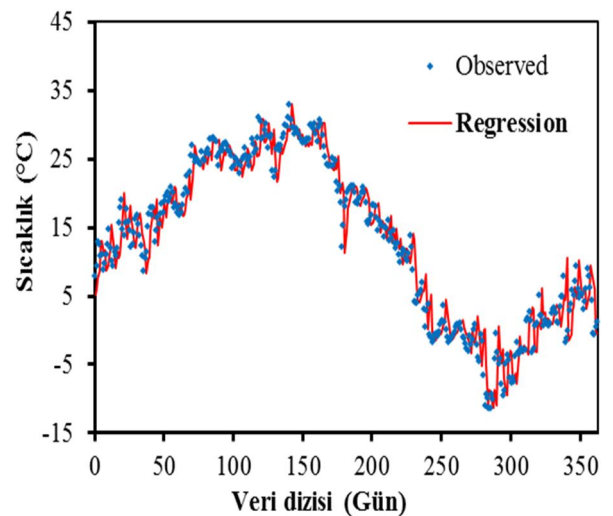
Şekil 1. Tebriz şehrinde bir sene boyunca hava sıcaklığı [15]

2.1. Regresyon ile Tahmin

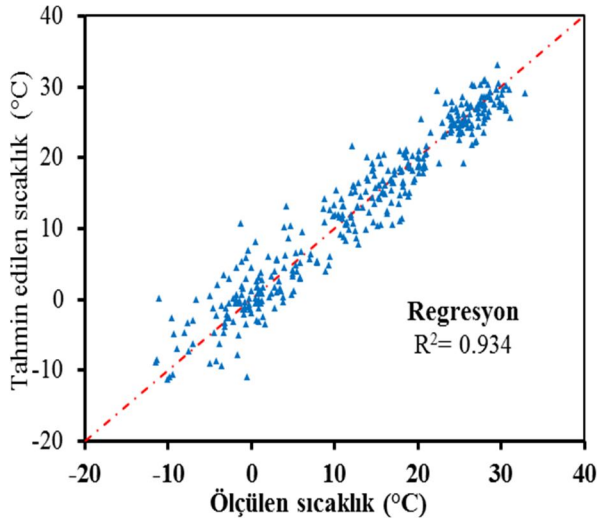
Regresyon analizi, bir bağımlı değişkenin başka açıklayıcı değişken ya da değişkenlerle olan ilişkisini tahmin etmek amacıyla yapılır. Yani regresyon çözümlemesi bir değişkenin başka değişkenlere bağımlılığıyla uğraşır. Değişkenler arasındaki ilişkiler kesin ilişkiler olmayıp rassal ya da olasılıklıdır. Eğer kesinlik olgusunu içeren ilişkilerdeki değişkenlerin herhangi birinde ölçüm hatası yapılmışsa, bu ilişki olasılıklı ilişkiye dönüşür ve bağımlı değişken rassal bir değişken olur. Böylece, bu ilişki regresyon analizin konusu olabilir.

2.1.1 Çok Değişkenli Lineer Regresyon ile Hava Sıcaklık Tahmini

İlk aşamada çok değişkenli lineer ve lineer olmayan regresyonlar yöntemiyle ile hava sıcaklık tahmini yapacağız. (Tablo 3) (Şekil 2-3).



Şekil 2. Gün-sıcaklık değişimi



Şekil 3. Ölçülen sıcaklık-tahmin edilen sıcaklık

Tablo 3. Regresyon model katsayıları

Katsayılar ^a					
Model	Standartlaştırılmamış katsayılar		Standartlaştırılmış Katsayılar	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
1 (Sabit)	,325	,097		3,344	,001
T(i-1)	-,258	,029	-,258	-8,803	,000
T(i)	1,233	,029	1,233	42,137	,000

a. Bağımlı değişken: T(i+1)

$$T(i+1)(YARIN)=0,325+1,233* T(i)(BUGÜN)-0,258* T(i-1)(DÜN)$$

2.1.2 Çok Değişkenli Lineer Olmayan Regresyon ile Hava Sıcaklığı Tahmini

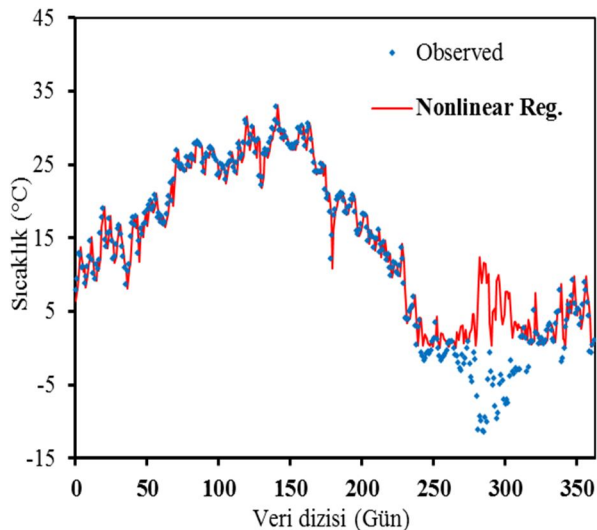
Lineer olmayan denklemin $Y=a*X_1^b*X_2^c$ olduğunu varsayarsak;

$$T(i+1)=0,987* T(i)**(-0,233) * T(i-1)**(1,235)$$

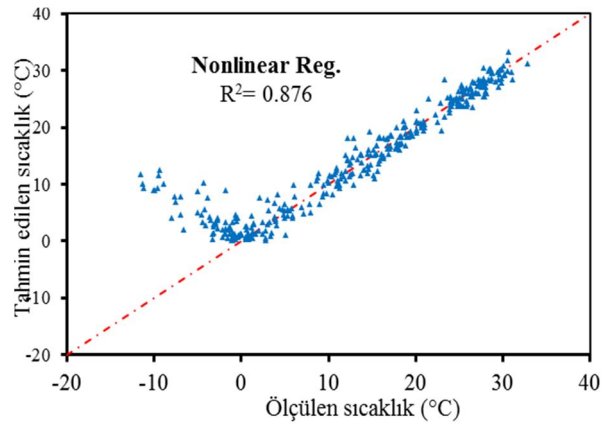
$$T(i+1)=(YARIN)$$

$$T(i)=(BUGÜN)$$

$$T(i-1)=(DÜN) \text{ (Şekil 4-5)}$$



Şekil 4. Gün-sıcaklık değişimi

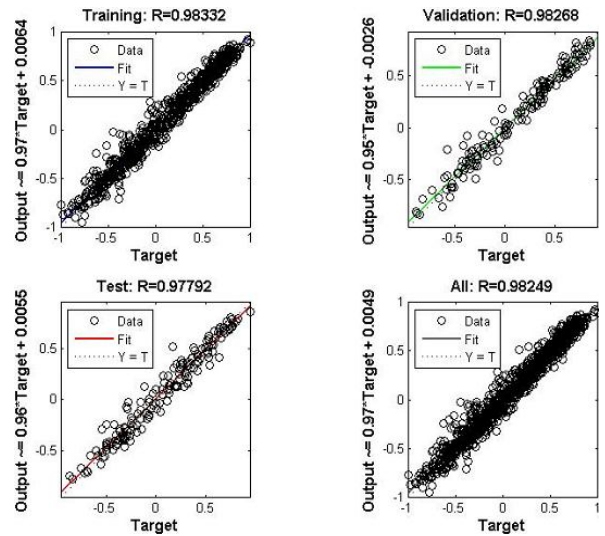


Şekil 5. Ölçülen sıcaklık-tahmin edilen sıcaklık

2.1.3. YSA Hava Sıcaklığı Tahmini

MATLAB programının direkt nntool komutunu kullandığımızda toplam $R=0,982$ olmuştur. (Şekil 6)

Şekil 6 de görüldüğü gibi kullandığımız ağ için test, öğrenim (training) ve validasyon için korelasyon değerleri verilmiştir ve sonuçta verilerin hepsinde seçeneğinde kullanılan ağ için korelasyon değeri hesaplanmıştır.



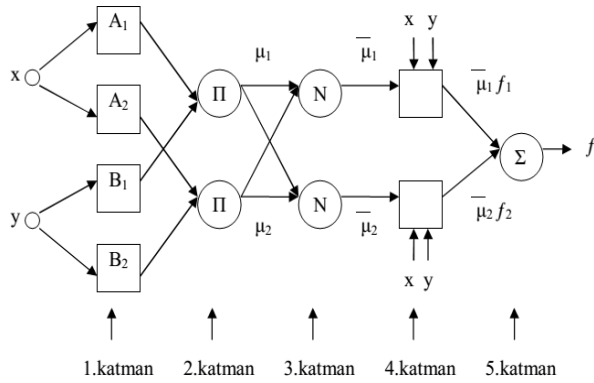
Şekil 6. ANFIS kontrol veri modeli

2.1.4. ANFIS ile Sayısal Hava Sıcaklığı Tahmini

ANFIS yalnızca görev tahmini ya da tek çıktılı doğrusal olmayan fonksiyonların tahmininde kullanılabilir. Ele alınan çalışmada ANFIS, tek çıktı olan sıcaklığı tahmin edilmesinde kullanılmıştır. ANFIS modelinde temel amaç kullanılan parametreleri optimize etmektir. ANFIS, ele alınan problem için oluşturulan yapıya göre olası tüm kuralları atayabilmekte veya kuralların veriler yardımıyla uzman tarafından atanmasına olanak sağlamaktadır. ANFIS' in kural oluşturabilmesi veya kural oluşturulmasına olanak sağlaması uzman görüşlerinden faydalanması anlamına gelmektedir. ANFIS temel olarak bulanık çıkarım sistemi'nin adaptif ağlara uyarlanmış halidir. Melez öğrenme algoritması ile birlikte ANFIS, bulanık eğer-ise kuralları ile insan bilgisini yansıtan girdi çıktı yapısını ortaya koymaktadır. MATLAB yazılımındaki bulanık mantık modülünde bir kullanıcı ara yüzü (ANFIS Editor) aracılığı ile kullanılmaktadır. ANFIS yönteminin uygulanabilmesi için elde girdi ve çıktıya dayanan bir veri setine ihtiyaç

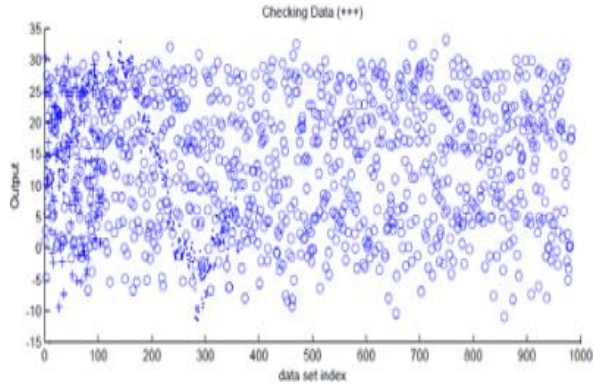
duyulmaktadır. Seçilen üyelik fonksiyon adedi ve tipine bağlı olarak kurulan model melez öğrenme algoritması kullanılarak eğitilmektedir. ANFIS, bulanık mantık ile beraber sinir ağı topolojisi kullanımına da izin veren adaptif bir ağıdır. Ayrıca bu sistemlerin avantajlarını tek bir sistem içerisinde alabilir ve daha iyi sonuçlar verebilir [12].

