



## Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

**Araştırma Makalesi (Research Article)**

Makale Doi: **10.17100/nevbiltek.828753**

Geliş Tarihi: 20-11-2020

Kabul Tarihi 30-05-2021



### **Boron Removal by Aluminum Modified Pumice and Aluminum Hydroxide from Boron Mine Wastewater-Full Factorial Experimental Design**

Mustafa KORKMAZ<sup>1,\*</sup>, Cengiz ÖZMETİN<sup>2</sup>, Elif ÖZMETİN<sup>3</sup>, Elif ÇALGAN<sup>4</sup>, Yeliz SÜZEN<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Balıkesir University, Engineering Faculty, Environmental Engineering Department, Balıkesir Turkey  
ORCID ID: 000-0001-8424-6339

<sup>2</sup>Balıkesir University, Engineering Faculty, Environmental Engineering Department, Balıkesir Turkey  
ORCID ID: 0000-0003-3962-9255

<sup>3</sup>Balıkesir University, Engineering Faculty, Environmental Engineering Department, Balıkesir Turkey  
ORCID ID: 0000-0002-3318-4083

<sup>4</sup>Balıkesir University, Engineering Faculty, Environmental Engineering Department, Balıkesir Turkey  
ORCID ID: 0000-0002-6794-1863

<sup>5</sup>Balıkesir University, Engineering Faculty, Environmental Engineering Department, Balıkesir Turkey  
ORCID ID: 0000-0003-4059-4643

#### **Abstract**

Boron removal by raw and aluminum modified pumice from Bigadiç colemanite mine wastewaters in Turkey were investigated. At Bigadiç mine, the colemanite ore is waited in water pools for swelling of attached clays (382 mg Boron/L) and then washed. The general wastewater of mine is stored in Çam Köy dam (608.1 mg Boron/L). The influence of pH (3-9), dilution ratio (1-10) and adsorbent dosage (1-05 g/50 mL) was studied for waiting pool wastewater. The maximum adsorption capacities of modified and raw pumice were calculated as 1.06 mg/g and 0.607 mg/g for waiting pool wastewater. In the experimental design for waiting pool wastewater, low and high parameter levels were pH (3 and 7), dilution fold (1 and 10) and adsorbent dosage (1 and 5 g/50 mL). According to confidence level ( $p<0.1$ ) ( $2^3$  factorial design), the statistically important sequence of factors for modified pumice were model constant, adsorbent amount, dilution, adsorbent amount-dilution ratio, pH-dilution ratio, pH, pH-adsorbent amount. The pseudo second order kinetic model described the boron adsorption. The isotherm data of study fitted to the Langmuir isotherm than Freundlich isotherm. As the adsorption capacity of aluminum modified pumice was not so high, the in-situ formed aluminum hydroxide was tested and provided about %75.35 boron removal from Çam Köy dam wastewater (608.1 mg Boron/L).

**Keywords:** Aluminum hydroxide, aluminum modified pumice, boron mine wastewater, factorial experimental design, pumice

### **Bor Madeni Atık Suyundan Alüminyum Hidroksit ve Alüminyum Modifiye Edilmiş Ponza ile Bor Giderimi-Tam Faktöriyel Deneysel Tasarım**

#### **Öz**

Türkiyedeki Bigadiç kolemanit madeni atıksuyundan bor giderimi ham ve alüminyumla modifiye edilmiş ponza minerali ile araştırılmıştır. Bigadiç madeninde kolemanit minerali yapışmış olan killerin şişmesi için havuzlarda bekletilmekte (382 mg Boron/L) ve yıkanmaktadır. Madenin genel atıksuyu Çam Köy barajında depolanmaktadır (608.1 mg Boron/L). pH (3-9), seyreltme oranı (1-10) ve adsorbent dozajı (1-5 g/ 50 mL) etkisi bekletme havuzu atıksuyu için çalışılmıştır. Bekletme havuzu atıksuyu için maksimum adsorpsiyon kapasiteleri modifiye edilmiş ve saf ponzalar için 1.06 mg/g and 0.607 mg/g olarak hesaplanmıştır. Deneysel tasarımda parametreler pH (3 ve 7), seyreltme oranı (1 ve 10) and adsorbent dozajı (1 ve 5 g/ 50 mL). Güvenilebilirlik katsayısına göre ( $p<0.1$ ) ( $2^3$  faktöriyel tasarım), istatistiksel olarak modifiye ponza için parameter sırası, model sabiti, adsorbent miktarı, seyreltme, adsorbent miktarı-seyreltme oranı, pH-seyreltme oranı, pH, pH-adsorbent miktarı olarak bulunmuştur. Yalancı ikinci merteye reaksiyon modeli bor adsorpsiyonunu açıklamıştır. İzoterm verileri Freundlich izoterminden daha çok Langmuir izotermine uymuştur. Alüminyum ponzanın

\* Sorumlu yazar: korkmazm@balikesir.edu.tr

kapasitesi çok fazla yüksek olmadığı için, yerinde üretilmiş alüminyum hidroksit test edilmiştir ve %75.35 oranında Çam Köy barajı atıksuyunda bor giderimi sağlamıştır (608.1 mg Boron/L).

**Anahtar Kelimeler:**Alüminyum hidroksit, alüminyum modifiye ponza, bor madeni atıksuyu, faktöriyel deneysel tasarım, ponza

## 1. Introduction

In the nature, boron originates from boron ores, geothermal springs, volcanoes and ocean waters [1]. Volcanoes are the main sources of formation of borate deposits. The pure boron element is a brown powder [2]. Boron only exists as metal-oxide compounds in the nature such as colemanite, ulexite, tincal, pandermite and kernite [3]. The biggest borate processing industries of the world are belonging to USA and Turkey. The industrially important boron chemicals are boric acid and borax. In Turkey and Europe, the boric acid is produced by the reaction of colemanite with sulphuric acid [4]. The colemanite deposits of Turkey are located in Bigadiç, Kırka, Kestelek and Emet regions [3]. In the Bigadiç mine and enrichment plant, the raw colemanite ore is excavated from open pits and refined from impurities like soil and clay by waiting in water and washing of ore. The wastewater from ore waiting pools contains about 382 mg/L boron [3]. The mixture of wastewaters from mine floor, mine waiting pools and ore washing is sent to Çam Köy wastewater dam (608.1 mg/L). The wastewater stored in Çam Köy wastewater dam threatens the underground water and surface water quality because acute toxicity of boron may cause various illnesses in human [1]. Cheap boron removal technologies should be developed for boron removal from industrial wastewaters. The methods such as adsorption, ion exchange, reverse osmosis, electrocoagulation, electrodialysis, solvent extraction are applied for boron removal from waters [4,5].

The pKa of boric acid is 9.22 and boron has complex solution chemistry. Borate ion types in the aqueous solutions have been identified as boric acid, monoborate, diborate, triborate, tetraborate and pentaborate ions at boric acid concentration of 0.4 M. The presence of polyborates in solutions increases above 0.025 M boron concentration and is related with concentration, pH and temperature [6]. The main boron types in colemanite waiting pool wastewater (382 mg/L and pH=8) and Çam Köy dam wastewater (pH=8.5 and 608.1 mg/L) are boric acid, monoborate and triborate [6].

The surface of pumice mineral is very suitable for modification and in the literature NaOH and HCl [7], iron nano particles [8], magnesium chloride (MgCl<sub>2</sub>) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) [9] were reported for pumice modification. Rao and coworkers studied the TiO<sub>2</sub> coated pumice as carrying media for removal of acid orange-7 and 3-NBSA dyes [10]. Mahvi and coworkers studied the fluoride uptake by pumice and the capacity was found to be 13.51 mg/g [11]. Helard and coworkers studied the nitrate adsorption on pumice in batch system from which the capacity was reported as 164.37 mg/g of nitrate uptake [12]. Öztürk and coworkers studied the cadmium adsorption by pumice and the optimum conditions were 7.01, 107.14 mg/L and 32.48°C for pH, concentration and temperature [13]. Turan and coworkers studied the arsenate adsorption by chitosan modified pumice and raw pumice displays arsenate adsorption below 20%, whereas chitosan modified pumice gives approximately 90% sorption [14]. Asgari and coworkers studied to evaluation of humic acid adsorption from solution by pumice modified with cationic surfactant [15]. Shokoohi and coworkers studied the phenol adsorption onto iron coated pumice giving optimum results as increasing the contact time, adsorbent dosage and decreasing pH and initial concentration [16]. But the raw and aluminum modified pumice mineral have not been used as adsorbent material for boron removal from solutions. Pumice had been formed after volcanic eruptions, and has low density and porous structure of which pores are not connected with each other. The experiments conducted between 0.125- and 8-mm pumice particle sizes gave up to the 0-1.2 mL/g pore volumes for 100-0.001 µm pore diameters [17]. The pumice is used as abrasive material in cleaning and polishing and as light construction material [18]. The total amount of world pumice deposits is sixteen billion tons and the reserves are hosting in ABD, Turkey, Italy, Greece, Spain, France, Yugoslavia and Germany [19].

The full factorial design of experiments can especially be applied when the values of parameters are determined before analysis because its experimental runs are limited for wide investigation. Therefore, in this study, the limit values of parameters were determined before full factorial analysis. The 2<sup>3</sup> full factorial design of experiments analyses data in a cube block and its estimation the response is limited in that cube block, that is, anyone can not estimated the any analysis result out of cube block. The response term is obtained experimental data. On the other hand, 2<sup>3</sup> full factorial desing of experiments provides low time consumption, effort and cost. By this method, the main and interaction effects of parameters on the response can be seen and evaluated. In this method, there is only one analysis which is the Anova analysis and this Anova analysis shows the regression model parameters and statistically confidence level of parameters. The regression model is formed from constant values belonging to sapatately each parameter and these model constant values are obtained after Anova analysis by Minitab 16.0 programme.

The aim of the study is to determine the feasibility of raw pumice and aluminum modified pumice for boron removal from colemanite mine wastewater and its ballast coagulation effect with aluminum hydroxide for removal of boron from mine wastewater. Ballast coagulation is the supported coagulation by a solid matter like a clay. In this study,

the influence of parameters such as pH, dilution ratio and adsorbent dosage on boron removal from colemanite mine pool wastewater by modified pumice and raw pumice was examined. The optimization of boron removal data for modified pumice was carried out by using 2<sup>3</sup> factorial design. Adsorption kinetics and diffusion models were tested for the use of modified pumice in boron removal from Çam Köy dam wastewater. The wastewater in the dam may permeate to ground and surface waters. The treatment of this wastewater is therefore necessary. The feasibility of application of pumice or modified pumice is a new approach for boron removal but in-situ formed aluminum hydroxide instead of pumice or aluminum modified pumice was found as more effective.