Yapı bakımından ANFIS, bulanık çıkarım sistemindeki eğer-ise kuralları ve giriş çıkış bilgi çiftlerinden oluşur. Sistem eğitiminde yapay sinir ağı öğrenme algoritmaları kullanılır. Burada ANFIS yapısını basit bir şekilde anlatabilmek için örnek olarak iki girişli (x ve y) ve tek çıkışlı (f) bir ANFIS yapısı verilmiştir. (Şekil 7)

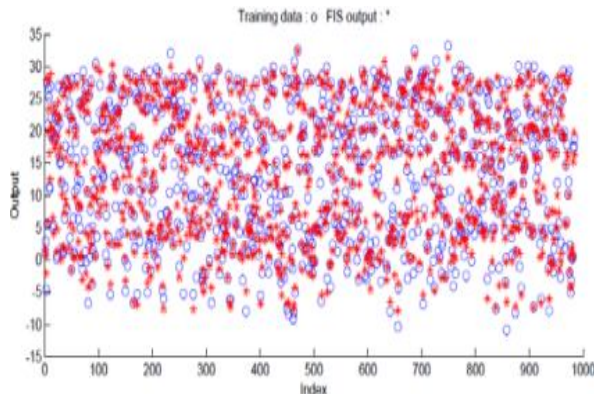


Şekil 7. ANFIS yapısı [14]

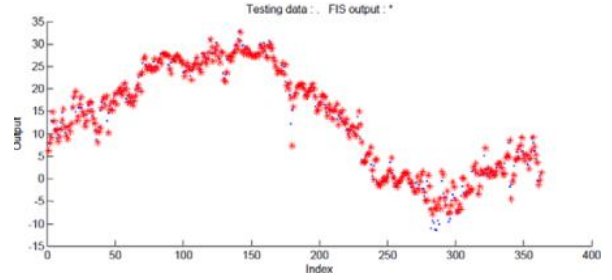
ANFIS ile Sayısal Hava Sıcaklığı Tahmininde kontrol için seçilen değerler Şekil 8'de ve tahmin edilen veriler ile gerçek veriler arasındaki fark öğrenim dataları için Şekil 9'da test ve validasyon için sırası ile Şekil 10 ve Şekil 11 da gösterilmiştir. Ve sonuçta hedef-çıktı ilişkisi ve korelasyon değerleri Şekil 12 ve 13'de gösterilmiştir.



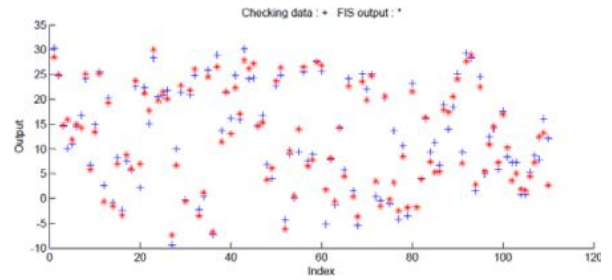
Şekil 8. ANFIS kontrol veri modeli



Şekil 9. ANFIS eğitim veri modeli



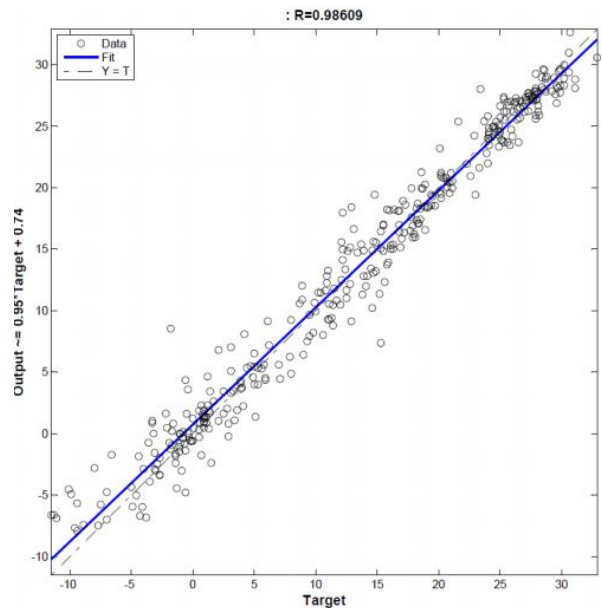
Şekil 10. ANFIS test veri modeli



Şekil 11. ANFIS kontrol veri modeli



Şekil 12. Hedef-çıktı ilişkisi



Şekil 13. Eğitim verisinde korelasyon değeri

ANFIS analizlerinin sonunda elde edilmiş hata MSE=3,8002 ve korelasyon değeri R=0,9861 olmuştur.

3. Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada, inşaat mühendisliği problemlerinin çözümünde yapay zekâ tekniklerinin kullanılması ile ilgili olarak şu sonuçları çıkarabiliriz: İnşaat mühendisliği problemlerinin çözümünde yapay zekâ teknikleri başarı ile uygulanabilmektedir. Parametreler arasındaki ilişkileri ve bağlantıları belirleyebilmek için yapay sinir ağları kullanılabilmektedir. Yukarıdaki sonuçlardan da görüldüğü gibi yapay zekâ inşaat mühendisliği uygulamalarında oldukça olumlu sonuçlar vermektedir. İnşaat mühendislik uygulamaları bilindiği gibi çok dikkat gerektiren, iyi tasarım ve planlama ve uygulamaya ihtiyaç duyulan bir mühendislik dalıdır. Aynı zamanda, özellikle uygulamalar öncesi bazı bilgilerin elde edilmesi için gerek duyulan deneysel çalışmalar gibi uygulamaların gerçekleştirilmesinde kalifiye eleman, malzeme ve zaman gerekmekte ve bu gibi parametreler doğrudan ekonomi ve çevre düzenini etkilemektedir. Gerekli parametrelerin yapay zekâ modelleri kullanılarak tespit edilmesi yöntemi seçildiğinde, bu gibi gereksinimlerin büyük bir çoğunluğu giderilecek ve önemli derecede zaman ve ekonomik kazanç sağlanacaktır.

4. Sonuçlar

Aynı tahmin sorusu dört farklı metotla tahmin edilmiştir ve her yöntemden iyi bir sonuç alınmıştır. Bu yöntemlerin hepsinin paralel olarak kullanılması analizlerin değerlendirilmesinde önemli bir rolü olabilmektedir. Hangi yöntemin hangi problem çözümü için uygunluğu da bu analizleri gerçekleştirdikten sonra mümkündür. Bu konudaki çalışmaya göre, incelenen tekniklerin birbiri üzerine bir üstünlüğe sahip olmadığı, veri setinin yapısına göre her bir tekniğin birbiri üzerine üstün olabileceği kanaatine varılmıştır. Bu çalışmada lineer ve lineer olmayan analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS ve YSA, ANFIS modellemesi için MATLAB programı kullanılmıştır

Referanslar

- [1] İsmail Hakkı Armutlulu And M. Yazıcı, Fuzzy Robust Regresyon'un Diğer Regresyon Teknikleriyle Karşılaştırılması Ve Bir Uygulama. Öneri.C.10.S.38., Temmuz 2012: P. 33-51.
- [2] Zadeh, L.A., Fuzzy-Sets And Systems. International Journal Of General Systems, 1990. 17(2-3): P. 129-138.
- [3] Zadeh, L.A., Special Issue On Fuzzy Sets And Systems Dedicated To The 90th Birthday Of Prof. Lotfi A-Zadeh Foreword. International Journal Of Computers Communications & Control, 2011. 6(3): P. 385-386.
- [4] Hocaoğlu, F.O. And M. Kurban, Adaptif Ağ Tabanlı Bulanık Mantık Çıkarım Sistemi İle Eskişehir Bölgesi İçin Güneşlenme Süreleri Tahmini. Elektrik-Elektronik-Bilgisayar Mühendisliği 11. Ul, 2005: P. 292-295.
- [5] Yuan, Z., L.N. Wang, And X. Ji, Prediction Of Concrete Compressive Strength: Research On Hybrid Models Genetic Based Algorithms And Anfis. Advances In Engineering Software, 2014. 67: P. 156-163.
- [6] Kostic, S. And D. Vasovic, Prediction Model For Compressive Strength Of Basic Concrete Mixture

Using Artificial Neural Networks. Neural Computing & Applications, 2015. 26(5): P. 1005-1024.

- [7] Torre, A., Et Al., Prediction Of Compression Strength Of High Performance Concrete Using Artificial Neural Networks. Vii International Congress Of Engineering Physics, 2015. 582.
- [8] Boga, A.R., M. Ozturk, And I.B. Topcu, Using Ann And Anfis To Predict The Mechanical And Chloride Permeability Properties Of Concrete Containing Ggbfs And Cni. Composites Part B-Engineering, 2013. 45(1): P. 688-696.
- [9] Ahmadi-Nedushan, B., Prediction Of Elastic Modulus Of Normal And High Strength Concrete Using Anfis And Optimal Nonlinear Regression Models. Construction And Building Materials, 2012. 36: P. 665-673.
- [10] Yadollahi, M.M., Et Al., Safety Factor Determining For Space Trusses By Non-Linear Analysis And Artificial Neural Network Method. Science And Engineering Of Composite Materials, 2013. 20(3): P. 277-284.
- [11] Yadollahi, M.M., Et Al., Estimating Concrete Compressive Strength Produced By Gfrp And Pozzolanic Materials Exposed To Fire Using Ann Method. Fibre Concrete 2011: Technology, Design, Application, 2011: P. 455-462.
- [12] Berber, N. And A. Boru, Adaptif Ağ Yapısına Dayalı Bulanık Çıkarım Sistemi İle Hava Tahmini. 2013, Gaziantep Üniversitesi.
- [13] Kuyucu, Y.E., Lojistik Regresyon Analizi (Lra), Yapay Sinir Ağları (Ysa) Ve Sınıflandırma Ve Regresyon Ağaçları (C&Rt) Yöntemlerinin Karşılaştırılması Ve Tıp Alanında Bir Uygulama. 2012, Gaziosmanpaşa Üniversitesi.
- [14] Jang, J.S.R., Anfis - Adaptive-Network-Based Fuzzy Inference System. Ieee Transactions On Systems Man And Cybernetics, 1993. 23(3): P. 665-685.
- [15] I.R. Of Iran Meteorological Organization, I.R.O.I.M. Organization, Editor. 2012.



Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



Döküm endüstrisinde kurumsal kaynak planlama yazılımlarının kullanımının değerlendirilmesi

Didem Güleriyüz Çilingir¹, Murat Çolak*²

Özet

Günümüzde işletmelerin varlıklarını sürdürebilmeleri için; sürekli büyümeleri, kalite, verimlilik ve maliyet unsurlarını en iyi şekilde optimize edebilmeleri gereklidir. Her şirket büyümek ve ilerlemek için kendine özgü kritik başarı faktörlerine sahiptir. Stratejik planlama, rekabet gücü, pazarlama stratejisi, üretim kalitesi ve bilgi yönetimi şirketlerin ilerlemesi için gereken kritik başarı faktörlerindedir. Bu amaçla Kurumsal Kaynak Planlamaya yönelik yazılımlar kullanılmaya başlanmıştır. Kurumsal Kaynak Planlama (Enterprise Resource Planning-ERP), kurumların tüm proseslerini kapsayan, tedarikten dağıtıma kadar tüm iş süreçlerini bütünlük bir bilgi teknoloji sistemiyle yönetilmesini sağlayan, modüler bir yapısı olması nedeniyle farklı sektörler için adapte olabilen geniş kapsamlı bir yazılım paketidir. Bütün verilerin tek bir veri tabanında olması farklı amaçlara yönelik çalışan ve farklı ihtiyaçları olan bölümlerin bilgiyi hızlı, doğru paylaşımlarına ve uyum içinde çalışmalarına katkı sağlamaktadır. Bu çalışmada Kurumsal Kaynak Planlama yazılımları, yazılımın tarihsel gelişimi, fonksiyonel özellikleri, bileşenleri, gerekliliği, yazılım seçimi ve gerekli kriterler hakkında bilgiler derlenmiştir. Ayrıca Kurumsal Kaynak Planlama yazılımlarının döküm sektörüne uygunluğu, gerekliliği ve kullanımında sağlayacağı faydalar değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kurumsal kaynak planlama; döküm endüstrisi; döküm maliyet azalması

The evaluation of using enterprise resource planning software in casting industry

Abstract

Nowadays, since enterprises maintain their presence in the market; they need to optimize continuous growth, quality, efficiency, and cost elements in the best way. Each company has its own specific critical success factors to grow and to improve. Strategic planning, competitive marketing strategy, production quality and information management are seen some critical factors in the progress of the company. For this purpose, Enterprise Resource Planning software are being used. ERP (Enterprise Resource Planning-ERP), covers all processes of companies, allowing all business processes to distribution from supply to be managed through an integrated information technology system, due to the modular structure and can be adapted to different sectors is a comprehensive software package. Since all of the data is located in only one database, departments, which work for different purposes and with different needs, share required information directly and work in harmony. In this study, the historical development, functional features, components, necessity of the ERP software, and necessary information about the software selection criteria have been compiled. In addition, suitability of the foundry industry, the benefits and the necessity of usage were evaluated for ERP software.

Keywords: Enterprise resource planning; foundry industry; casting cost reduction

1. Giriş

Günümüzde işletmelerin varlıklarını sürdürebilmeleri için; sürekli büyümeleri, kalite, verimlilik ve maliyet unsurlarını en iyi şekilde optimize edebilmelerine bağlıdır. Ayrıca, gelişen teknolojiyle ulaşım ve iletişim olanaklarının artması tüketicilerin ürün ve hizmetlere kolaylıkla ulaşabilmelerini sağlamaktadır. Bu nedenle taleplere hızlı

cevap vermek işletmeler açısından önemli bir kriter haline gelmiştir. Küreselleşmenin doğal bir sonucu ülkeler arasındaki ticari sınırlar minimuma inmiş, artan rekabet koşulları nedeniyle belli bir bölgede faaliyet halindeki işletmeler değişik coğrafyalarda da faaliyet göstermeye başlamıştır. Kalite, verimlilik, maliyet ve hızlı cevap verme unsurlarının optimize edilebilmesi eldeki iş gücü, hammadde, makine ve teçhizat kaynaklarının etkin kullanılmasıyla mümkün olabilmektedir. Üretim planlama ve kontrol faaliyetleri, kaynakların etkin ve gerçekçi kullanılmasını mümkün kılmaktadır. Bu nedenle ortak bir bilgi sistemi ihtiyacı ortaya çıkmıştır.

¹ Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Endüstri Mühendisliği Bölümü, 69000 Bayburt, TÜRKİYE

² Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Malzeme Bil. ve Nanotek. Mühendisliği Bölümü, 69000 Bayburt, TÜRKİYE

*Sorumlu yazar e-posta: ncolak@bayburt.edu.tr

2. Kurumsal Kaynak Planlaması

Kurumsal Kaynak Planlaması (Enterprise Resource Planning-ERP); kurumların tüm proseslerini kapsayan, tedarikten dağıtım kadar tüm iş süreçlerini bütünlük bir bilgi teknoloji sistemiyle yönetilmesini sağlayan, modüler bir yapısı olması nedeniyle farklı sektörlerde adapte olabilen geniş kapsamlı bir yazılım paketidir [1].

Kurumsal kaynak planlaması; planlama, finans, satın alma, insan kaynakları, pazarlama, üretim departmanlarında kullanılan manuel sistemleri ortadan kaldırarak bütün departmanlarını tek bir bilgisayar sistemi altında toplayan bir yazılım geliştirme esasına dayanmaktadır. Bütün verilerin tek bir veri tabanında olması farklı amaçlara yönelik çalışan ve farklı ihtiyaçları olan bölümlerin bilgiyi hızlı ve doğru paylaşmalarına, uyum içinde çalışmalarına katkı sağlamaktadır. Kurumsal kaynak planlaması sistemi, üretim sektöründe faaliyet gösteren bir firma için Planlama-Üretim-Kontrol fonksiyonlarının verimini bilgi akışını düzenleyerek artırmaktadır [2].

2.1. Kurumsal Kaynak Planlamasının Tarihsel Gelişimi

1960'lı yıllarda işletmelerde bilgisayar kullanımı yaygınlaşmaya başlamış ve kurumsal üretim yönetim sisteminin temelleri Malzeme İhtiyaç Planlaması (Manufacturing Requirement Planning-MRP) yazılımları geliştirilmiştir. Temelde ürün ağaçlarını ve stokları kapsayan sistem 1980'li yıllara gelindiğinde doğrudan iletişim halinde olan bölüm faaliyetlerini kapsayacak şekilde gelişmiş ve Malzeme Kaynak Planlaması adını almıştır. 1990'ların başında MRP zamanla gerekli ihtiyaçları karşılayamaz duruma gelmiş, ürün geliştirme aşamasıyla teknik aşamayı birleştiren Bilgisayar Bütünlük İmalat (Computer Integrated Manufacturing-CIM) ve ürün dağıtım ağını yönetmek amacıyla Dağıtım Kaynakları Planlama (DRP) sistemleri ortaya çıkmıştır. Bunların akabinde Amerikalı bir işletmede kullanılmak üzere bu sistemlerin tamamını kapsayan Kurumsal Kaynak Planlaması (ERP) geliştirilmiştir. Şekil 1.de Kurumsal Kaynak Planlamasının gelişimi tarihsel olarak verilmiştir [3].



Şekil 1. Kurumsal Kaynak Planlamasının Tarihsel Gelişimi [3].

2.2. Kurumsal Kaynak Planlaması Neden Gereklidir?

Kurumsal kaynak planlamasına gereksinimin en önemli nedeni bir organizasyonun faaliyetlerini etkinleştirilmesi, uzun dönem planlamalar yapabilecek analiz ve raporlamaya sahip olmasıyla kaynakların en etkin şekilde kullanılmasını sağlamasıdır. Çoğu firmada, klasik bir sistemde basit bir üretim talebi bile gereksiz sayıda parçaya bölünebilir, kâğıtlara dökülür ve bölümler arası kopukluğa sebep olacak işlemlere dönüşebilir. İletişimsizlik nedeniyle kaynaklanan

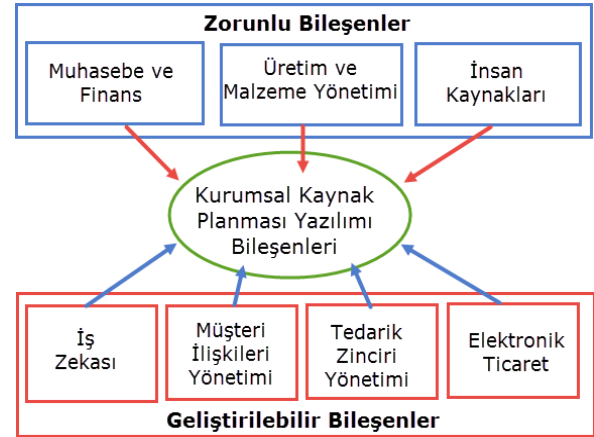
kayıp zamanlar siparişi zamanında teslim edememeye ve maliyeti arttıran hatalara neden olabilir. Siparişle gelen talebin oluşturulmasıyla birlikte kontrol dışında gelişen bir süreç başlayabilir. Kurumsal kaynak planlaması işte bu iletişimsizliğe son verip, bölümler arasında entegre yazılımlar kullanarak her bölümün farklı yapısı ve görevleri doğrultusunda geliştirilen modüllerle tam bir bütünlük sağlaması açısından çok önemli ve gereklidir.

Ayrıca günümüzün küreselleşmiş dünyasında, Kurumsal Kaynak Planlaması, her işletme için önemli bir gereklilik haline gelmektedir. Pazarda başarımın sağlanabilmesi için çok fazla çözümü birlikte getirdiğinden kurumsal kaynak planlamasının işletmenin her köşesinde kullanılmasının gerekliliği yapılan araştırmalarca savunulmaktadır [4]. Kurumsal kaynak planlaması kullanan firmalar;

- Beklenmeyen olaylara karşı göre hızlı tepki verir.
- Stok maliyetlerini envanter yönetimiyle en aza indirir.
- Merkezi koordinasyonla bilgiyi her an izlenebilir.
- Proses sürelerini kısaltıp maliyeti ve israfı düşürür.
- Kaynakların etkin kullanımıyla raporları tutarlı sonuçlar üretir ve kar ve zarar net olarak görülebilir.

2.3. Kurumsal Kaynak Planlaması Yazılımı Bileşenleri

ERP yazılımlarının günümüzde çok kapsamlı yapısı ve organizasyonu vardır. Bu nedenle kullanılacak yazılımı bu yapıya uyarlanmalıdır dolayısıyla da her kurumda farklı yapılarda yazılım bileşenleri kullanılmaktadır. Bu bileşenler her birim için tanımlanan fonksiyonel yazılımlar olarak tanımlanabilir. Kurumsal Kaynak Planlaması bileşenleri Şekil 2.de verilmiştir. Şekil 2.de de görüldüğü gibi yazılım bileşenlerini, zorunlu ve geliştirilebilir bileşenler olmak üzere ikiye ayırmak mümkündür.



Şekil 2. Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımı bileşenleri.

2.3.1. Kurumsal Kaynak Planlaması Yazılımının Zorunlu Bileşenleri

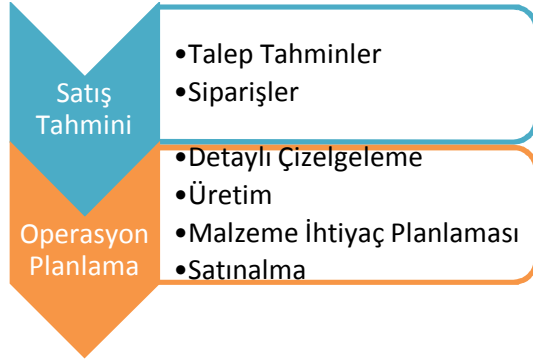
a) Muhasebe ve Finans: Muhasebe ve Finans Bileşeni yazılımın ana bileşenlerindedir. Muhasebe; firmalardan ve müşterilerden yapılacak tahsiller, toptancılara ve dağıtıcılara yapılacak ödemeler gibi bütün finans işlerini ayrıntılı olarak kayıt altında tutar ve izlenilmesini sağlar. Finans; karlılık analizi, ana hesap defteri, maliyet muhasebesi, nakit yönetimi ve gelecek tahmini gibi faaliyetleri yönetmek için tasarlanmış bir bileşendir [5].

b) Üretim ve Malzeme Yönetimi: Bir işletmede malzeme yönetimi; stok planlaması, satın alma, üretim ve lojistik faaliyetlerin toplamı olarak nitelendirilebilir. Ayrıca kalite kontrol, talep tahmini, üretim çizelgeleme, süreç

malîyetlerinin hesaplanması gibi üretimin temelindeki faaliyetlerin yönetilmesini sağlar.

Malzeme yönetimi, ihtiyaçların karşılanması için tedarikçilerin belirlenmesi ve fiyat tekliflerinin alınarak optimum tedarikçinin seçilmesini kapsar. Tedarikçinin seçimiyle sipariş açılır ve malzemelerin depoya girmesiyle fatura girişini kapsar.

Üretim bileşeni kurumsal kaynak planlamasının kilit bileşenlerinden birisidir. Üretimi müşteri taleplerine göre düzenlemede büyük kolaylık sağlar. Örneğin; yapılan üretim planlamasında ek siparişler, sipariş iptalleri gibi değişiklikler olabilir bu da üretimde darboğazlar yaratabilir. Geleneksel tekniklerle üretim yapan kurumlarda bu türlü durumlar büyük aksaklıklara neden olmakta ve pazarda firmayı rakiplerinden geride bırakabilmektedir. Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımı kullanan bir firmada böyle bir durumda, olay öncesinde tahmin edilebilir, tarihler, sipariş miktarı ve temrin süreleri hesaplanarak sonuç kolay bir şekilde izlenebilir. Ek olarak, üretim bileşeni kullanılarak; günlük üretim miktarları, vardiya üretim miktarları, performanslar, üretilen ürünlerin depolanabilme koşulları, üretim tarih ve saatleri, aylık ve yıllık üretim miktarlarıyla performans ölçütleri kolaylıkla edinilebilmektedir. Şekil 3.de üretim ve malzeme yönetimi bileşenine ait alt bölümler verilmiştir.