## 2. Material and methods

### 2.1. Raw and modified pumice adsorption experiments

In this study, two type wastewaters were used as colemanite waiting pool wastewater (382 mg/L boron) and Çam Köy dam wastewater (608.1 mg/L boron). The used pumice mineral was supplied from Nevşehir city in Turkey. The general characteristic XRF analysis results of Nevşehir pumice are given in Table 1 [20]. The pumice powder was grinded and sieved to 0-1.44 mm particle size fraction. Aluminum chloride dosage experiments for modification of pumice were carried out by applying 0.25, 0.5, 1, 2, 4 g/10 g pumice/50 mL pure water volume for 25 mg/L boron and the other parameters were pH=3, 30 °C, 150 rpm, 24 hours, 1 g modified pumice, 50 mL solution volume. The 1g AlCl<sub>3</sub>/10 g pumice/50 mL solution was determined as ideal value and it was used in further experiments. The modified pumice was produced as follows: An amount of 100 g pumice powder with 0-1.44 mm fraction was treated with 10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 mL distilled water during 24 hours at 200 rpm and room temperature. After treatment, modified pumice was filtered and dried at 103 °C during 24 hours. The pumice had about 0.0098 meq/g cation exchange capacity [21]. The pH of wastewater samples was adjusted to the desired values by diluted acid and base solutions and predetermined amount of raw pumice or modified pumice was added to wastewater samples. The prepared samples were treated by modified pumice or raw pumice for 24 hours in an incubator shaker at 150 rpm of agitation speed and 30 °C of temperature.

In the experiments on adsorption kinetics, the wastewater sample from Çam Köy wastewater dam which collects the all wastewaters of mine was used and had 608.1 mg/L of boron concentration. The kinetic studies were carried out at 500 mL of wastewater volume, 30 °C of temperature, 400 rpm stirring speed and 8.64 of pH value. The modified pumice is used as adsorbent and contact time was selected as 10, 20, 30 and 40 minutes. The equilibrium time was determined as 10 min for adsorption kinetic studies. The process was very rapid.

The treated samples were filtered or centrifuged at 5,000 rpm. Boron analysis in treated samples was done according to potentiometric method and procedure was as follows: A volume of 5 mL treated sample was transferred to 100 mL baker and 50 mL pure water was added and pH of the mixture was fixed to 7.6 and D-mannitol was added up to constant pH value and the mixture was titrated again to pH 7.6 with 0.02 N KOH. In titration, a glass burette was used. Boron concentration was calculated from base consumption. 1 mL 0.02 N KOH solution is equal to 0.6964 mg B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. The base solution needs to standardization before analysis daily. Boron concentration was calculated using following equation (Eq.1).

$$\text{Boron}(mg / L) = ((V_1 - V_2) \times 0.21627 \times 1000 \times SF) / V_3 \quad (1)$$

Where, V<sub>1</sub> is the volume of consumed base (mL), SF is standardization factor, V<sub>2</sub> is base consumption for pure water (about 0.2 mL), and V<sub>3</sub> is the volume of boron solution (mL). Boron adsorption capacity was calculated by using the following equation (Eq.2).

$$Q_e(mg / g) = ((C_0 \times V / 1000) - (C_e \times V / 1000)) / M \quad (2)$$

Where, Q<sub>e</sub> is the adsorption capacity (mg/g), C<sub>0</sub> is initial concentration (mg/L), C<sub>e</sub> is the equilibrium concentration (mg/L), m is the adsorbent amount (g) and V is the volume of boron solution (L). Adsorption capacity is the amount of binded boron quantity on pumice mineral and its high values are wanted.

To determine the effect of in-situ formed aluminum hydroxide and pumice-aluminum hydroxide binary system, the following experiments were applied. For this purpose, the conditions for single pumice:(10 g raw pumice, 617.4 mg/L Çam Köy dam wastewater, pH=8.64, 21 °C, 60 rpm, 250 mL wastewater volume), for pumice-aluminum hydroxide binary system:( 10 g raw pumice, 617.4 mg/L Çam Köy dam wastewater, pH=8, 21 °C, 60 rpm, 250 mL wastewater volume, 5 g Al(Cl)<sub>3</sub>), for single aluminum hydroxide system:(617.4 mg/L Çam Köy dam wastewater, pH=8, 21 °C, 60 rpm, 250 mL wastewater volume, 5 g Al(Cl)<sub>3</sub>). The aluminum chloride was added to the wastewater and then the pHs of the wastewaters were adjusted to desired value to produce the aluminum hydroxide flocs. The experiments were carried out in a Jar test device.

**Table 1.** The general characteristic XRF analysis results of Nevşehir pumice [20]

Element	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	CaO	Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	Others
Percentage (%)	72.0	12.75	1.30	0.2	0.70	3.90	4.30	4.28

## 2.2 Why 2<sup>3</sup> full factorial design

By Minitab 16.0 programme, there are response surface method, factorial design method and taguchi method which can be applied for data analysis. The response surface method has both cube block and axial data for analysis but its parameter points as well should be known before analysis, that is both cube corner parameters and parameters out of cube surface should be known. The taguchi method does not give numerical optimization opportunity and give estimation of positive or negative effect of parameter values. Therefore, if the limits of parameters were determined and there is no necessitate for wide space analysis, the 2<sup>3</sup> full factorial design is the most effective approach. The intervals of the factors used in optimization is given in Table 2.

**Table 2.** The intervals of the factors used in optimization

Parameter	Abbreviation	Low Level (1)	High Level (2)
pH	pH	3	7
Solid (g/50mL)	AD	1	5
Dilution (Fold)	DR	1	10

## 3. Results and discussion

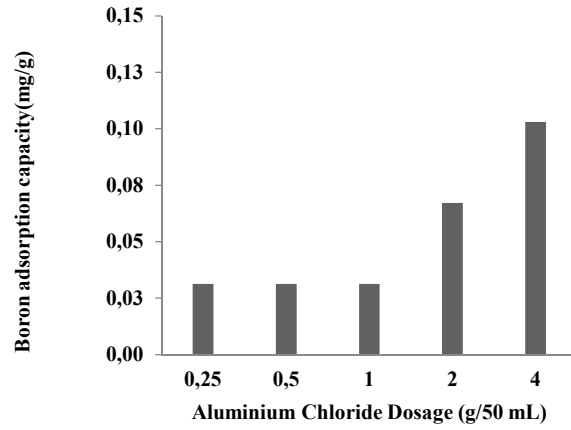
### 3.1 The effect of aluminum loading for synthetic solution

The boron removal experiments from borated pure water were carried out for 25 mg/L concentration. For this purpose, the effect of aluminum chloride dosage on raw pumice was studied for modification conditions of 0.25, 0.5, 1, 2, 4 g/10 g pumice/50 mL solution. The experimental conditions for boron adsorption were 25 mg/L boron, pH=3, 30 °C, 150 rpm, 24 hours, 1 g modified pumice and 50 mL boron solution volume. The results showed that boron removal was almost the same for increasing aluminum chloride on the raw pumice while a bit increase for increasing loading was observed. The results are given in Fig. 1A. The reason of this trend can be related with surface saturation of pumice for aluminum cations because pumice has low cation exchange capacity. The applied aluminum loading is highly above the cation exchange capacity of Nevşehir pumice. A bit increase in capacity for increasing aluminum loading on pumice shows the pores and surface of pumice mineral were saturated with aluminum.

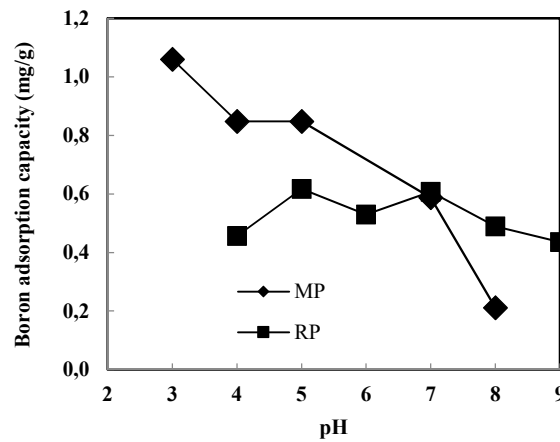
### 3.2. The effect of pH for mine pool wastewater

Because of the effect of pH on boron ion type in solutions, the determination of optimum pH is necessary. Therefore, boron removal from colemanite mine pool wastewater by raw pumice and modified pumice was studied at pH range of 3 and 9. The experimental parameters were 30 °C of temperature, 150 rpm of speed, 1 g of modified pumice or raw pumice, 50 mL solution, 24 hours, 100 g pumice/10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 mL. Optimum pH value for modified pumice was determined as 3. This tendency was thought to be related with the hydrogen ions acquired by the modified pumice surface. The boron type adsorbed onto the protonated modified pumice surface was boric acid due to pH value of below 7 at 382 mg/L concentration. The optimum pH of raw pumice was determined as 5. The results are given in Fig 1B. The decrease of adsorption capacity at high pHs for modified pumice and raw pumice was considered to be occurred due to competition of hydroxyl ions for boron adsorption. Boron adsorption yield of flay ash increased with decrease of solution pH to 2, probably due to increasing hydrogen bond of boric acid with flay ash surface [22]. The hydrogen accumulation on raw pumice did not strongly increased the boron adsorption (optimum pH=5), this result shows the binary effect of adsorbed aluminum cation and hydrogen ions on modified pumice. Therefore, it was considered that hydrated aluminum cation hydrogen interaction increased the adsorptive sites on pumice mineral and boron adsorption onto modified pumice increased.

(A)



(B)



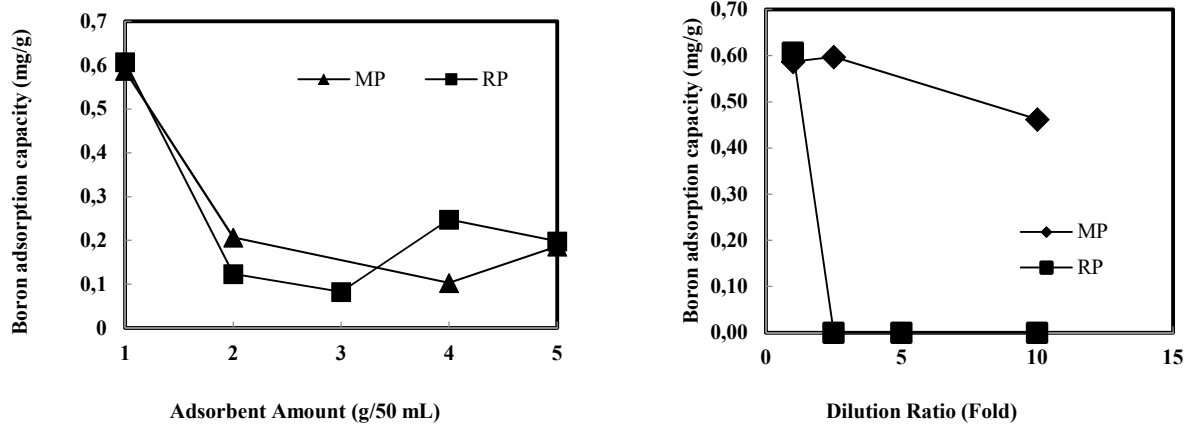
**Fig. 1 A-B.** **A** (Aluminum dosage effect, pH=3, 25 ppm boron, 30 °C, 150 rpm, 24 hours, 1 g modified pumice, 50 mL solution volume), **B** ( pH effect for colemanite mine waiting pool wastewater, MP:Modified pumice, RP:Raw pumice, 30 °C of temperature, 150 rpm of agitation speed, 1 g of modified pumice or raw pumice, 50 mL solution, 24 hours, modification condition 100 g pumice/10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 mL.).