Şekil 3. Üretim ve Malzeme Yönetimi Bileşeni Tahmin ve Planlaması.

c) İnsan Kaynakları Yönetimi: İnsan Kaynakları yönetimi, işletmenin temel yapı taşı olan çalışanların yönetimini, bilgilerini, ödemeleri, performans durumlarının çizelgelenmesine olanak verir. İş gücü planlaması, zaman yönetimi, vardiya planları, gelişim planlaması gibi gerekli bilgileri içermektedir [6]. Kurumsal kaynak planlaması temeli olan iş akış sistemi, insan kaynakları bileşeninden gelen veriyi kullanır ve iş akışı yönetimi sağlar.

2.3.2. Kurumsal Kaynak Planlaması Yazılımının Geliştirilebilir Bileşenleri

a) İş Zekâsı: Artan rekabet koşullarında hızla değişen iş çevresinden oluşan fırsatlar ve tehditlere hızlı cevap vermek üst düzey yöneticilerin temel görevlerindedir. Bu nedenle başarılı bir yönetici şirket süreçlerini kavrayabilmiş ve verileri kullanabilen kişidir. Yönetimsel ve çevresel faktörler incelenmeden başarılı bir bilgi keşif programı oluşturulması çok zordur, bir organizasyonun elindeki veriyi kullanılabilir bir bilgiye dönüştürülebilir bilgiyi yaratma, toplama ve saklama becerisiyle doğru orantılıdır. Kurumsal kaynak planlamasının her modülünde bilgi açık bir şekilde görüle de keşfedilmeyi bekleyen önemli değerler vardır. Bu bileşenin amacı, süreç yönetimi ve bilgi sistemleri ilişkisini belirginleştirerek Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımı sistemlerinin karar vermede iş zekâsı ile birlikte daha etkili olabileceğini göstermektir.

b) Müşteri İlişkileri Yönetimi: Müşteri İlişkileri Yönetimi, firmaların müşterilerini daha fazla tanımlarına olanak sağlamaktadır. Müşterilerin rakip firmalarla olan iletişimlerini, geçmiş kayıtları ve iletişim bilgilerinin kapsar. Esnek veri tabanları sayesinde müşteri ile ilgili her türlü bilgi kayıt altına alınabilir. Müşteri İlişkileri Yönetimi bileşeninin veri ambarı olarak görev yapan merkezi sayesinde veriler kolaylıkla depolanır, pazarlama, satın alma, çağrı merkezleri ve satış sonrası hizmetler arasındaki koordinasyon kolaylıkla sağlanabilir.

c) Tedarik Zinciri Yönetimi: Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımlarında tedarik zinciri yönetimi tek başına bir bileşen değildir. Satın alma, üretim, dağıtım konularıyla doğrudan ilgilidir. Günümüzde bu üç bileşene yedek parça ve satış sonrası hizmetlerde eklenmiştir. Tedarik Zinciri bileşeniyle mamuller nihai ürüne doğru yol alırken, eşzamanlı olarak ihtiyaçlar doğrultusunda yeni siparişlere farklı üretim tipiyle bile adapte olunabilir. Siparişe dayalı ya da siparişsiz üretim modelleri arasındaki geçiş kolayca yapılabilir ve müşteri ihtiyaçlarına hızla cevap verilir böylece emniyet stokları azaltılabilir. Ek olarak portal üzerinden müşteriyle iletişim sağlayıp müşteri istekleri karşılanabilir.

d) Elektronik Ticaret: Günümüzde bilgisayar teknolojilerindeki gelişmelere ve küreselleşen dünyamızda müşteriler elektronik alışverişe aşırı ilgi göstermeye başlamıştır. Bu şekilde müşteri hızlı kolay ve bol çeşit içerisinden istediği ürüne elektronik ticaret yoluyla ulaşabilmektedir. Firma sektörüne bağlı olarak elektronik ticaret yapan firmalarda bu bileşen yazılıma eklenerek birimler arasında bütünlük sağlanabilecektir.

2.4. Kurumsal Kaynak Planlaması Yazılımı Kullanımında Başarı Kriterleri ve Seçim

Kritik Başarı Faktörleri, işletmeleri amaçlarına götürme yolunda gerekli stratejileri belirlemeyi sağlayan faaliyeti gerçekleştirmeye odaklı yönetim araçlarıdır. Her işletme kendi kritik başarı faktörlerini tanımlamalı, benimsemeli ve doğru stratejilerle kontrol ederek yönetebilmektedir. Ancak bu sayede günümüzün hızla değişen koşullarına ayak uydurabilir. Kurumsal Kaynak Planlaması uygulamasındaki genel güçlükler ve önemli faktörlerin göz ardı edilmesi yüksek hata oranlarına yol açabilmektedir. Bu nedenle kritik başarı faktörlerinin belirlenmesi ve bu faktörler göz ardı edilmeden uygulanabilmesi gerekmektedir [7].

Günümüzde pazarda çok fazla Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımı bulunmasından dolayı firmaya uygun yazılımın seçilmesi hayati önem arz etmektedir. Hizmet alacak firma ve yazılım firması birlikte fizibilite çalışmaları yapmalıdırlar. İşletmeler hedef ve stratejilerine uygun kurumsal kaynak planlaması yazılımı seçmelidirler. Eğer daha önceden bir yazılım kullanıyorlarsa yeni yazılımın eski yazılıma benzerliği esas olarak alınabilir ve seçilen yazılımın firma süreçlerine uygunluğu değerlendirilmelidir. Her firmanın kendine göre bir yazılım bulması oldukça zordur, bu nedenle yazılımın esnekliği ve firma süreçlerinin esnekliğinden yararlanılarak uygun yazılım seçilmelidir. Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımı seçim sürecinde dikkat edilmesi gereken önemli seçim kriterlerinden bazıları Baki ve Çakar tarafından yapılan bir çalışmada Tablo 1'de verildiği gibi belirlenmiştir [8].

3. Türkiye'de Döküm Sektörü

Döküm teknolojisi, metalleri işlemek ve şekillendirmek konusunda yüzyıllardır kullanılagelen, en önemli endüstri dallarından biridir. Gündelik hayatımızın her aşamasında, kuyumculuktan, ağır sanayi tezgâhlarına, tarım makinelerinden gemi makinelerine kadar çok değişik

Tablo 1. Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımı seçim kriterleri [8-13].

KRİTERLER	9. Kaynak	10. Kaynak	11. Kaynak	12. Kaynak	13. Kaynak
Çapraz modül entegrasyonu				*	*
Diğer sistemler ile uyumluluk		*			
Referanslar					
Vizyon	*			*	
Fonksiyonellik	*	*		*	*
Sistem Güvenliği					*
Danışmanlık					
Teknik Yönler	*	*	*	*	
Uygulama zamanı					
Pazardaki Konumu				*	*
Özelleştirme kolaylığı		*			*
Yazılım Metodu					
Organizasyona Uygunluğu					*
Servis ve Destek	*		*		*
Maliyet	*	*	*	*	*
Satıcı Referansları			*		

alanlarda döküm yöntemi ile üretilen malzemeler kullanılmaktadır. Üretilen sanayi mamullerinin yüzde 90'ında en az bir adet döküm ürünü bulunmasından dolayı dökümcülük imalat sanayisinin vazgeçilmez unsurları arasında yer almaktadır [14,15].

Türk Döküm Sektörünün gerek Avrupa'da, gerekse dünyada önemli bir yeri vardır. Türk Döküm Sektörü 2010 Dünya üretim rakamları itibarıyla Almanya, Fransa ve İtalya'yı takiben Avrupa'da 4. sıraya yerleşmiş ve 2008 yılında 5. sıradayken, 2009 ve 2010 yıllarında üretimi ile İspanya'yı geride bırakarak dünyanın önde gelen döküm üreticileri arasında yükselmeye devam etmiştir. Sektör, 2010 yılında dünya sıralamasında ise 12. sıradadır. 2011 yılında döküm sektöründe faaliyet gösteren 1.070 firma, toplam 2,58 milyar Euro kıymetinde 1.433.050 ton üretim yapmış, 1,84 milyar Euro'nun üzerinde ihracat gerçekleştirmiş ve 33.000 kişiyi istihdam etmiştir. Tablo 2.de Türkiye Döküm Sanayisinin yıllara ve malzeme grubuna göre değişen üretim kapasitesi verilmiştir [15].

Türkiye'de değişik yapıdaki döküm işletmeleri, 2011 yılında ortalama %78 kapasite ile çalışmışlardır. Kapasite kullanımı, demir döküm sanayinde %80, çelik dökümde %65, demir dışında ise %80 olarak gerçekleşmiştir. Sektörün temel müşterisi ana üretim sanayidir ve sektör ancak ana sanayinin kuvvetli olduğu ülkelerde pazar bulabilmektedir. Döküm, diğer üretim metotlarına göre üstünlükleri ve gelişen modern teknolojileri ile hem Dünyada hem de Türkiye'de uzun yıllar önemini koruması beklenmektedir [14].

Tablo 2. Türkiye Döküm Sanayi Üretim kapasitesinin sene ve ürün grubuna göre değiş.[15].

Alaşım Çeşidi	2009 (Ton)	2010 (Ton)	2011 (Ton)	% Değişim	2011 (Ton) İlk 6 Ay	2012 (Ton) İlk 6 Ay	% Değişim
Pik Döküm	456.000	591.000	625.000	6	311.000	305.000	-1
Sfero Döküm	352.000	423.000	480.000	13	231.000	240.000	2
Temper Dök.	2.000	4.700	5.500	17	2.650	3.000	7
Çelik	98.000	124.000	152.000	22	77.000	80.000	2
Demir Dışı Al	122.000	149.000	170.550	15	93.000	95.000	1
Toplam	1.030.000	1.291.700	1.433.050	11	714.650	723.000	1

4. Türkiye'de Dökümhanelerin Gelişimi ve Kurumsal Yapısı

Türkiye'de döküm sektörü köklü tarihsel geçmişi ile beraber sanayileşme döneminde özel teşebbüs yatırımları ile gelişmiştir. 2011 yılı verilerine göre, ülkemizde 2 bin dolayında dökümhane veya döküm makinesi üreticisi bulunmaktadır. Faaliyetlerinin yarısından fazlası metal döküm ve satışı olan işletmelerin sayısı ise bin civarındadır. Bu firmalardan sadece 18 tanesi kamu ve askeri kuruluşlara aittir. Döküm sektöründeki yapı; büyük sanayi kuruluşları, KOBİ'ler ve mikro işletmeler olmak üzere üç ana grup altında toplanmıştır. 80'li yıllardan itibaren ülkemizde artan otomotiv ve sanayi yatırımlarına paralel olarak, mevcut işletmelerin kapasitelerinde büyüme gözlenmiştir. Yıllık 20 bin tonun üzerinde üretim kapasitesine ulaşan, özellikle demir grubu dökümhaneleri bulunan tesisler, sektörün büyük sanayi kuruluşları grubu arasında yer almaktadır [14,15].

Bu işletmeler arasında özellikle mikro işletmeler; yüksek giderleri, teknolojik yatırım yapmaya elverişsiz finansal yapıları, nakit akış problemleri ve yönetimin sadece aile üyelerinden oluşması gibi birçok nedenle hem üst kategorideki otomotiv sektörüne hem de bir alt kategorideki tüketim sektörüne sürdürülebilir hizmet ve ürün sağlamakta zorlanmaktadır [15]. Ülkemizde döküm sektöründeki firmaların yapısı incelendiğinde özellikle mikro ve orta ölçekli döküm firmaların birçoğunun iki nesildir yönetilen aile şirketleri olduğu gözlenmektedir [16].

Aile şirketleri; sahipliği ve yönetimi bir ya da birkaç aileye ait olan işletmedir. Bu işletmelerde aile; hem kurucu, hem patron hem de yöneticidir. Aile şirketleri genelde; pazarın ve beklentilerin düşük, kar marjının yüksek olduğu dönemde kurulmuştur. Kurucularının teknik olarak yetkin olduğu işletmelerde 2. nesil, 1. nesil tarafından uygulanan metotların iyileştirilmeden korunması, alışkanlıkların sorgulanmaması, iş süreçlerinin iyileştirilmemesi gibi büyük hatalar yapıldığı gözlenmiştir. Ayrıca aile üyelerinin pozisyonlarından dolayı sorumlu oldukları alanların sorgulanmaması, maliyetlerin ve verimsizliğin artması, operasyonel verimsizlik, organizasyonel bozukluktan dolayı eski kemikleşmiş personelin, yeni ve profesyonel ekibi ve yeni uygulamaları reddetmesi, katma değeri yüksek profesyonel personelin kaybına neden olabilmektedir. Aile içi ilişkiler nedeniyle performansa dayalı bir yönetim yoktur. Aile bireylerine yakınlık, iş performansından daha önemli hale gelir, performansa göre değerlendirme yapılamaz. Durum böyle olunca aile şirket yapıları gereği işletme karlılığı ve rekabet gücü düşer, marka imajı bozulur. Ancak profesyonelce yönetilen şirket daha aktif ve büyüme eğilimli stratejiler takip eder [16].

Bu işletmeler, sermaye arttırarak ve teknik altyapılarını geliştirip yapısal değişikliklerle büyüyerek bir üst kategoriye geçebilir. Bu firmalar daha küçülüp dar pazarlarla yetinebilir veya dünyadaki benzerleri gibi pazardan çekilmek zorunda kalabilirler. Bu tür işletmeler, gelişmek, varlığını devam ettirmek ve yeni nesillere devri için, kurumsallaşmak zorundadır. Özellikle Aile Şirketleri için kurumsallaşma çok kritiktir [15,16].

5. Dökümhanelerde Kurumsallaşma Sürecinde Kurumsal Kaynak Planlamasının Önemi

Kurumsallık; kurumun faaliyetlerini sürdürmesinde çalışanların kişisel yöntemlerine bağlı olmadan kurumun kendi yöntemlerini üretmesi ve geliştirebilmesi için gerekli altyapının kurulması olarak tanımlanmaktadır [16]. Başka bir ifadeyle kurum içi ve dışı etkileşim ve iletişimde belirli kuralların hâkim olmasıdır.

Firmaların günümüz rekabet piyasasında mevcut kaynaklarını etkin ve verimli kullanarak ürünlerinin daha ekonomik ve kaliteli yapmak zorunlulukları vardır. Bunun için stratejik planlama, rekabet ve pazarlamada şirket olarak strateji geliştirmek, operasyonel iyileştirme ve bilgi yönetimi çok önem taşımaktadır. Kurumsal Kaynak Planlama sistemleri operasyonel iyileştirme ve bilgi yönetimi için kullanılması gereken en etkin araçtır. Diğer hiçbir yöntemin “bilgi yönetimi” konusuna bu kadar katkısının bulunmadığı savunulmaktadır. Bu yazılımlar ile veriye ulaşma ve raporlama mümkündür ve işletmenin kurumsal hafızasını oluştururlar. Bu sebeple günümüzde bütün işletmelerde olduğu gibi özellikle çok kompleks ve bütünlük bir üretim sistemi ağına sahip dökümhanelerde Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımı kullanımı zorunlu hale gelmiştir [16].

6. Dökümhanelerde Kurumsal Kaynak Planlaması Kullanımının Değerlendirilmesi

Dökümhaneler karmaşık üretim sistemlerinden dolayı birçok sektöre nazaran Kurumsal Kaynak Planlaması yazılımlarına daha fazla ihtiyaç duymaktadırlar. Ancak bu sisteme geçiş aşamasında bazı firmalarda yönetimin kurumsallaşmaya inanmaması, karar aşamasındaki kritik hamleleri yapmakta çekinmesi, kalifiye eleman yetersizliği, ekstra maliyet korkusu gibi engellerle karşılaşmaktadır. Kurumsallaşmaya inanan bazı firmalarda ise sürecin bir parçası olan yazılımın bütünlük yapıları ile Excel’de veri

tutma arasındaki farkı kavrayamadıkları gözlenmektedir. Bu sebeple yazılımı ilave maliyet olarak görürler. Oysaki Kurumsal Kaynak Planlaması kurumsallaşmanın ana ilkelerini bir anlamda fark ettirmeden işletmeye yerleştirir [16]. Ayrıca yapılan çalışmalarda özellikle maliyet ile alakalı olarak yazılımı etkin bir şekilde kullanan firmaların kısa sürelerde %20’ye varan oranlarda maliyet azalması ve %15 daha fazla karlılık elde ettikleri belirtilmiştir [17,18].

Dökümhanenin Kurumsal Kaynak Planlaması sistemini kullanması durumunda işletmede beklenen faydalardan bazıları aşağıda maddeler halinde verilmiştir;

- Müşteri siparişlerinin alınışından, üretim ve teslimine kadarki sürecin entegrasyonu sayesinde satış, satın alma, üretim ve sevkiyat departmanlarının koordinasyonu ile zamanında teslimat,
- Üretim süreçlerinin standartlaştırılması, koordinasyonu, mevcut hataların ve kayıpların analiz edilerek kalitenin artışı,
- Maliyetlerin azalması,
- Gerçek üretim maliyetlerinin belirlenmesi,
- Operasyonel kararlarda iyileşme, doğru ve güncel teknik belgelere hızlı ve güvenli erişim,
- Arka planda yürütülen işlemlerin otomasyonu
- Müşteriler, tedarikçilerle olan iletişimi güçlendirme, birimler arası koordinasyon,
- Atıl stok miktarının azaltılması,
- Tedarik süreçlerinin eksiksiz, zamanında yapılması,
- Birimler arası iletişim altyapısı ve birlikte hareket,
- Kurum içindeki finansal bilgilerin tek bir çatı altında takip ve kontrol edilebilmesi vb. [3].

7. Genel Sonuçlar ve Değerlendirme

Kurumsal kaynak planlaması ile firmalar, planlama, finans, satın alma, insan kaynakları, pazarlama, üretim bölümlerini tek bir bilgisayar sistemi altında toplayan bir yazılımdır. Bu yazılım organizasyonun faaliyetlerini etkinleştirilmesi, uzun dönem planlamalar yapabilecek analiz ve raporlamaya sahip olmasıyla kaynakların en etkin şekilde kullanılmasını sağlaması açısından firmalar için oldukça önemli bir yere sahiptir. Ancak piyasada mevcut birçok yazılım içerisinden uygun yazılımın seçiminde müşteri ve tedarikçi firmanın fizibilite çalışması yapması ve çeşitli kriterleri göz önüne alması gerekmektedir.

Kurumsal Kaynak Planlaması Yazılımları gelişen teknoloji ve küreselleşen dünyada bütün sektör firmaları için önemli bir araçtır. Ancak döküm sektörünün firmaların yapıları, ülke ekonomisi ve imalat sanayi için ülkemizdeki yeri göz önün alındığında bu sistemin kullanımı ayrıca önem kazanmaktadır. Çünkü ülke ekonomisinde çok büyük bir yere sahip olan döküm endüstrisindeki başarı doğrudan ülke ekonomisinde katkı sağlayacaktır.

Ülkemizde döküm sektöründeki firmaların yapısı incelendiğinde özellikle mikro ve orta ölçekli döküm firmalarının birçoğunun iki nesildir yönetilen aile şirketleri olduğu gözlenmektedir. Bu işletmelerin, yüksek giderleri, teknolojik yatırıma yapmaya elverişsiz finansal yapıları, nakit akış problemleri ve yönetimin sadece aile üyelerinden oluşması gibi birçok nedenle sürdürülebilir hizmet ve ürün sağlamakta zorlanabilmektedirler. Ayrıca aile şirket yapılarında yönetim, üretim ve yenilikçiliğe karşı direnç mevcuttur. Durum böyle olunca aile şirket yapıları gereği işletme karlılığı ve rekabet gücü düşer, marka imajı bozulur. Ancak profesyonelce yönetilen şirket daha aktif ve büyüme eğilimli stratejiler takip eder. Firmaların günümüz rekabet piyasasında mevcut kaynaklarını etkin ve verimli kullanarak ürünlerinin daha ekonomik ve kaliteli yapmak zorunlulukları

vardır. Bunun için stratejik planlama, rekabet ve pazarlamada şirket olarak strateji geliştirmek, operasyonel iyileştirme ve bilgi yönetimi çok önem taşımaktadır. Bu tür işletmelerin, gelişmek, varlığını devam ettirmek ve yeni nesillere devri için tek çıkar yol kurumsallaşmaktır. Özellikle Aile Şirketleri için kurumsallaşma çok kritiktir. Kurumsallık; kurumun faaliyetlerini sürdürmesinde çalışanların kişisel yöntemlerine bağlı olmadan kurumun kendi yöntemlerini üretmesi ve geliştirebilmesi için gerekli altyapının kurulması olarak tanımlanmaktadır.

Kurumsal Kaynak Planlaması, kurumsallaşmanın ana ilkelerini fark ettirmeden işletmeye yerleştirir. Böylece yazılımı etkin bir şekilde kullanan firmaların kısa sürelerde %20'ye varan oranlarda maliyet azalması ve %15 daha fazla karlılık elde ettikleri belirtilmiştir. Sonuç olarak, kurumsal hâkimiyet ancak Satış, Stok, Satın alma, Üretim, Kalite, Bakım, İnsan Kaynakları, Finans ve Maliyet Yönetiminin tek veri tabanında bütünlük şeklinde yönetilmesi ile sağlanacağı düşünülmektedir.

Referanslar

- [1] Chung, S. H., Snyder, C. A., ERP Adoption: a Technological Evolution Approach, *International Journal of Agile Management Systems*, 2(1): 24-32, 2011.
- [2] Laudon, K.C., Laudon, J.P., *Management Information Systems: Organisation and technology in a networked enterprise*, 6th Ed. New Jersey:Prentice Hall,2010.
- [3] Hedman, J., Borell, A., *The Impact of Enterprise Resource Planning Systems on Organizational Effectiveness: An Artefact Evaluation*. *Enterprise Resource Planning: Global Opportunities & Challenges*. L. Hossain, J. D. Patrick and M. A. Rashid. London: Idea Group Publishing, 2002.
- [4] Tambovcevs, A., Merkurjev, Y., *Analysis of ERP Systems Implementation in the Construction Enterprises*. *Scientific Journal of Riga Technical University. Computer Sciences*, 39(1), 2009.
- [5] Lira, Arnaldo Morozini D., Parisi, C., Ivam R. and Marcos R. S., *Uses of ERP systems and their influence on controllership functions in Brazilian Companies*, *JISTEM J.Inf.Syst. Technol. Manag.*[online], Vol.9, n.2 ISSN 1807-1775, 2012.
- [6] Nancy H. B., Henning S., Andrea S., *Implementing SAP R/3*, Greenwich, London: Manning Publications,1998.
- [7] Umble, J., Haft, R., *Enterprise Resource Planning: Implementation Procedures and Critical Success Factors*, *European Journal of Operation Research*, 146(2): 241-257,2013.
- [8] Birdogan, B. and Kemal, C., *Determining the ERP package-selecting criteria – the case of Turkish manufacturing companies*, *Business Process Management Journal*, Vol. 11, No. 1, pp.75–86,2005.
- [9] Hecht, B., *Choose the right ERP software*, *Datamation*, Vol. 43, issue 3, p. 56–58,1997.
- [10] Edward, B., Stefan, K.,*ERP selection process in midsize and large organizations*, *Business Process Management Journal*, Vol. 7, No. 3, pp.251–257,2001.
- [11] Siriginidi S.R., *Enterprise resource planning: business needs and technologies*, *Industrial Management & Data Systems*, Vol. 100 Iss: 2, pp.81 – 88, 2000.
- [12] Verville, J., Bernadas, C., *So you're thinking about buying an ERP? Ten critical factors for successful acquisitions*, *Journal of Enterprise Information Management*, 18(6), 665-677,2005.
- [13] Kumar, V., Maheshwari, B., Kumar, U., *An investigation of critical management issues in ERP implementation: emperical evidence from Canadian organizations*. *Technovation*, 23(10), pp.793-807,2003.
- [14] Sertör Hakkında, <http://www.tudoksad.org.tr/sector-hakkinda/>, Erişim tarihi:10.10.2015.
- [15] Türk Döküm Sektörü Avrupa'nın 4. Büyüğü, <http://www.moment-expo.com/turk-dokum-sektoru-avrupa-nin-4-buyugu>, Erişim tarihi:10.10.2015.
- [16] Atmaca Çağlayık N., *Kurumsallaşma ve ERP*, 7.Uluslararası Ankiros Döküm Kongresi, 11-13 Eylül 2014.
- [17] Rcinformatica, <http://www.rcinformatica.it/en/>, Erişim Tarihi 10.10.2015.
- [18] Kollanus J., Nieminen M., and Orkas J., *Erp in foundries – Towards Optimized Cast Production with Order-Driven DES*, 68th WFC - World Foundry Congress, pp. 255-259, 7th - 10th February, 2008.