### 3.3 The effect of adsorbent dosage for mine pool wastewater

Boron removal from colemanite mine pool wastewater was studied by modified pumice and raw pumice as a function of adsorbent dosage in the range of 1 and 5 g/50 mL. The experimental parameters were 7 of pH, 30 °C temperature and 150 rpm agitation speed, 50 mL solution, 24 hours, 100 g pumice/10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 ml. The optimum dosage which gave the maximum boron adsorption capacity from colemanite mine pool wastewater was determined as 1 g/50 mL for both of modified pumice and raw pumice. It was due to the high concentration gradient on the less amount of pumice. The results are given in Fig 2A. Similarlay, it was reported that low red mud amount increased the boron adsorption capacity [23]. Also, high boron concentration forced to boron molecules to entrance to porces of the pumice and modified pumice.

(A)

(B)



**Fig. 2. A** (Dosage effect for colemanite mine waiting pool wastewater (MP:Modified pumice, RP:Raw pumice, 7 of pH, 30 °C temperature and 150 rpm agitation speed, 50 mL solution, 24 hours, modification condition 100 g pumice/10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 mL.), **B** (Dilution effect for colemanite mine waiting pool wastewater, MP:Modified pumice, RP:Raw pumice, 30 °C temperature, 150 rpm agitation speed, 382 mg/L initial boron concentration and pH 7, 1 g modified pumice or raw pumice, 50 mL solution, 24 hours, modification condition 100 g pumice/10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 mL)

### 3.4 The effect of dilution ratio for mine pool wastewater

Boron removal from colemanite mine pool wastewater was studied at 0, 2.5, 5 and 10-fold dilution ratios. The experimental parameter values were 30 °C temperature, 150 rpm agitation speed, 382 mg/L initial boron concentration and pH 7, 50 mL solution, 24 hours, 100 g pumice/10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 mL. Boron adsorption capacity of modified pumice decreased with increasing dilution ratio. This was due to the decreasing driving force of the boric acid molecules between solution and surface. The boron adsorption capacity of raw pumice was zero above 2.5 fold for dilution ratio and this result was considered as to be related with decreasing driving force of concentration. The results are given in Fig 2B. Also, for raw pumice the triborate molecules may play role in binding because the triborate fractions in 382 mg/L concentration was about 5%.

### 3.5 Factorial design of experiments for mine pool wastewater by modified pumice

If the limits of the experimental design matrix are known, the experimental design reduces the number of experimental run and by this meanwhile the experimental cost reduces. In this study, modified pumice was used as adsorbent and the experimental parameters (pH, adsorbent dosage and dilution ratio) were designed by 2<sup>3</sup> factorial design using Minitab 16.0 programme. The factor intervals were 3-7 for pH, 1-5 g/50 mL for adsorbent dosage and 1-10 fold for dilution ratio, 24 hours interaction, 50 mL wastewater volume. The modification was 100 g pumice/10 g AlCl<sub>3</sub> in 500 mL pure water. Adsorption capacity was selected as response for the experimental design. The number of runs in the matrix was 8. The ANOVA analysis for investigation of importance of main and interaction effects of factors is done by taking into consideration of confidence levels (p). The confidence level is the indication of the significance of model constants. In general, the high value of t and small value of p show the statistically importance of model constant [3,24]. The developed statistical model was as follows (Eq. 3).

$$\text{Capacity (mg/g)} = 1.36152 - 0.0136816\text{pH} - 0.202974\text{AD} - 0.103993\text{DR} - 0.00030111\text{pHAD} + 0.00254231\text{pHDR} + 0.0142100\text{ADDR} \quad (3)$$

Here, solution pH, adsorbent dosage and dilution ratio are abbreviated as pH, (AD) and (DR), respectively. The model constants were obtained according to the uncoded factors. In calculation of adsorption capacities the coded values should be accepted i.e. pH must be 3 or 7, dilution 1 or 10, dosage 1 or 5.

The regression model given above is used to understand of change of responses under various experimental conditions. Experimental matrix for boron removal from colemanite mine waiting pool wastewater is given in Table 3 and the analysis of ANOVA is given at Table 4. The confidence level for ANOVA analysis was assumed as 90%. According to confidence level, the statistically important sequence of factors for modified pumice were model constant > AD > DR > AD-DR > pH-DR > pH > pH-AD. The cube plot was given in Fig 3A. The cube graph showed that the boron adsorption capacity from mine pool wastewater increased by decreasing pH, AD and DR. Contour plots for capacity are given in Fig 3B. Pareto chart for capacity is given in Fig 3C and the statistically important factors are only AD, DR.

The corner of the cube plots shows the adsorption capacities of pumice for boron and the parameter levels of full factorial analysis are given in cube plot. For instance, when pH changed from 3 to 7, the boron adsorption capacity of pumice was changed from 1.05973 to 0.96339 mg/g. The axis of counter plots shows the parameters i.e. dilution \* pH

shows the dilution ratio at y axis and pH at x axis, respectively. The color of counter graph shows the boron adsorption capacities of pumice at different conditions. The pareto chart of statistically analysis indicates to statistically important factors which pass to right side of vertical line. The standardized effects are t-statistics that test the null hypothesis that effect is 0. A null hypothesis is a type of conjecture used in statistics that proposes that there is no difference between certain characteristics of data generating process. That is, the left side of vertical line shows statistically unimportant parameters, the right side of vertical line shows statistically important parameters.

**Table 3.** Experimental matrix for boron removal from colemanite mine waiting pool wastewater

Trial	pH	Solid (AD)	Dilution (DR)	Capacity (mg/g)
1	3	1	1	1.05973
2	3	1	10	0.26975
3	3	5	1	0.25048
4	3	5	10	0.07322
5	7	1	1	0.96339
6	7	1	10	0.36609
7	7	5	10	0.06358
8	7	5	1	0.25048

1 Fold dilution:(382 mg/L)/1; 10 Fold dilution: (382 mg/L)/10

**Table 4.** Analysis of ANOVA is given at Table 4.

Term	Coefficient for coded parameters	T-value	p
<b>Constant</b>	0.4121	16.30	0.039
<b>pH</b>	-0.0012	-0.05	0.970
<b>Solid (AD)</b>	-0.2526	-9.99	0.064
<b>Dilution (DR)</b>	-0.2189	-8.66	0.073
<b>pH-Solid (AD)</b>	-0.0012	-0.05	0.970
<b>pH-Dilution (DR)</b>	0.0229	0.90	0.532
<b>Solid (AD)-Dilution (DR)</b>	0.1279	5.06	0.124

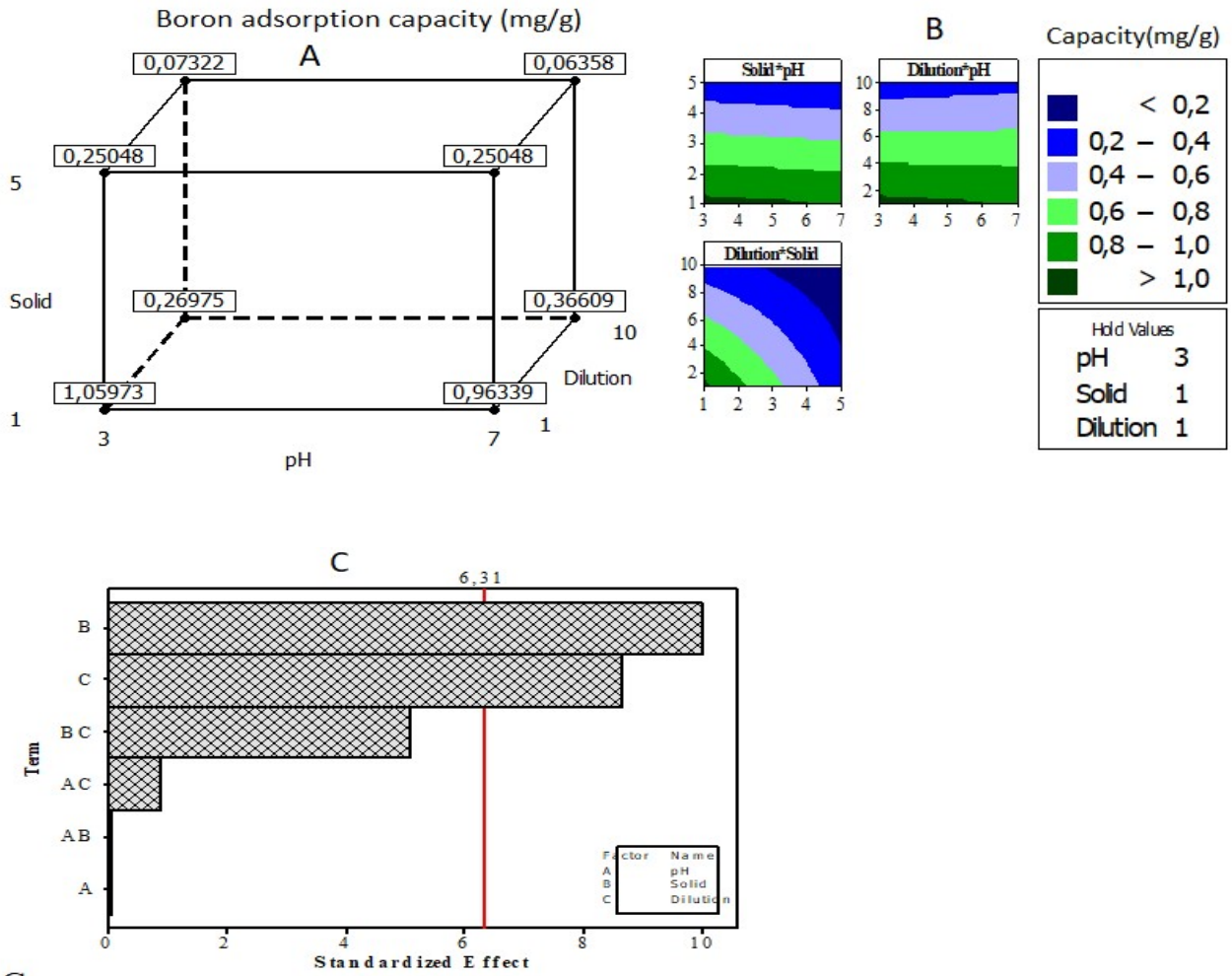


Fig. 3. A(Cube plot), B(Contour plots), C (Pareto chard).