Türk Doğa ve Fen Dergisi

Turkish Journal of Nature and Science

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tdfd/>



Hayvansal ürünlerde dioksinler

Alper Baran¹, Ahmet Erdoğan*²

Özet

Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler (PCDDs), poliklorlu dibenzofuranlar (PCDFs) ve poliklorlu bifeniller (PCBs) düzlemsel polihalogenli aromatik hidrokarbonlarla ilişkili üç bileşiktir ve dioksin olarak isimlendirilmektedirler. Bu kimyasallar bazı kaynaklardan (örn., katı atık yakma, medikal atıklar, pestisit üretimi, orman yangınları, volkanik patlamalar) doğaya yayıldıktan sonra gıdaları ya direkt olarak ya da besin zinciriyle indirekt olarak kirletebilmektedir. Bu kalıcı çevresel kontaminantlar lipofilik bileşikler olduğu için et, balık, süt ve süt ürünleri veya sığır yağ dokusu ve tavuk yumurtaları gibi hayvansal ürünlerde birikmektedirler. Dioksinler ve dioksin benzeri bileşikler, bazı ciddi sağlık problemlerinin sebebidir. Dioksin bileşiklerinin AhR reseptörüne bağlanması ve sonuçta gen regülasyonunu tetiklemesi kansere sebep olabilir. Bu yüzden dioksinler potansiyel bir “insan karsinojeni” olarak sınıflandırılmaktadır. Dioksinler, sağlığa olan bu potansiyel etkisinden ötürü hem hükümetler hem de halk için kaygı yaratan önemli bir konudur. Bu derlemede dioksinlerin kimyasal yapısı, kaynakları, dokulara etkileri ve hayvansal ürünlerdeki varlıkları ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dioksin; dioksin benzeri PCB; hayvansal ürün; halk sağlığı

Dioxins in animal products

Abstract

Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and polychlorinated biphenyls (PCBs) are three compounds related planar polyhalogenated aromatic hydrocarbons and are named as dioxin. These chemicals, after their release into environments from various sources (e.g. solid waste incineration, medical wastes, pesticide production, forest fires, volcanic eruptions) have polluted various foods directly or indirectly through the food chain. Since these persistent environmental contaminants are lipophilic compounds they accumulate in the animal products like meat, fish, milk and milk products or bovine adipose tissue and hen's eggs. Dioxins and dioxin-like compounds are reason of some serious health problems. Binding of dioxin compounds to AhR receptor and the subsequent induction of gene regulation can cause the cancer. Hence dioxins was classified as a potential “human carcinogen”. This potential health effect of dioxins are an important issue of concern to both governments and the public. In this review, it has been dealt with chemical structure, sources, effects on tissues and presence in animal products of dioxin.

Keywords: Dioxin; dioxin-like PCB; animal products; public health

1. Giriş

Dioksinler, düzlemsel halojenli aromatik hidrokarbonlardan meydana gelmiş poliklorlu dibenzodioksin (PCDD), poliklorlu dibenzofuran (PCDF) ve “dioksin-benzeri” poliklorlu bifenillerden (PCB) oluşan kimyasal yapılarıdır. Kanserojenik bu maddelerin 7 ile 11 yıl arasında vücutta kaldığı tahmin edilmektedir. Çevrede gerek endüstriyel gerekse doğal olaylardan kaynaklı olarak bulunan dioksinler özellikle hayvansal gıda zincirinde birikerek halk sağlığı açısından olumsuz sonuçlara yol açabilmektedir [1,2]. Dioksin ve dl-PCB’ler sahip oldukları yüksek toksik potansiyelleri nedeniyle sağlık riski oluşturabilir. Yapılan bazı araştırmalar [3-5] dioksinlerin

vücudun birçok organ ve sistemlerini etkilediğini ortaya koymuştur. Temelde kanserojenik bir karaktere sahip olan bu kimyasallar; çocuklarda öğrenme yeteneğini olumsuz etkileme ve enfeksiyonlara yakalanma eğilimlerini artırma, karaciğer ve tiroidin metabolizmasını üzerine olumsuz etki yaparak insan metabolizmasının dengesini bozma, reproduktif sisteme etki ederek erkek reproduktif hormon seviyesini değiştirme, erken doğum, abort, doğum defektleri, düşük kiloda doğum ve gelişme geriliğine yol açma, solunum sistemi kanserlerine ve yumuşak doku sarkomlarına sebep olma ile immunsupresyon gibi olumsuz etkiler oluşturduğu bildirilmiştir [6].

2. Kimyasal Özellikler

Dioksinler; 75 PCDD, 135 PCDF ve 12 PCB’ li bileşik olmak üzere toplam 222 farklı kimyasal yapıyı içermektedir.

¹ Atatürk Üniversitesi, Erzurum Meslek Yüksekokulu, Gıda Kalite Kontrol ve Analizi Pr., 25240 Erzurum, Türkiye

Atatürk Üniversitesi, Erzurum Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Pr., 25240 Erzurum, Türkiye

*Sorumlu yazar E-posta: alper.baran@atauni.edu.tr

Dioksinler kimyasal yapıları itibarıyla iki gruba ayrılır. Bunlar; Poliklorodibenzo-p-dioksin (PCDD) ve Poliklorodibenzofuran (PCDF)'dir. PCDD iki oksijen atomuyla, PCDF ise bir oksijen atomuyla bağlanmış 2 benzen halkasıyla oluşturulmuş düzlemsel trisiklik aromatik bileşiklerdir. Benzer kimyasal özelliğe sahip olan bu bileşikler oldukça stabildir ve bozulmaya karşı dirençlidir. Aynı zamanda yüksek düzeyde yağda çözünbilme ve besin zincirinde biyoakümüle olma özelliğine sahiptirler [7,8].

Poliklorodibifeniller (PCB), her biri altı karbon atomu içeren iki benzen halkasından oluşan bir molekül olan bifenile bağlı 1-10 klor atomundan oluşan organik bileşiklerdir. Tüm PCB'lerin kimyasal formülü C₁₂H_{10-x}Cl_x şeklindedir. Formüldeki "x" klorin atom sayısını göstermektedir. PCB'lerin 209 alt türü mevcuttur fakat ticari ürünlerde bunlardan 130'u bulunabilmektedir. PCB'ler toksikolojik özelliklerine göre non-orto, mono-orto ve poli-orto PCB olmak üzere 3 gruba ayrılırlar. Non-orto ve mono-orto PCB'ler, Ah reseptörüne bağlanabilir ve bu yüzden de "dioksin benzeri PCB'ler (dl-PCB)" olarak da adlandırılırlar. Bütün PCB izomerleri hidrofobiktir, özellikle bünyesinde yağ dokuyu barındıran besinlerin yapısına girerek biyoakümüle olma özelliğine sahiptirler [9]. Dioksin ve dl-PCB'ler sahip oldukları toksisiteyi bakımından en kanserojen potansiyele sahip olan ve toksisite ekuvalans faktörü (TEF) olarak da bilinen 2, 3, 7, 8-TCDD'e göre değerlendirmeye tabi tutulurlar.

3. Dioksin ve dl-PCB Kontaminasyon Kaynakları

Dioksinler çeşitli endüstriyel sürecin sonucu (örn., katı atık yakma, medikal atıklar, klorla kağıt ağırtma işlemi ve bazı pestisid, herbisid ve fungisid üretimi) olarak oluşan kontaminantlardır. Dioksinler sadece endüstriyel bir sürecin sonucu değil, aynı zamanda çevredeki doğal olaylarda da (örn., volkanik patlamalar, orman yangınları) meydana gelebilirler [10,11].

Fiziksel özelliklerine bağlı olarak PCDD/F, is ve hava partikülleri tarafından adsorbe edilir. Bu partiküller toprak ve yeşil yapraklı bitki örtüsü üzerinde atmosferik çöküntüyle birikirler. PCDD/F kaynağının uzaklığına ve mevsimsel eğilimlere bağlı olarak bu kontaminantların birikme oranı önemli ölçüde değişiklik gösterebilir [10].

Poliklorlu bifeniller (PCBs) 1920'den beri ticari olarak bifenilin direkt olarak klorinasyonu ile üretilmektedir. Çeşitli PCB-karışımı klorin içeriğine göre adlandırılmaktadır; "Aroclor" olarak ABD'de, "Clophen" olarak Almanyada, "Phenoclor" olarak Fransıya ve "Kanechlor" olarak Japonyada sözü edilen marka isimleriyle üretilmektedir. Bu karışımlar kaplama, mürekkep, yangın söndürücü ve boya gibi ürünlerde yaygın bir kullanım alanı bulmakta fakat genel olarak elektronik aletler, ısı transfer sistemleri ve hidrolik sıvıların yapımında kullanılmaktadırlar. PCB'nin doğada birikim yaptığı tespit edildikten sonra 1970'lerden sonra sözü edilen alanlardaki uygulamaları birçok ülkede yasaklanmıştır. PCB'ler kapasitör ve trafo gibi kapalı sistemlerde günümüzde hala kullanılmakta olsa da zaman içerisinde kullanımının azalması beklenmektedir. Hem ev hem de endüstriyel

atıkların bertarafı doğadaki PCB emisyonunun temel kaynağını oluşturmaktadır [12,13].

4. Dioksin ve dl-PCB'nin Etki Mekanizması

Dioksinler içinde en toksik özelliğe sahip olan 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), vücut dokularında uzun bir yarılanma süresine sahiptir (>7 yıl) ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından aril-hidrokarbon reseptörünün (AhR) hareketiyle etkisi ortaya çıkan bir insan kansinojeni olarak sınıflandırılmıştır. AhR hücre çekirdeğine ait bir reseptör ve transkripsiyon faktörüdür. TCDD'nin varlığında, AhR aromatik hidrokarbon çekirdeksel taşıyıcı ile heterodimer bir yapı oluşturur ve bu yapı sitokrom P4501A1 (CYP1A1) ve P4501B1 (CYP1B1) gibi ksenobiyotik metabolize edici enzimlerin transkripsiyonunu tetikler. Uzayan CYP1A1'in etkisi genotoksik metabolitlerin ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açtığı için zararlı DNA lezyonlarının açığa çıkma olasılığını artırabilir. Benzer bir şekilde CYP1B1 de 17β-östradiol'un metabolizması ve polisiklik aromatik hidrokarbonların ve arilaminlerin biyoaktivasyonu boyunca karsinogenezis mekanizmasına katkı olarak endokrinolojik problemlere yol açar [14,15]. TCDD'nin bu zararlı etkileri çeşitli hayvan denemelerinde gözlemlenmiştir. TCDD'nin >100 ng/kg miktarı balık, kuş ve memeli embriyolarının gelişmelerinde olumsuz kalıcı etkilere yol açmıştır. Dioksinlerin etki mekanizmasını Şekil 1'deki şematik yapıyla özetlemek mümkündür [13].