3.6. Kinetic analysis for Çam Köy Dam wastewater

The kinetic models are generally used for design and appropriate operation of batch reactors. The kinetic and diffusion models give also information about removal mechanism such as rate controlling step (film layer diffusion, pore diffusion or ash layer diffusion). In this study, the pseudo-first order and pseudo-second order kinetic models were applied to adsorption data and are given as follows.

Lagergren first order kinetic model is given as follow (Eq. 6) [25].

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \tag{4}$$

The pseudo second order kinetic model is given as follow (Eq. 7) [26].

$$t / q_t = \left( 1 / k_2 q_e^2 \right) + (t / q_e) \tag{5}$$

where  $k_1$ , pseudo first order model rate (1/min).  $k_2$ , pseudo second order model rate (g/mg min).  $q_e$  is the adsorbed capacity at equilibrium (mg/g).  $q_t$  is the adsorbed capacity at time  $t$  (mg/g). The coefficient of determination value near to 1 indicates the fitness.

The adsorption of boron on modified pumice including the diffusion of boron like liquid film, pore resistance and surface reactions, three limitations for removal can be suggested as follows [27].

A fractional approach to the equilibrium (Eq. 6):



$$F = [(Co - Ct) / (Co - Ce)] \tag{6}$$

If film-diffusion controlled process is dominant (Eq. 7):

$$\ln(1 - F) = -k_f t \tag{7}$$

If particle-diffusion controlled process is dominant (Eq. 8):

$$\ln(1 - F^2) = -k_p t \tag{8}$$

If moving boundary process (ash layer diffusion model) is dominant (Eq. 9):

$$3 - 3(1 - F)^{2/3} - 2F = k_m t \tag{9}$$

Where, F is the fractional approach to the equilibrium.  $k_f$  is the film diffusion rate constant.  $k_p$  is the particle diffusion rate constant.  $k_m$  is the moving boundary process rate constant.

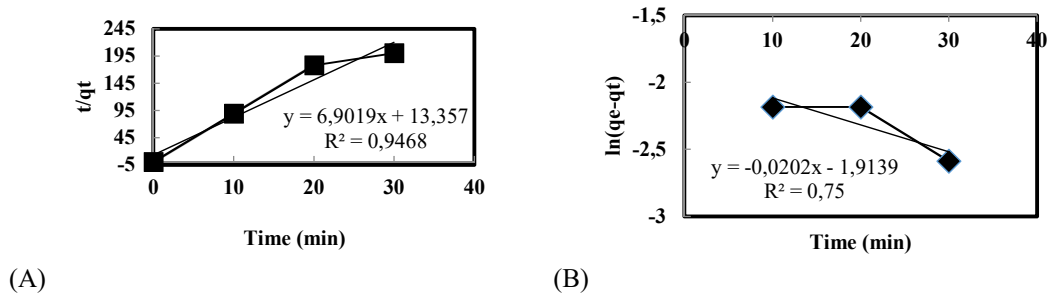


Fig. 4 A-B: A (Pseudo second order kinetic plot) B (Pseudo-first order model) (500 mL of Çam Köy Dam wastewater volume, 30 °C of temperature, 400 rpm stirring speed and 8.64 of pH value, 60.18 gram modified pumice, 10, 20, 30 and 40 minutes)

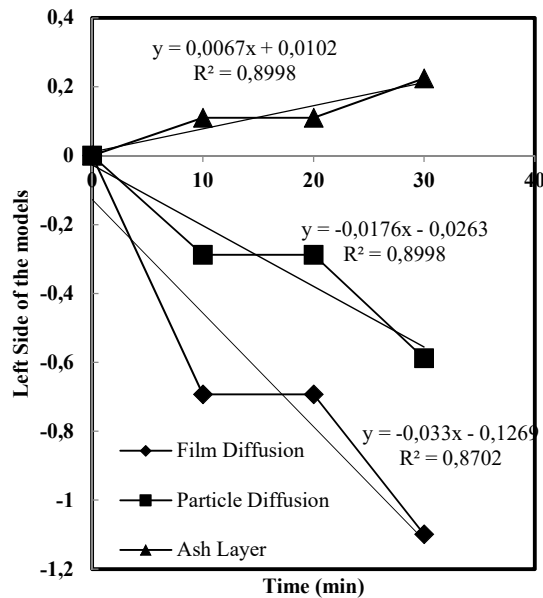


Fig. 5 (Diffusion models 500 mL of Çam Köy Dam wastewater volume, 30 °C of temperature, 400 rpm stirring speed and 8.64 of pH value, 60.18-gram modified pumice, 10, 20, 30 and 40 minutes)

Only modified pumice was used for kinetic analysis. The kinetic analysis results are given in Figure 4A-B and the data could be described by pseudo second order kinetic model ( $R^2=0.946$ ) and pseudo first order model had  $R^2=0.75$  value. Also, the more resistant mechanisms are pore diffusion and ash layer models. Diffusion mechanism analysis for boron adsorption is given in Figure 5. The fitness of boron adsorption data to the pseudo second order model indicated to concentration controlled process. The pseudo second order model is very useful model for description of adsorption data.

The rate constants of pseudo first order model and pseudo second order model are calculated as  $0.0202 \text{ min}^{-1}$  and  $25.85 \text{ g/mg min}$ . The pseudo first order kinetic model plots are generally show digit lines and indicates different adsorption rate constants. In the analysis of pseudo first order model, whereas, an average rate constant is calculated. However, the pseudo second order kinetic model plots show a straight line for analysis and is therefore more suitable for analysis. As described above, the rate controlling mechanism in boron adsorption onto pumice was pore diffusion and ash layer model. This shows that the pores of pumice blocked by aluminum cation and boron molecules.

### 3.7 Isotherm analysis

The isotherm models are useful equations that used for gaining information about the surface of adsorbent and mechanism of adsorption. Also, adsorption isotherms are used to design of batch adsorption data. The widely used isotherm models are Langmuir and Freundlich models. The Langmuir isotherm is generally characterized by monolayer adsorption of pollutants and it is given as follows [3]:

$$C_e / q_e = 1 / q_m k_L + C_e / q_m \quad (10)$$

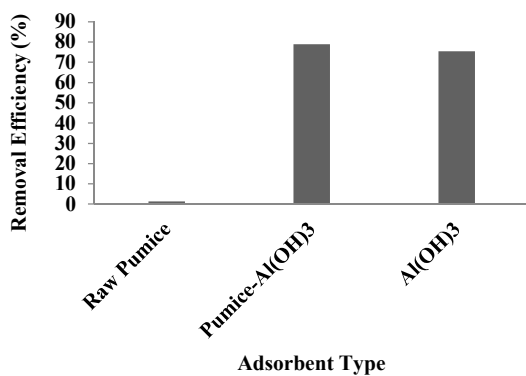
Where,  $C_e$  is the equilibrium concentration in liquid phase (mg/L).  $q_e$  is the maximum amount of the boron adsorbed (mg/g).  $q_m$  is  $q_e$  for a complete monolayer (mg/g).  $k_a$  is a sorption equilibrium constant (L/mg). The Freundlich isotherm generally describes the multilayer adsorption and it generally describes the physical adsorption and the model is as follows [3]:

$$\ln q_e = \ln k_F + (1/n) \ln C_e \quad (11)$$

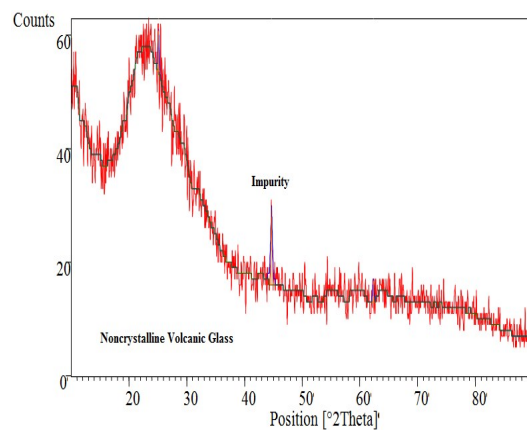
Where,  $C_e$  is the equilibrium concentration in liquid phase (mg/L).  $q_e$  is the maximum amount of boron adsorbed (mg/g).  $k_F$  is the Freundlich adsorption capacity.  $1/n$  is sorption equilibrium constant. The isotherm analysis showed that Langmuir isotherm fitted well to data than Freundlich model and this indicated to the chemical binding of boron. Also, surface energy distribution on the surface was homogeneous. The coefficient of determination values of analysis are  $R^2=0.999$  for Langmuir and  $R^2=0.841$  for Freundlich. Isotherm data belongs to Fig. 2B for modified pumice.

### 3.8 Boron adsorption from Çam Köy Dam wastewater onto pumice and $Al(OH)_3$

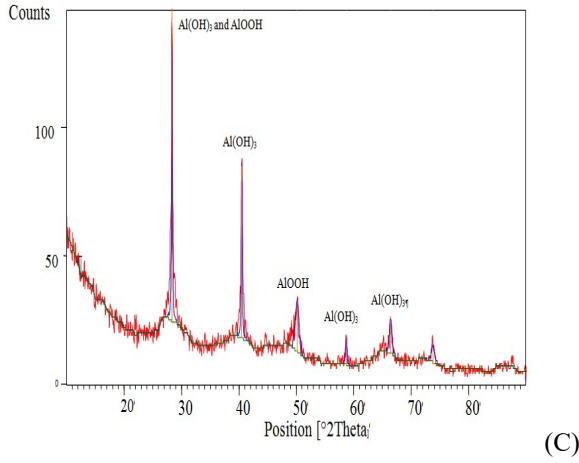
The results are given in Fig 6A. Although the raw or modified pumice powder do not have high capacity for completely boron removal from boron mine wastewaters, the usage of aluminum chloride for generation of aluminum hydroxide in reactor as adsorbent provided best result for boron removal from dam wastewater. The removal percentage was about 75.35% for aluminum hydroxide single system in treatment of dam wastewater. As a result, boron removal from colemanite mine wastewaters by pumice or modified pumice is not effective, the application of aluminum hydroxide with pumice or without pumice is very feasible. The XRD pattern of raw pumice, boron adsorbed aluminum hydroxide are given in Fig 6B-C and only  $Al(OH)_3$  and  $AlOOH$  formed as crystal structure and aluminum boron was not detected [28].