4.1. Toksik Eşdeğerlilik (TEF)

PCDD ve PCDF'nin sağlık üzerine olan etkileri vücuttaki AhR reseptörleriyle olan etkileşimleriyle meydana gelmektedir. Bu maddelerin genel olarak yaptıkları etkiler birbirine benzemesine karşın, toksikolojik olarak kullanılabilir bilgi yalnız TCDD'ye aittir. Bu yüzden bu bileşenlerin toksisiteyi değerlendirmek ve bunlara karşı yürütülecek risk değerlendirmelerini sağlamak üzere "TCDD eşdeğerlilik" veya "toksik eşdeğerlilik" olarak bilinen bir konsept belirlenmiştir. PCDD ile PCDF izomerleri ve 13 dioksin benzeri PCB arasındaki yapısal benzerlikler ve bu maddelerin toksikolojik ve invitro çalışmalarda elde edilen biyolojik verilerle her bir izomerin toksisitesi belirlenmiştir. Elde edilen verilerle her bir dioksin izomerinin birbiri arasındaki toksik seviyeleri birbirleriyle karşılaştırılarak Toksik Eşdeğerlilik Faktörü (TEF) oluşturulmuştur [16,17]. Bu konseptte göre incelenen her birinin gıda maddesindeki dioksin bileşiklerinin miktarı ile WHO'ya göre bildirilmiş Toksik Eşdeğer Faktörü çarpılır. Bu çarpımlar sonucu elde edilen değerler toplanarak her bir gıda maddesine ait Toksik Eşdeğer Konsantrasyon (TEQ) düzeyleri hesaplanır.

Dioksin için günlük tolare edilebilir alım miktarı vücut ağırlığı/gün cinsinden 1-4 pg TEQ kg-1 olarak belirlenmiştir. Bugüne kadar elde edilen veriler ışığında her bir dioksinin sahip olduğu toksik eşdeğerlilik WHO tarafından 1998 yılında yapılmış ve 2005'te son şekli verilerek bu değerler ortaya konmuştur (Tablo 1).



Şekil 1. Dioksinin Dokular Üzerine Etkisi [13].

Tablo 1. Bazı Dioksin Bileşiklerinin Toksik Eşdeğerlilik Faktör (TEF) Değerleri [6]

Bileşik	WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF
2,3,7,8-TCDD	1	1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	0,03
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	0,01
PCB 126	0,1	0,1
OCDD	0,0001	0,0003
2,3,7,8-TCDF	0,1	0,1

5. Hayvansal Ürünlerdeki Dioksin ve dl-PCB Varlığı

Çevredeki kalıcılığı ön planda olan dioksinler gerek kimyasal gerekse yüksek oranda lipofilik ve düşük orandaki uçucu fiziksel özelliğinin nedeniyle besin zincirinde birikmeye eğilimlidir. Şu anda yaklaşık olarak insanların % 90'dan fazlasının özellikle hayvansal yağları içeren gıdalar ile dioksinlere maruz kaldıkları tahmin edilmektedir [18]. Dioksin ve dl-PCB kontaminasyonunun diğer yolları ise sigara, fabrika veya tehlikeli atıkların kontrolsüz olarak yakılmasıdır. Bu konuda yapılmış gıda maddelerine yönelik çalışmalarda genel olarak hayvansal ürünler üzerine odaklanılmıştır.

Balık ve su ürünleri, et ve et ürünleri ve süt ürünlerinin yetişkinlerde ve çocuklarda dioksinlere maruz kalmada temel kaynak oldukları bilinmektedir. Ayrıca gıdaların PCDD/Fs ve dl-PCB'ye maruz kalma seviyelerinin günümüzde geçmişe göre dikkate değer bir şekilde azaldığı bildirilmiştir [19,20]. Bu trendin aksine farklı ülkelerde spesifik kontaminasyona bağlı olarak görülen kazalar gıdalarda bu toksik ajanların yüksek seviyede ortaya çıkmasına yol açmakta ve dolayısıyla büyük bir kaygı yaratmaktadır [21].

Süt ve süt ürünleri insanların dioksinlere maruz kalma olaylarının ülkelerdeki beslenme alışkanlıklarına göre değişmek üzere yaklaşık % 32-43'ünü ve dl-PCB'ye maruz kalma olaylarının ise % 28'ini oluşturduğu bildirilmiştir [22]. Bu bakımdan süt insanların dioksinlere maruz kalmalarına yol açan önemli bir kaynaktır. Süt ve süt ürünlerinde PCDD/Fs için eylem eşiği ise 2 pg (TEQ/g yağ olarak belirlenmiştir. Fransa'da 2006 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada [23] 239 ayrı süt numunesinden PCDD/Fs seviyesi için elde edilen verilerin Avrupa Birliğinde süt ve süt ürünleri için öngörülen değerlerin altında olduğu saptanmıştır. Benzer bir çalışma [24] aynı ülkede 1998 yılında yapılmış ve 2006'da yapılan çalışmayla karşılaştırıldığında 0,65 pg TEQ/g yağ olan değer 0,33 pg TEQ/g yağ'a düştüğü belirtilmiştir. Bu azalmanın Fransız hükümetinin PCDD/Fs yayan endüstriyel kuruluşlar için yürürlüğe koyduğu yasal düzenlemelerden kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür. İsviçre'de endüstriyel olarak üretimi yapılan ve tüketime sunulan sütlerde PCDD/Fs seviyesi $0,51 \pm 0,19$ ng TEQ/kg süt yağı'dır. Bu oranın İsviçre'nin kırsalında yer alan işletmelerdeki miktardan ($0,36 \pm 0,093$ ng TEQ/kg süt yağı) biraz daha fazla olduğu bildirilmiştir [25]. Bunun nedeni olarak endüstriyel anlamda üretimi yapılan süt ürünlerinin endüstriyel süreç sonunda oluşan dioksin ve furanların etkisiyle hayvan yemlerinde bulunma olasılığına bağlı olarak kırsal kesimde elde edilen süte göre daha fazla bu maddeleri içermesi düşünülebilir [26].

Elazığ yöresindeki tereyağları üzerine yapılan bir çalışmada [27] tereyağı numunelerinden elde edilen 4,92 pg TEQ/kg değerinin dünyanın farklı yerlerinde yapılan çalışmalarla elde edilmiş olan tereyağlarındaki dioksin düzeyi olan ortalama 0,0011 ng/kg miktarıyla karşılaştırıldığında Elazığ yöresinde elde edilen değerler oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada dioksin düzeylerinin normal değerlere göre

yüksek çıkmasında, bilinçsiz tarım ilaçlamaları, endüstriyel atıkların kontrolsüz bir şekilde doğaya atılması ve bazı yanma (odun, kömür, çöp) olayları sonucunda bölgeye yüksek düzeyde dioksinli bileşiklerin yayılmasının sebep olabileceği vurgulanmıştır.

Japonya'da yürütülen toplam diyetdeki dioksin ve benzeri türevlerin varlığı üzerine olan bir çalışmada [28] PCDD/Fs ve dl-PCB'nin alımının daha çok balık ve su ürünlerinin tüketiminden kaynaklandığı bildirilmiştir (% 76,9). Benzer bir çalışmada [29] balıkta bulunan PCB ve PCDD/Fs'nin dioksinlere maruz kalmada toplam diyet'in İsviçre'de % 57'sini, Hollanda'da % 26'sını, Finlandiya'da % 58'ini ve Belçika'da % 15-19'unu oluşturduğu bildirilmiştir.

Türkiye'de PCDD/F'ler, dioksin benzeri PCB'ler ve indikatör PCB'ler açısından Karadeniz'den yakalanan ve sıklıkla tüketilen mezgit, istavrit, ve hamsi örnekleri analiz edilmiştir. Sonuçlar PCDD/F-TEQ, dl-PCB-TEQ ve indikatör PCB'ler için sırasıyla 0,28-0,91 pg/g yağ ağırlık, 0,56-1,89 pg/g yağ ağırlık ve 3,05-10,94 ng/g yağ ağırlık olarak bulunmuştur. Tespit edilen değerler ilgili AB mevzuatında balıklarda dioksin için maksimum 4,0 pg/g yağ ağırlık, dioksin benzeri PCB toplamı için 8,0 pg/g yağ ağırlık olan değerler ile karşılaştırıldığında bu ortalamanın altında olduğu bildirilmiştir [30].

Yağ dokuyu yoğun bir şekilde bünyesinde barındıran et ve et ürünleri dioksin ve dl-PCB ile olan kontaminasyonlarda önemli rol oynamaktadır. Bu toksik bileşenlerin kaynağı ise genel olarak hayvan yemlemede kullanılan yemlerinin herhangi bir şekilde kontamine olmasıyla gerçekleşmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda ABD'de ortalama 0,10-5,17 pg TEQ/g [31], Almanya'da 1,4-2,3 pg TEQ/g [32], Kanada'da 2,6 pg TEQ/g [33], Hollanda da ise 1,7 pg TEQ/g [34] seviyelerinde tavuk etlerinde PCDD/PCDF bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalara benzer bir çalışma Tanyıldızı ve Çiftçi [35] tarafından Türkiye'de tüketilen kırmızı et ile tavuk eti örneklerinde dioksin ve dioksin benzeri bileşik düzeylerine yönelik yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre PCDD/F bileşiklerinin toksik eşdeğer konsantrasyonları (TEQ) için alt sınırın kırmızı et ve tavuk etinde sırası ile 2,83 ve 3,17 pg TEQ/g yağ, aynı değer üst sınırının ise yine sırası ile 3,45 ve 4,21 pg TEQ/g yağ olduğu belirlenmiştir. Ayrıca PCB bileşiklerinin alt sınır düzeyleri kırmızı et ve tavuk etinde sırasıyla 0,0108 ve 0,0085 pg TEQ/g yağ iken, üst sınır değeri yine sırasıyla 0,0572 ve 0,0595 pg TEQ/g yağ olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, yağ dokusu bazında, tüketilen kırmızı et ve tavuk etindeki PCDD/F bileşik düzeylerinin diğer ülkeler ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) belirlediği limitlere (PCDD/Fs TEQ 3-4,5 pg/g yağ) göre çok az miktarda yüksek olduğu; PCB bileşik düzeylerinin ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Buradan Türkiye'de tüketilen kanatlı ve sığır etlerinin potansiyel risk oluşturabileceğine dair bir çıkarımda bulunmak söz konusu olabilir.

Yumurta dioksinlere fazlaca maruz kalan bir gıdadır. Yapılan bir çalışmada [36] organik yumurtacılıktan elde edilen yumurtalarda diğer yetiştiricilik yöntemlerine göre

elde edilen yumurtalara nazaran daha fazla dioksinin içeriğinin olduğu bildirilmiştir. Organik yetiştiricilikte görülen dioksin içeriğinin fazlalığı ticari organik yemler, toprak, bitki, sulucan ve böceklerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Yumurtada bulunan dioksin oranları (pg/ TEQ/ g yağ) ülkeler bazında yapılan bazı çalışmaların sonucu Tablo 2’de gösterilmiştir [37,38].

Tablo 2. Avrupa’nın Farklı Ülkelerinde Yetiştiricilik Şekline Göre Dioksin Miktarları (pg/ TEQ/ g yağ) [37,38]

Ülke	Kafes Sistemi	Serbest Doluşumlu/Organik
Hollanda	1-2	0,4-8,1
Belçika	1	1-10
Almanya	0,5-2,3	0,4-11,4
İrlanda	0,1-0,6	0,5-2,7
İsveç	0,6	0,6-3,1
İsviçre	1,3	2,3-9

Besinlerin pişirilme süreci sahip oldukları dioksin ve dl-PCB seviyesi maruziyete neden olma bakımından oldukça önemlilik arz etmektedir. Yapılan bir çalışmada [39] pişirme esnasında gıdanın katı, sıvı ve gaz fazından örnekler alınmıştır. Elde edilen veriler gıdaların pişirilmesi sürecinde dioksin oluşabileceğini ve bu toksik maddelerin gaz fazında, sıvı ve katı faza göre daha fazla oranda ortaya çıkabileceğini göstermektedir. Bu bakımdan pişirme esnasında oluşan gaz fazındaki dioksine maruz kalma seviyesini azaltmak için iyi bir hava ventilasyonun sağlanması gerekmektedir.

Balık filetolarının pişirme işlemine tabi tutulmasıyla birlikte PCB seviyesinin ortalama % 35 azaldığı bildirilmiştir [40]. Armbruster ve Ark. [41] balıklarda trimleme ve pişirme işleminin birlikte gerçekleştirildiğinde PCB seviyesinin % 66,9 oranında, tek başına trimleme yapıldığında % 59,4 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Hayvansal gıdaların pişirme şekline göre değişen oranlarda dioksin seviyesinin farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (Tablo 3) [42].