(A)



(B)



(C)

**Fig. 6A** (The effect of adsorbent type), B (XRD pattern of Nevşehir pumice), C (XRD pattern of boron adsorbed aluminum hydroxide, Initial temperature from 38 to 26.5 °C, 10 g AlCl<sub>3</sub>, 500 mL Çam Köy Dam wastewater, 1-hour interaction, 24 hours drying at 105 °C, pH=9) (The water temperature increased from room temperature to 38 °C by aluminum chloride addition).

#### 4. Conclusion

Boron removal from colemanite waiting pool wastewater by modified pumice and raw pumice was studied. Boron adsorption capacity onto modified pumice increased with decreasing pH, increasing concentration and decreasing dosage. Optimum parameters of modified pumice for pH, concentration and adsorbent dosage were determined as 3, 382 mg/L and 1 g/50 mL. Boron adsorption onto raw pumice from colemanite waiting pool wastewater increased at pH 5, adsorbent dosage 1 g/ 50 mL and concentration 382 mg/L. The importance sequence of parameters for modified pumice was as follows: AD, DR, pH-DR, pH, pH-AD, AD-DR. The maximum boron adsorption capacities of the modified pumice and raw pumice were calculated as 1.06 and 0.607 mg/g for colemanite mine waiting pool wastewater (382 mg/L). Kinetic data could be described with pseudo-second order model for Çam Köy dam wastewater. The ash layer and pore diffusion limitations controlled the boron adsorption. The application of pumice-Al(OH)<sub>3</sub> binary process or single Al(OH)<sub>3</sub> process is more effective than raw pumice or modified pumice. As a result, we aimed to determine the feasibility of raw and aluminum modified pumice for boron removal from mine wastewaters and also a ballast coagulation using modified pumice by aluminum hydroxide was tested, the polymerization effect of pumice for aluminum hydroxide is low or not and ineffective.

#### 5. Acknowledgement

This study was financially supported by Balıkesir University Scientific Research Projects Department.

#### 6. References

- [1] Korkmaz M., Özmetin C., and Fil B.A., "Modelling of boron removal from solutions using Purolite S 108 in a batch reactor", *Clean Soil Air Water*, 44, 949–958, (2016).
- [2] Bayar D., "Boron removal from aqueous solutions by adsorption and experimental design", Osmangazi University, Institute Science and Technology, Master Thesis, 135 pp., Eskişehir, Turkey, (2001).
- [3] Korkmaz M., Fil B.A., Özmetin C., Yaşar, Y., "Full factorial design of experiments for boron removal from Colemanite mine wastewater using Purolite S 108 resin", *Bulgarian Chemical Communication*, 46, 594–601, (2014).
- [4] Özmetin C., Aydın Ö., Kocakerim M.M., Korkmaz M., Özmetin E., "An empirical kinetic model for calcium removal from calcium impurity-containing saturated boric acid solution by ion exchange technology using Amberlite IR-120 resin", *Chemical Engineering Journal*, 148, 420–424, (2009).
- [5] Duman M.V., and Özmetin E., "Boron removal from wastewater originating in the open pit mines of Bigadic Boron Work by means of reverse osmosis", *International Journal of Global Warming*, 6, 252-269, (2014).

- [6] Na J.W., Lee K.J., “Characteristics of boron adsorption on strong-base anion-exchange resin”, *Annals of Nuclear Energy*, 20, 455–462, (1993).
- [7] Yousefi M., Arami S.M., Takallo H., Hosseini M., Radfard M., Soleimani H., Mohammadi, A.A., “Modification of pumice with HCl and NaOH enhancing its fluoride adsorption capacity: Kinetic and isotherm studies”, *Human and Ecological Risk Assessment*, 25, 1508–1520, (2019).
- [8] Shokoohi R., Zolghadrasab H., Azarian G., Mehdipous M., “Cadmium removal by using pumice modified with iron nanoparticles”, *Global NEST Journal*, 18, 426-436, (2016).
- [9] Sepehr M.N., Sivasankar V., Zarrabi M., Kumar M.S., “Surface modification of pumice enhancing its fluoride adsorption capacity: An insight into kinetic and thermodynamic studies”, *Chemical Engineering Journal*, 228, 192-204, (2013).
- [10] Rao K.V.S., Rachel A., Subrahmanyam M., Boule P., “Immobilization of TiO<sub>2</sub> on pumice stone for the photocatalytic degradation of dyes and dye industry pollutants”, *Applied Catalysis B: Environmental*, 46, 77–85, (2003).
- [11] Mahvi A.H., Heibati B., Mesdaghinia A.L., and Yari A.R., “Fluoride adsorption by pumice from aqueous solutions”, *E-Journal of Chemistry*, 9, 1843-1853, (2012).
- [12] Helard D., Indah S., Sari C.M., Mariesta H., “The adsorption and regeneration of natural pumice as low-cost adsorbent for nitrate removal from water”, *Journal of Geoscience, Engineering, Environment, and Technology*, 3, 86-93, (2018).
- [13] Öztürk D., Şahan T., Dişli E., Aktaş N., “Optimization with response surface methodology (RSM) of adsorption conditions of Cd(II) ions from aqueous solutions by pumice”, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 42, 183-192, (2014).
- [14] Turan D., Kocahakimoğlu C., Boyacı E., Sofuoğlu S.C., Eroğlu A.E., “Chitosan-immobilized pumice for the removal of As(V) from waters”, *Water Air Soil Pollution*, 225, 1931-1942, (2014).
- [15] Asgari G., Ebrahimi A., Mohammadi A.S., Ghanizadeh G., “The investigation of humic acid adsorption from aqueous solutions onto modified pumice with hexadecyl trimethyl ammonium bromide”, *International Journal of Environmental Health Engineering*, 1, 1-7, (2012),.
- [16] Shokoohi R., Torkshavand Z., Bajalan S., Zolghadrasab H., and Khodayari Z., “Efficient phenol removal from aqueous solution using iron-coated pumice and leca as an available adsorbents: evaluation of kinetics and isotherm studies”, *Global NEST Journal*, 21, 91-97, (2019).
- [17] Ersoy B., Sariisik A., Dikmen S., Sariisik G., “Characterization of acidic pumice and determination of its electrokinetic properties in water”, *Powder Technology*, 197, 129–135, (2010).
- [18] Farizoğlu B., Nuhuğlu A., Yıldız E., Keskinler B., “The performance of pumice as a filter bed material under rapid filtration conditions”, *Filtration Separation*, 40, 41-47, (2003).
- [19] Çiftçi E., *Earth Sciences Technical Terms Dictionary*, Hambe Offset, Niğde, Turkey, (2003).
- [20] Sapcı N., Gündüz L., Ulusoy M., “Karaman and vicinity pumice formation of lightweight concrete aggregate sector role and importance”, *5th Symposium on Industrial Raw Materials*, Izmir, Turkey, 138-148, (2004).
- [21] Tunç S., and Duman O., “Effects of electrolytes on the electrokinetic properties of pumice suspensions”, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 30, 548–555, (2009).
- [22] Öztürk N., and Kavak D., “Adsorption of boron from aqueous solutions using fly ash: Batch and column studies”, *Journal of Hazardous Materials*, 127, 81–88, (2005).
- [23] Cengeloglu Y., Tor A., Arslan G., Ersoz M., Gezgin S., “Removal of boron from aqueous solution by using neutralized red mud”, *Journal of Hazardous Materials*, 142, 412-417, (2007).

- [24] Kavak D., "Removal of boron from aqueous solutions by batch adsorption on calcined alunite using experimental design", *Journal of Hazardous Materials*, 163, 308-314, (2009).
- [25] Lagergren S., "Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe", *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 24, 1-39, (1898).
- [26] Ho Y.S., "Adsorption of heavy metals from waste streams by peat,"University of Birmingham, Ph.D. Thesis, 356 pp., Birmingham UK, (1995).
- [27] Alguacil F.J., Alonso M., Lozano L.J., "Chromium (III) recovery from waste acid solution by ion exchange processing using Amberlite IR-120 resin: batch and continuous ion exchange modelling",*Chemosphere*, 57, 789-793, (2004).
- [28] Kartikaningsih D., Shih Y.J., Huang Y.H., "Boron removal from boric acid wastewater by electrocoagulation using aluminum as sacrificial anode", *Sustainable Environmental Research*,26, 150-155, (2016).



## Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

*Araştırma Makalesi (Research Article)*

Makale Doi: [10.17100/nevbiltek.840365](https://doi.org/10.17100/nevbiltek.840365)

Geliş Tarihi:14-12-2020

Kabul Tarihi:12-01-2021



### Dağıtık Üretim Kaynaklarına Sahip Bir Mikro Şebekeye Rüzgâr Enerji Kaynaklarının Optimum Yerleşimi ve Kararlılık Analizi<sup>A</sup>

Merve KARLİTEPE ÇETİNKAYA\*

<sup>1</sup>Hasçelik Kablo San. Tic. A.Ş., Ar-Ge Merkezi,, Kayseri  
ORCID ID: 0000-0003-4306-6248

#### Öz

Yenilenebilir enerji kaynaklarının şebekelere entegrasyonu sırasında oluşabilecek gerilim dalgalanmalarının kontrolü, şebekeye bağlı olan yüklerin artması ile zorlaşmaktadır. Enerji kalitesinde kararlılığın sağlanması ve tüketicilerin zor durumda kalmaması için şebekelerin sürekli olarak izlenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, dağıtık üretim kaynaklarının örnek bir mikro şebekeye entegrasyonu sonucunda elde edilecek faydalar ve sistemde meydana getirdikleri etkiler analiz edilmiştir. Çalışma kapsamında, Kayseri ilinin seçilmiş 12 ilçesinin iletim sistemi ele alınmıştır. Power World programında test edilmek üzere seçilen ilçelerin nüfuslarına göre enerji ihtiyaçları hesaplanarak şebeke oluşturulmuştur. Şebekeye entegre edilecek rüzgâr enerji santrallerinin en uygun hangi iki ilçede olacağını belirlemek için 5 farklı senaryo geliştirilmiştir. Tasarlanan sistem ilk olarak rüzgâr türbinleri olmadan çalıştırılmış ve sistemde ana generatörden talep edilen güç miktarı 545 MW olarak bulunmuştur. Ardından senaryolara göre rüzgâr türbinleri 5 farklı şekilde yerleştirilmiştir. Rüzgâr türbinlerinin şebekeye entegrasyonu sonucunda gerilim kararlılıklarındaki değişimler analiz edilmiştir. Diğer taraftan aktif ve reaktif güç miktarlarındaki değişimler de incelenmiştir. Sonuç olarak rüzgâr türbinlerinin entegrasyonunun yapılacağı en iyi noktaların seçimi yapılmıştır. Rüzgâr türbinlerinin en verimli olduğu noktalara entegre edilmesinin sonucunda iletim hatlarında yaşanan kayıpların %38 oranında azaldığı tasarlanan model ve senaryolar ile tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Yenilenebilir enerji kaynakları; Rüzgâr türbinleri, Hat kayıpları; Gerilim kararlılığı, Dağıtık üretim.