Tablo 3. Evde Hazırlama ve Pişirme Yöntemlerinin Etkeli Dioksin’e Etkisi [42]

Etin Tipi	Çiğ Gıdanın Kontaminasyon Düzeyi (pg/g ya da ppt)	Tavada Kızartma	Izgara yapma/ Kavurma
Sığır Eti	3,8 (3 PCDD ve 2 PCDF için)	▼ % 7,2	▼ % 19,2
Dana Eti	0,037 (WHO-TEQ)	▼ % 62,2	▼ % 81,1
Kuzu Eti	0,006 (WHO-TEQ)	▲ % 150	▼ % 77,8

▼ PCDD/F seviyesinde azalma, ▲ PCDD/F seviyesinde artma

6. Sonuçlar ve Öneriler

Dioksinler endüstriyel bir sürecin veya doğal olayların sonucu olarak ortaya çıkmakta ve yağlarda birikebilme özelliğine sahip olduğu için özellikle süt, et, yumurta, balık gibi hayvansal ürünlerde kalıntı bırakmaktadır. Bu toksik maddelerin hayvansal ürünlerde bulunan yüksek miktarları halk sağlığı açısından ciddi riskler oluşturabilmektedir. Dioksinlerin meydana getirmiş olduğu olumsuz etkileri daha düşük düzeylere indirgeyebilmek için risk analizlerinin başta endüstrilemiş bölgeleri olmak üzere her ülkenin kendi çapında değerlendirilmesi alınabilecek önlemler arasında yer almaktadır. Bu konuda insanların bilinçlenme düzeyi daha da artmakta ve bu tür maddelerin kontaminasyonunun engellenmesi veya en aza indirilmesine yönelik bir beklenti oluşmaktadır. Pahalı bir yöntem olan HRGC/HRMS yolu ile dioksinlerin gıdalardaki tespitinin yerine daha pratik ve ucuz yöntemlerin geliştirilmesi ile dioksinlere yönelik mücadelede önemli mesafe kat edilebilir. Bu tür girişimlerin yanı sıra uluslararası boyutta her bir gıda maddesine özgü

standartların geliştirilmesi de dioksinle mücadelede alınabilecek bir önlem olabilir.

Referanslar

- [1] Olivero-Verbel J., Cabarcas-Montalvo M., Ortega-Zuniga C. Theoretical targets for TCDD: A bioinformatics approach, *Chemosphere.*, 80 (10), 1160-1166, 2010.
- [2] Crinnion W.J. Polychlorinated Biphenyls: Persistent Pollutants with Immunological, Neurological, and Endocrinological Consequences, *Altern. Med. Rev.*, 16 (1), 5-13, 2011.
- [3] Appel K.E., Schwarz M. Carcinogenic risks of dioxin: Mechanistic considerations, *Regul. Toxicol. Pharm.*, 43 (1), 19-34, 2005.
- [4] Hauser R., Humblet O., Birnbaum L., Rimm E., Mittleman M.A. Dioxins and Cardiovascular Disease Mortality, *Environ. Health Perspect.*, 116 (11), 1443-1448, 2008.
- [5] Peterson R.E., Vezina C.M., Lin T.M. AHR signaling in prostate growth, morphogenesis, and disease, *Biochem. Pharmacol.*, 77 (4), 566-576, 2009.
- [6] WHO, Dioxins and Their Effects on Human Health, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs225/en/>, Erişim Tarihi: 06.08.2011.
- [7] Huwe J.K. Dioxins in food: A modern agricultural perspective, *J. Agric. Food. Chem.*, 50 (7), 1739-1750, 2002.
- [8] Kvaalem H.E., Knutsen H.K., Thomsen C., Haugen M., Stigum H., Brantsaeter A.L., Froshaug M., Lohmann N., Papke O., Becher G., Alexander J., Meltzer H.M. Role of dietary patterns for dioxin and PCB exposure, *Mol. Nutr. Food Res.*, 53 (11), 1438-1451, 2009.
- [9] Ulaszewska M.M., Zuccato E., Davoli E. PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in human milk and estimation of infants’ daily intake: A review, *Chemosphere.*, 8 (6), 774-782, 2011.
- [10] Freeman N.C.G., Tejada S.S. Methods for collecting time/ activity pattern information related to exposure to combustion products, *Chemosphere.*, 49, 979-992, 2002.
- [11] Srogi K. Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in environmental and human samples: a review, *Environ. Chem. Lett.*, 6 (1), 1-28, 2008.
- [12] Masunaga S., Yao Y., Ogura I., Sakurai T., Nakanishi J. Source and behavior analyses of dioxins based on congener-specific information and their application to Tokyo Bay basin, *Chemosphere.*, 53 (4), 315-324, 2003.
- [13] Mandal P.K. Dioxin: a review of its environmental effects and its aryl hydrocarbon receptor biology, *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.*, 175 (4), 221-230, 2005.
- [14] Baccarelli A., Pesatori A.C., Masten S.A., Patterson D.G., Needham L.L., Mocarelli P., Caporaso N.E., Consonni D., Grassman J.A., Bertazzi P.A., Landi M.T. Aryl-hydrocarbon receptordependent pathway and toxic effects of TCDD in humans: a population-based study in Seveso, Italy, *Toxicol. Lett.*, 149 (1-3), 287-293, 2004.

- [15] Whitlock J.P. Induction of cytochrome P4501A1, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 39, 103-125, 1999.
- [16] Pollitt F. Polychlorinated dibenzodioxins and polychlorinated dibenzofurans, *Regul. Toxicol. Pharm.*, 30 (2), 63-68, 1999.
- [17] Schrenk D., Knerr S. Carcinogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in experimental models, *Mol. Nutr. Food Res.*, 50 (10), 897-907, 2006.
- [18] Aylward L.L., Hays S.M. Dioxin risks in perspective: past, present, and future, *Regul. Toxicol. Pharm.*, 37 (2), 202-217, 2003.
- [19] European Food Safety Authority, Results of the monitoring of dioxin levels in food and feed. Parma, Italy, European Food Safety Authority (EFSA), 2010.
- [20] Yusa V., Marin S., Villalba P., Diaz-Ferrero J., Font G. Congener profile, occurrence and estimated dietary intake of dioxins and dioxin-like PCBs in foods marketed in the Region of Valencia (Spain), *Chemosphere.*, 82 (9), 1253-1261, 2011.
- [21] Covaci A., Ryan J.J., Schepens P. Patterns of PCBs and PCDD/PCDFs in chicken and pork fat following a Belgian food contamination incident, *Chemosphere.*, 47 (2), 207-217, 2002.
- [22] Tiwari B.K., Adekunle A.O., O'Donnell C.P. Exposure assessment of dioxins and dioxin-like PCBs in pasteurised bovine milk using probabilistic modelling, *Chemosphere.*, 81 (4), 509-516, 2010.
- [23] Durand B., Dufour B., Vindel E., Fraisse D. A survey of PCDD and PCDF in French long-life half-skimmed drinking milk, *Chemosphere.*, 41 (6), 865-869, 2000.
- [24] Vindel E., Duhem K., Durand B., Dufour B., Guyonnet J.P., Fraisse D., Le Querrec F. Evaluation of the mean concentration of dioxins and furans in heat treated milk at the consumption level in France, *Organohalogen Compd.*, 43, 437-440, 1999.
- [25] Schmid R., Gujer E., Zennegg M., Studer C. Temporal and local trends of PCDD/F levels in cow's milk in Switzerland, *Chemosphere.*, 53 (2), 129-136, 2003.
- [26] Le-Barillec K., Durand B., Dufour B., Fraisse D., Dufour S., Duhem K. Levels of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in raw cow's milk collected in France in 2006, *Chemosphere.*, 70 (4), 689-693, 2008.
- [27] Çiftçi O. Elazığ ve Çevresinde Tüketilen Tereyağlarında, Dioksin ve Benzeri Bileşik Düzeylerinin Araştırılması, *F.U. Sağlık Bilimleri Dergisi.*, 22 (5), 289-292, 2008.
- [28] Tsutsumi T., Yanagi T., Nakamura M., Kono Y., Uchibe H., Lida T., Hori T., Nakagawa R., Tobiishi K., Sasaki K., Toyoda M. Update of daily intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs from food in Japan, *Chemosphere.*, 45 (8), 1129-113, 2001.
- [29] Baeyens W., Leermakers M., Elskens M., Van Larebeke N., De Bont R., Vanderperren H., Fontaine A., Degroodt J.M., Goeyens L., Hanot V., Windal I. PCBs and PCDD/Fs in fish and fish products and their impact on the human body burden in Belgium, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 52 (4), 563-571, 2007.
- [30] Cakiroglu G.C., Ucar Y., Oymael B., Bozkurt E.N., Kilic D. PCDD/F, dl-PCB and Indicator PCBs in Whiting, Horse Mackerel and Anchovy in Black Sea in Turkey, *Turk. J. Fish Aquat Sci.*, 10 (3), 357-362, 2010.
- [31] Schecter A., Startin J., Wright C., Kelly M., Pöpke O., Lis A., Ball M., Olson J.R.. Congener-specific levels of dioxins and dibenzofurans in U.S. food and estimated daily dioxin toxic equivalent intake, *Environ. Health Perspect.*, 102 (11), 962-926, 1994.
- [32] Fürst P., Fürst C., Groebel W. Levels of PCDDs and PCDFs in food-stuffs from the Federal Republic of Germany, *Chemosphere.*, 20 (7-9), 787-789, 1990.
- [33] Fürst P., Fürst C., Wilmers K. Body burden with PCDD and PCDF from food. In M.A. Gallo, R.J. Scheuplein, K.A. Van Der Heijden (Eds): Biological basis for risk assessment of dioxins and related compounds, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, pp. 133-169, 1991.
- [34] Theelen R.M., Liem A.K.D., Slob W., Wijnen J.H. Intake of 2,3,7,8-chlorine substituted dioxins, furans and planar PCBs from food in The Netherlands: median distribution, *Chemosphere.*, 27 (9), 1625-1635, 1993.
- [35] Tanyıldızı S., Çiftçi O., 2010. The Determination of Dioxin and Dioxin-like Compound Levels in Beef and Chicken Meat Samples Consumed in Turkey, *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 16 (Suppl-A): 7-11.
- [36] De Vries M., Kwakkel R.P., Kijlstra A. Dioxins in organic eggs: a review, *NJAS-Wagen. J. Life Sc.*, 54 (2), 207-221, 2006.
- [37] Kijlstra A. The role of organic and free poultry production systems on the dioxin levels in eggs, 3rd SAFO Workshop, 16-18 Sept, Falenty University of Reading, Poland, pp. 83-90, 2004.
- [38] Kijlstra A., De Vries M., Kwakkel R.P. Dioxins in organic eggs: a review, *NJAS*, 54 (2), 207-221, 2006.
- [39] Zheng M.H., Wu J.J., Dong S.J., Liu G.R., Zhang B. Cooking Process: A New Source of Unintentionally Produced Dioxins?, *J. Agric. Food. Chem.*, 59 (10), 5444-5449, 2011.
- [40] Zabik M.E., Zabik M.J., Booren A.M., Daubenmire S., Pascall M.A., Welch R., Humphrey H. Pesticides and total polychlorinated biphenyls residues in raw and cooked walleye and white bass harvested from the great lakes, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54 (3), 396-402, 1995.
- [41] Armbruster G., Gall K.L., Gutenmann W.H., Lisk D.J. Effects of trimming and cooking by several methods on polychlorinated biphenyls (PCB) residues in blue fish, *J. Food Saf.*, 9 (4), 235-44, 1989.
- [42] Wang F., Rideout K. Impact of Home Preparation and Cooking Methods on Levels of Dioxin and Dioxin-Like Compounds in Foods. NCCEH, http://www.ncceh.ca/sites/default/files/Food_Prep_and_Dioxin_Oct_2010.pdf, Erişim tarihi: 10.08.2011.