### Optimum Placement and Stability Analysis of Wind Energy Resources in A Microgrid With Distributed Generation Resources

#### Abstract

Control of voltage fluctuations that may occur during the integration of renewable energy sources into the network becomes more difficult with the increase of loads connected to the network. In order to avoid changes in energy quality and to keep customers in a difficult situation, networks should be constantly monitored. In this study, the benefits to be obtained as a result of integrating distributed production resources into microgrid networks and their effects on the system are analyzed. Within the scope of the study, the transmission system of selected 12 districts of Kayseri province is discussed. In order to be tested in the Power World software, microgrid network is designed with real values and district names are chosen as a representative. In the implemented analysis, five different scenarios have been developed to determine two districts those will be the most suitable places to integrate the wind power plants into the grid. The designed system has been first operated without wind turbines. The amount of power per main generator has been found to be 545 MW in the system operated without wind turbines. Then, wind turbines are installed in five different ways according to the scenarios. As a result of the integration of wind turbines to the microgrid network, changes in voltage stabilities have been analyzed. On the other hand, changes in the amount of active and reactive power have also been examined. As a result, it is researched to detect the best location for integration of wind turbines. In addition, it is determined that the losses in transmission lines decreased by 38% as the proposed model and scenarios.

**Keywords:** Renewable Energy Sources; Wind turbines; Line losses; Voltage stability; Distributed generation.

\* Sorumlu yazar: [mkarlitepe@hascelik.com.tr](mailto:mkarlitepe@hascelik.com.tr)

<sup>A</sup> Bu makale yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

## 1. Giriş

Son zamanların araştırma konularından olan yenilenebilir dağıtık enerji kaynaklarının şebekeye entegrasyonu, oldukça önem arz eden bir konu olmaya devam etmektedir. Gerek enerji güvenliği gerekse doğaya ve çevreye karşı duyarlılık açısından yenilenebilir enerji kaynaklarının değerlendirilmesi gereken büyük bir potansiyeli bulunmaktadır. Diğer taraftan yenilenebilir enerji kaynaklarının maliyet düşürücü etkilerinin oldukça fazla olması, çoğu ülkenin bu tür enerji kaynaklarına yönelimini arttırmıştır.

Haque [1], iletim sistemlerine artık daha fazla rüzgâr türbinlerinin entegre edildiğini ifade etmiş ve eklenen yenilenebilir enerji kaynaklarının (YEK) sistemin gerilim profili ile hat kayıplarını önemli ölçüde değiştirdiğini göstermiştir. Diğer taraftan Guerriche ve Bouktir [2], dağıtım sistemlerinin güvenilir bir şekilde çalışması için statik ve dinamik bir şekilde modellenmesi gerektiğini savunmuş, 33-Baralılık radyal dağıtım sistemi üzerinde yenilenebilir enerji kaynakları ile denemeler yapmıştır. Bu çalışmanın esas amaçlarından olan iletim hattı kayıplarının azaltılması kapsamında ise Shrivastava vd. [3], gerilim salınımlarını iyileştirmek ve iletim hattı kayıplarını en aza indirmek için dağıtım sistemi güç planlamasını 33-Baralılık sistem üzerinden değerlendirmişlerdir. Dharageshwari ve Nayanatara [4], güç kayıplarını ve gerilim profillerini iyileştirme kapsamında 33-Baralılık Radyal Dağıtım sistemlerine birden fazla yenilenebilir enerji kaynağı entegre ederek, sistemde oluşan sonuçları analiz etmiştir. Wazir ve Arbab [5], yine aynı şekilde sistem kalitesini iyileştirmek, enerji kayıplarını azaltmak ve gerilim profillerini geliştirmek adına çalışmalar yapmıştır. Majidi [6], çalışmasında dağıtık enerji kaynaklarının şebekelere bağlanması ile güç kayıplarının azaltılması ve gerilim profillerinin düzeltilmesi üzerine durmuş, bu kazanımlar kapsamında sisteme entegre edilecek yenilenebilir enerji kaynakları için uygun noktaların belirlenmesi gerektiğini belirtmiştir. Parasher [7], radyal dağıtım şebekelerinde yük akış analizi ile ilgili çalışmalar yapmış ve verimliliğin artırılmasına yönelik uğraşlar vermiştir. Akdeniz vd. [8], farklı yenilenebilir enerji santrallerini sırayla farklı noktalardan bağlayarak şebekenin enerji kalitesi üzerine çalışmalarda bulunmuşlardır. Benzer bir çalışma olarak İçel vd. [9], güç akış analizi üzerine ve alternatif enerji kaynaklarının iletim hatlarının yüklenme oranlarına etkisi üzerine çalışmalarda bulunmuşlardır. Bu çalışmaların bir diğer ortak noktası ise geliştirme ve analiz işlemlerinin “Power World” programı ile yapılmış olmasıdır.

Karaarslan [10], yaptığı çalışmada dağıtık üretim kaynakları ile hat kayıplarının azaltıldığına dikkat çekmiştir. Bu çalışmasını yaparken de dağıtık üretim kaynaklarını farklı noktalardan yerleştirerek gerilim profiline olan katkılarını incelemiştir. Karaarslan [10], yaptığı çalışması ile bu çalışmanın da temel amacı olan dağıtık üretim kaynaklarının hat kayıplarına karşı yaratmış olduğu güçlü etkiyi göstermiştir. Geidl [11], çalışmasında dağıtık kaynakların mevcut şebekelere entegre edilmesinin faydalarını belirtmiş fakat bunların yanında oluşabilecek teknik ve ekonomik sorunlardan da bahsetmiştir. Dağıtık üretim (DÜ) kaynaklarının şebekelere entegrasyonun olumsuz etkilerinin olabileceği aşikârdır fakat yenilenebilir enerji kaynaklarının artıları ve eksileri beraber düşünüldüğünde, faydalarının daha etkili olduğu bu çalışma ile gösterilmek istenmiştir. Yenilenebilir enerji kaynaklarından olan rüzgâr enerjisi üzerine Uyar vd. [12], rüzgâr türbinlerinde kullanılan generatörlerin avantaj ve dezavantajlarını belirten bir çalışma yapmıştır. Bununla birlikte rüzgâr türbinlerinin şebekelere entegre edilmesinin sonucunda olumlu sonuçlar alınabilmesi için rüzgâr türbinlerinin tipine göre uygun generatörlerin kullanılmasının gerekliliğinden bahsedilmiştir. Dulau vd. [13], dağıtık kaynakların güç sistemlerine etkisi üzerine çalışmışlardır. Bu çalışmalarında da yine gerilim değişimleri, yük kayıp miktarları ve güç kalitesi üzerine sonuçları tartışmışlardır. Yapılan tartışmalar sonucunda enerji güvenliğinin sağlanması ve güç kayıplarının azaltılması için yenilenebilir enerji kaynaklarının tercih edilebilir bir kaynak türü olduğu belirlenmiştir. Güç akış analizleri üzerine yapılan çalışmalarda incelendiğinde Uzal vd. [14], İzmir ili üzerinde güç akış analizi uygulaması yapmış ve bu uygulamada “Power World” programı ile “Matlab” programı çıktılarını karşılaştırmıştır.

Üretim santrallerinin olası bir devre dışı kalma durumunda ihtiyaç duyulan enerjinin bir kısmının rüzgâr türbinlerinin yardımıyla karşılanabileceği gösterilmiştir. Parihar ve Malik [15], 12-Baralılık ve 69-Baralılık sistemlerde yük

akış analizi üzerine çalışmışlardır. DÜ'ler ile güç kayıpları ve gerilim profilleri hakkında bulgular elde etmişlerdir. Diğer yandan Narayan ve Kumar [16], radyal dağıtım sistemlerine entegre edilen rüzgâr türbinleri ile elde edilen tasarruflar üzerine tartışmalar içeren makalelerini yayınlamışlardır. Bu makalede rüzgâr türbinlerinin şebekeye entegrasyonu sonrasında enerji kayıplarının maliyetlerinde ciddi azalmalar olduğu belirtilmiştir. Enerji kayıplarındaki azalma ile birlikte gerilim profillerindeki iyileşmeler de kanıtlanmıştır.

Yenilenebilir enerji kaynaklarının dağıtık üretim şebekelerine entegrasyonu sırasında ve sonrasında ciddi problemlerle karşılaşılması için entegrasyon işleminden önce yapılacak analizlerin çok detaylı bir şekilde incelenmesi gerekmektedir. Özellikle yenilenebilir enerji kaynaklarının günlük üretim kapasitelerinde değişikliklerin olması sebebiyle sistem bağlantısı yapılırken kullanılacak olan teknolojinin ve hesaplamaların çok iyi belirlenmesi gerekmektedir. Yenilenebilir enerji kaynaklarının maliyet konusunda sunduğu faydalar ve diğer olumlu etkilerinin yanında dikkat edilmesi gereken tarafları da bulunmaktadır. YEK'lerin kalitesi, enerjinin ne kadar kesintisiz olduğuna ve tüketicilerin enerjide meydana gelen değişikliklerden etkilenmemesine göre belirlenmektedir. Yapılan entegrasyon işlemleri sonucunda ortaya güvenilirliği az olan enerjinin çıkmasına izin verilmemelidir.

Yapılan literatür incelemelerinden elde edilen sonuç; hat kayıplarının ve maliyetlerin azaltılması için yenilenebilir enerji kaynaklarına ihtiyaç olduğudur. Ortaya çıkan ihtiyacın farklı bir şebeke tasarımı ile analiz edilmesi için bu çalışma yapılmıştır. Kayseri ili içerisinde yer alan ilçelerden 12'si seçilmiş ve ortaya bir şebeke tasarımı çıkarılmıştır. Bu ilçelerin seçiminde nüfus yoğunluğuna ve enerji taleplerine dair kriterler göz önünde bulundurulmuştur. Şebeke oluşturulurken ilçelerin gelecekte ulaşılacak potansiyel nüfusu ve bu nüfusun enerji ihtiyacı teorik olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmanın odak noktası, hat kayıplarının azaltılması için yenilenebilir enerji kaynaklarının entegre edileceği en uygun noktaların seçilmesidir. Bununla beraber, gerilim profillerindeki iyileşmeler de incelenmiştir. Ayrıca maliyet konusunda, yenilenebilir enerji kaynaklarının sağladığı avantajlar sayısal veriler ile gösterilmiştir. Bütün bu işlemler yapılırken şebekede meydana gelen anlık değişimlerin ve yaşanabilecek problemlerin değerlendirilebilmesi için Power World programı tercih edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile yenilenebilir enerji kaynaklarının entegrasyonu ile elde edilen başarımlar, tablolar ve grafiklerde sunulmuştur.

## 2. Materyal ve Metot

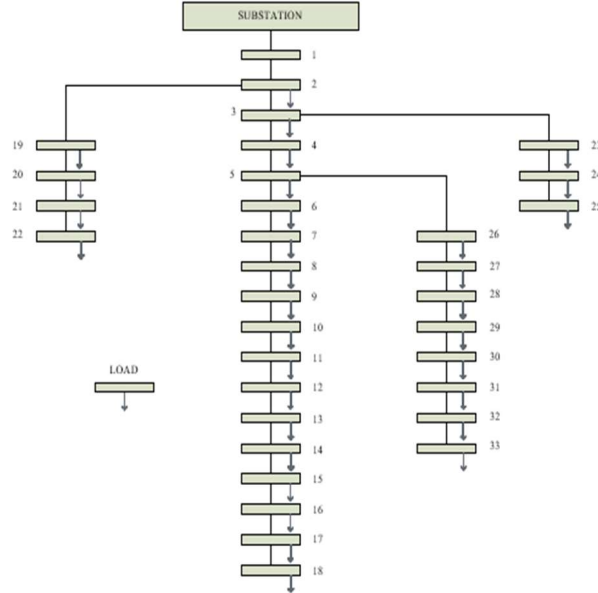
### 2.1. Dağıtım Şebekesi Modelleri ve Örnek Şebeke Tasarımı için Gerekli Veriler

Santrallerde üretilen elektrik enerjisinin tüketicilere ulaştırılması için kullanılan tesislere elektrik şebekesi adı verilmektedir. Bu şebekeler genel olarak dağıtım şebekesi ve iletim şebekesi olarak tanımlanmaktadır. Dağıtım şebekeleri yapılarına göre radyal, halka ya da ağ şebeke olarak gruplandırılmaktadır.

Radyal şebekeler, ana kontrolcü, kontrol sistemi, haberleşme sistemi ve dağıtım hattı olmak üzere dört önemli bölümden oluşmaktadır. Ana kontrolcü, şebeke parametrelerinin tanımlandığı ve tüketici aktivitelerinin kontrol edildiği yerdir. Kontrol sistemi, şebeke içerisinde yer alan diğer bir bölümdür ve verileri iletmek için değişim sistemi kullanmaktadır. Böylece çok katmanlı kontrole izin vermeyi amaçlamaktadır [17]. Radyal dağıtım şebekesi, koordinasyon ve tasarım için nispeten basit bir devre koruma şemasına sahiptir. Radyal ağ ile sistem bileşeni derecelendirme gereksinimlerini belirlemek oldukça kolaydır [18]. Radyal ağ ile çalışmanın bir diğer avantajı ise reaktif güçlerin dengelenmesi gibi gerilim dengeleme tekniklerinin kolayca uygulanabilmesidir. Eşit olmayan iletken uzunluklarının neden olduğu her yükte farklı gerilimler olmasına rağmen, iletken boyutunun dikkatli bir şekilde seçilmesi ile oluşabilecek bazı elektriksel sıkıntıları ortadan kaldıracak ve farklılıkları en aza indirebilecek kolaylığa sahiptir [19]. Radyal şebeke, en basit şebeke olarak bilinir çünkü yalnızca bir uçtan beslenmektedir. Aşağıdaki Şekil 1'de radyal şebekenin genel yapısına örnek gösterilmiştir. Radyal şebekenin başlangıç maliyeti diğer bir ifade ile yatırım maliyeti düşüktür ve

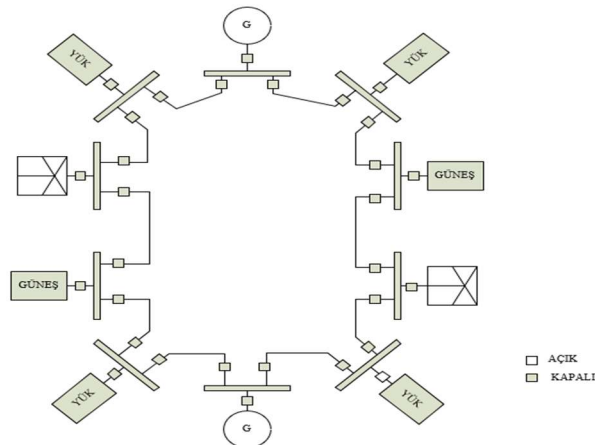


üretimi ise düşük gerilimlerde çok kullanışlıdır. Bu tip şebeke, sistemin analiz edilmesi ve çalıştırılmasında kolaylık sağladığı için istasyon yükün merkezinde bulunduğu zaman tercih edilmektedir [20].



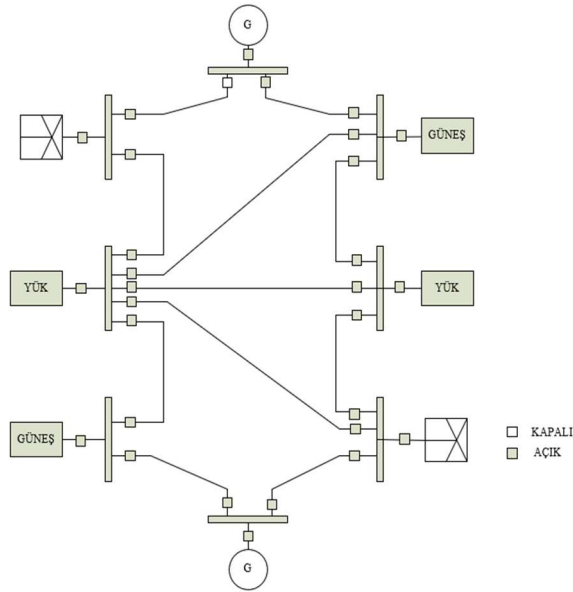
Şekil 1. Radyal şebeke

Diğer bir dağıtım şebekesi modeli olan halka şebeke, düğümleri birbirine birleştirilerek kapalı bir döngü oluşturduğundan en organize şebeke olarak bilinmektedir. Bu nedenle, halka şebeke içinde birkaç koruma bölgesi uygulanabilir. Koruma bölgeleri hem pozitif hem de negatif halka veri yoluna uygulanabilir. Halka şebeke yapısı radyal şebekeye göre daha iyi bir performans oranına sahiptir. Performans, şebekede bulunan ek aygıtlardan etkilenmemektedir. Bir besleyicinin arıza veya bakım altında olması durumunda ona bağlı diğer besleyiciler tarafından sisteme hala enerji verilebilir. [21]. Bu durum, bir besleyici çalışmazken bile tüketicilere verilen kaynağın bozulmadığını göstermektedir. Halka sistemindeki farklı bölümlerde herhangi bir arıza olması durumunda bölümleri izole etmek için farklı uygun noktalardan da arıza giderme işlemleri yapılabilir. Bu yapının en büyük dezavantajı, şebekenin diğer bileşenlerini ağa bağlayan kablolar oldukça bağımlı olmasıdır. Karmaşıklık açısından, bir döngü besleyici sistemi radyal bir sistemden biraz daha karmaşıktır. Ayrıca döngü sisteminin kapasitesini ve maliyetini karşılamada büyük bir dezavantaja sahiptir [20]. Şekil 2'de halka şebeke örneği verilmiştir.



Şekil 2. Halka şebeke

Elektrik şebekesi, radyal ve halka yapıları dışında ağ mimarisinde de organize edilebilir. Ağ yapısı genel olarak yüksek veya orta gerilim şebekelerinde kullanılmaktadır. Bu nedenle dağıtım sistemleri üç fazın dengelenmesini sağlar ve güç çıkışının momenti üç faz arasında eşit olarak yayılır. Böylece, daha tutarlı bir güç çıkışı elde edilir. Bir ağ şebeke, radyal şebeke yapısına benzemektedir ancak ana hatlara ek olarak kullanılmayan başka hatlar da içermektedir. Bu hatlar, ana hattaki arızalar sırasında gücü yeniden yönlendirmek amacıyla yedekleme olarak düzenlenmiştir. Halka ve radyal şebekelere kıyasla ağ şebeke, düğümler arasında birçok alternatif bağlantı içerdiğinden en karmaşık konfigürasyona sahip şebeke olarak bilinmektedir. Bu durum, şebekenin çalışmasını ve korunmasını önemli ölçüde zorlaştırmaktadır [22]. Ağ şebekelerin kullanım avantajlarının arasında ilk olarak dengeli gerilim profili ve yüksek güvenlik gelmektedir. Ayrıca ağ şebekeler daha yüksek bir kısa devre akım değerine sahip olmaktadır [23]. Aşağıda verilen Şekil 3'te ağ şebeke yapısına ait örnek bir diyagram verilmiştir.



Şekil 3. Ağ şebeke

## 2.2. Dağıtım Şebekesinin Temel Yapısı

Bir dağıtım şebekesi; üretim tesislerinden ekonomik olarak alabildiği kadar büyük gücü almalı ve bu aldığı gücü mümkün olduğunca fazla alana en az kayıpla iletmelidir. İletim hatlarının başında sahip olunan büyük gücün her bir kullanıcının ihtiyaç duyduğu gerilime düşürülüp dağıtılması önemli bir konudur. Güç, ilk olarak toplu bir şekilde taşınır ve dağıtım bölgelerine geldikçe yavaş yavaş düşük gerilim seviyelerine inmektedir. Son kullanıcıya kadar daha da küçük miktarlara düşürülerek dağıtımına devam edilir. Dağıtım şebekelerinde en çok tercih edilen dağıtım sistemi radyal şebekelerdir. Şebekeler, güç akışı için veri yolları hem iletim hem de dağıtım seviyesi için devre kesiciler ve ölçüm ekipmanları içeren kontrol evinden oluşmaktadır. Şebekelerde bulunan diğer önemli elemanlar ise transformatörlerdir. Genellikle şebekelerde birden fazla transformatör bulunmaktadır. Bu durum şebekelerde güvenliğin artmasını da sağlamaktadır [24].

## 2.3. Radyal Dağıtım Şebekesi

Birçok güç dağıtım sistemi radyal şebeke olarak tasarlanmıştır. Üretilen güç, trafo merkezinden uzaklaşarak tek bir yol boyunca iletilmektedir fakat bu iletim hattında bir kesinti olması halinde tüm kullanıcılar güç kaybı yaşamaktadır. Bu olumsuzluğa rağmen radyal şebeke, diğer şebeke türlerine oranla çok daha fazla tercih edilmektedir. Bunun sebebi ise diğer şebeke türlerinden çok daha az maliyetli olması ile planlama, tasarım ve operasyon konularında kolaylık sağlamasıdır. Radyal şebekelerde güç akış yönü değişmemektedir. Ayrıca yük ve güç olarak yönün belirlenmesi kolaydır.

Gerilim profili derin hesaplama yöntemleri kullanılmadan iyi bir doğruluk derecesi ile belirlenebilmektedir. Bununla birlikte ekipman kapasitesi gereklilikleri tam olarak tespit edilebilir. Koruyucu cihazlar, ağ analizi yöntemleri kullanılmadan kolay bir şekilde güvence altına alınabilir. Radyal dağıtım şebekeleri, olumsuz yönleri olmasına rağmen iyi bir şekilde tasarlanırlar ise yüksek düzeyde güvenilirlik sağlayabilir [24].

#### 2.4. Rüzgâr Türbinlerinin Şebekeye Entegrasyonu

Rüzgâr türbinlerinin entegrasyonu, güç sisteminin kararlılığını etkilemektedir. Gerilim kontrolü ile ilgili temel zorluk, minimum yük ve maksimum rüzgâr enerjisi üretimi ile maksimum yük ve sıfır rüzgâr enerjisi üretimine kadar tüm çalışma koşullarında kabul edilebilir kararlı durum gerilim seviyelerini ve gerilim profillerini korumaktır. Ana iletim şebekesi ile bölgesel dağıtım şebekesi arasındaki reaktif güç değişiminin kontrolü de diğer bir zorluk olarak göze çarpmaktadır. Rüzgâr santrallerinden elde edilen çıkış gücü birkaç saniye içinde önemli ölçüde değişebilmektedir ve buna bağlı olarak reaktif güç ihtiyacı artabilmektedir. Güç sistemi bu talebi karşılayamazsa bir gerilim kararsızlığı meydana gelecektir. Diğer taraftan rüzgâr enerjisi dalgalanan bir güç kaynağıdır. Enerji üretiminin önemli bir kısmının rüzgâr enerjisinden sağlandığı bir sistemde, gerilim değişimlerinin sistemin zarar görmesini engelleyecek şekilde düzenlenmesi rüzgâr enerjisindeki normal varyasyonlar sebebi ile zorluk haline gelmektedir [25].

#### 2.5. Örnek Şebekenin Modellenmesi

Her bir dağıtım şebekesinin tercih edilme sebepleri bulunmaktadır. Radyal şebekelerin tercih edilme sebeplerinin başında ise basit ve ucuz bir şebeke sistemi olması gelmektedir. Radyal şebeke ile çalışmanın diğer bir avantajı ise gerilim dengeleme çalışmalarının kolayca yapılabilmesidir. Fakat bu avantajların yanında dezavantajlarda bulunmaktadır. Bu dezavantajların başında şebeke içerisinde meydana gelen arızalardan dolayı aynı anda birçok kullanıcı bu arızadan ve kesintiden etkilenebilmektedir. Power World programında test çalışmalarının yapılabilmesi için yeni bir şebeke tasarımı yapılmıştır. Kayseri ilinin seçilen 12 ilçesi şebekeye dâhil edilmiştir. Bu şebekelerde gerekli olan yük ihtiyacı Eş. 1 ve Eş. 2'deki bağıntılar ile hesaplanmıştır [26]:

$$S = S_0 \cdot e^{mx} \quad (1)$$

$$m = \frac{1}{x} \times \ln\left(\frac{S}{S_0}\right) \quad (2)$$

Bu bağıntılarda;

- S: Hesaplanan yıla göre nüfus,
- S<sub>0</sub>: Geçmiş yıla ait nüfus,
- e: logaritma tabanı,
- x: iki sayım arasında bulunan yıl,
- m: iki sayım arasında meydana gelen nüfus artış oranıdır.

Tablo 1 ve Tablo 2'deki değerler hesaplanırken öncelikle Kayseri ilinin geçmiş tarihli nüfus sayımları alınmıştır. Ardından yapılan Eş. 1 ve Eş. 2'deki bağıntılar yardımı ile 2025 yılı nüfus tahminleri yapılmıştır. Ayrıca Elektrik Mühendisleri Odası'nın [26] yaptığı çalışmada yıllara göre kişi başına düşen yük ihtiyacı tahminlerinden yola çıkılarak regresyon analizi yapılmış ve bu analiz sonucunda verilerin %97'sinin regresyon doğrusu ile açıklanabileceği görülmüştür. Sonuç olarak 2025 yılı için ilçelerin aktif güç ihtiyaçları bulunmuştur. Diğer taraftan reaktif güç ihtiyaçları hesaplanırken faz açısı "cosφ" 90 olarak alınmış ve reaktif güç talepleri teorik olarak belirlenmiştir.

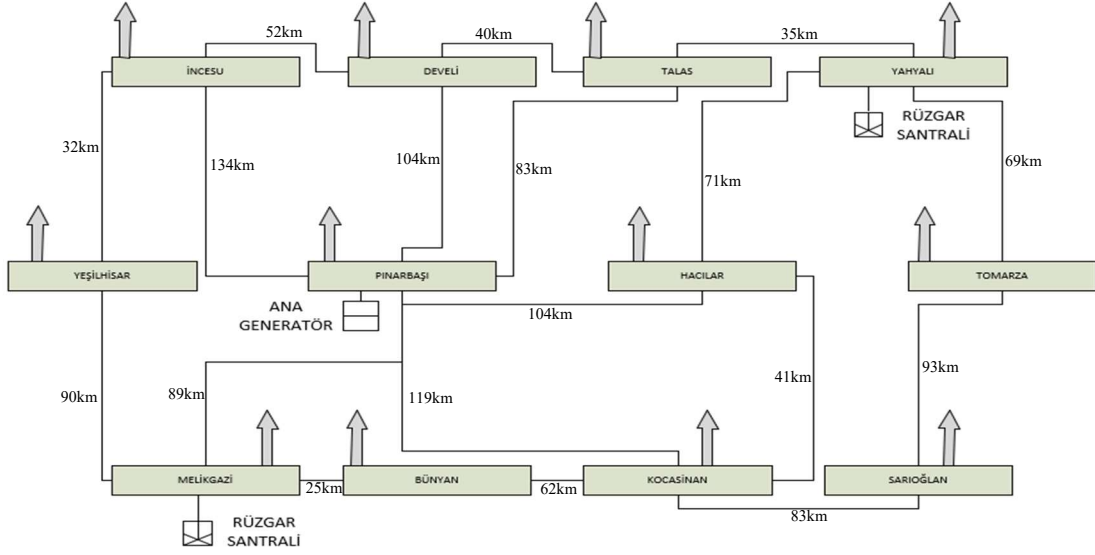
**Tablo 1.** 2025 yılı için nüfus tahminleri

İlçe/Yıl	2025
Melikgazi	669800
Kocasinan	411591
Talas	255894
Develi	64747
Yahyalı	35228
Bünyan	27280
Pınarbaşı	23353
Tomarza	19424
İncesu	31119
Yeşilhisar	16832
Sarıoğlan	15468
Hacılar	12824

**Tablo 2.** 2025 yılı için hesaplanan aktif ve reaktif güç

Yıl/İlçe	Aktif Güç(MW)	R.Güç (MVAR)
Melikgazi	201	59
Kocasinan	132,74	50
Talas	82,53	40
Develi	20,88	10
Yahyalı	11,36	6
Bünyan	8,8	4
Pınarbaşı	7,53	4
Tomarza	6,26	3
İncesu	10,04	5
Yeşilhisar	5,43	3
Sarıoğlan	4,99	2
Hacılar	4,14	2

Bu bilgiler ışığında tasarlanan radyal şebekenin iletim hatlarında “Cardinal” iletkeni kullanılmaktadır. Şebeke içerisinde yer alan yük değerleri çok yüksek olduğu için daha ince kesitli alüminyum iletkenlerin hat taşıma kapasiteleri yetersiz kalmıştır. “Cardinal” iletkeninin kesiti  $547 \text{ mm}^2$  iken “Hawk” iletkeninin kesiti  $281 \text{ mm}^2$  olarak hesaplanmaktadır. Tasarım sırasında sonuçları görmek adına “Hawk” iletkeni ile deneme yapılmış fakat hatlarda fazla yüklenme meydana gelmiştir. Diğer taraftan küçük kesitlerin kullanılması hatlarda gerilim düşümlerine neden olup şebekeye zarar vermektedir. Çok büyük kesitlerin kullanılması ise maliyetleri arttırmaktadır. Bu nedenle “Cardinal” iletkeni şebeke için en uygun iletken olarak belirlenmiştir. Böylece “Cardinal” iletkeninin direnç ve reaktans değerleri her iletim hattına tanımlanmıştır. Cardinal iletkeninin direnç ve reaktans değerleri sırası ile  $0,0597\Omega$  ve  $0,00567\Omega$ 'dur. Diğer taraftan “Hawk” iletkenin direnç değeri ise  $0,1194\Omega$ 'dur. Radyal şebekede 12 adet yük bulunmaktadır. Her ilçenin ihtiyaçları doğrultusunda bu yükler Power World programına tanıtılmıştır. Tasarlanan şebekede 12 bara, nominal gerilimleri 154 kV, kullanılmış ve şebekenin tüm ihtiyacı ana generatörden karşılanmaya çalışılmıştır. Radyal şebekede toplam 501 MW yük bulunmaktadır. Ayrıca hesaplanan reaktif güç toplamda 188 MVAR olarak belirlenmiştir. Modellenen şebekenin blok diyagramı Şekil 4'te gösterilmektedir.



Şekil 4. Tasarlanan sistemin blok diyagramı

### 3. Bulgular

#### 3.1. Şebekenin Modellenmesi ve Test Sistemi

Tasarlanan sistemde 12 adet bara bulunmaktadır. Bu baralardan bir tanesi tasarım içerisindeki konumu gereği (Pınarbaşı) “denge barası” olarak alınmıştır. Bununla birlikte 12 adet yük, bir adet ana generatör ve iletim hatları sisteme dahil edilmiştir. Tasarlanan şebekenin toplam kurulu gücü 501 MW’tır. Şebeke içerisinde sadece Pınarbaşı barasına bağlı olan termik santral bulunmaktadır. Tüm şebekenin enerji ihtiyacı bu generatörden karşılanmaktadır. Ardından rüzgâr türbinleri devreye alınarak şebekenin enerji ihtiyacı rüzgâr enerjisi ile desteklenmektedir. Şebekede rüzgâr türbinlerinin devreye alınmasından önce kısa devre akım değerine bakıldığında “faz-toprak” kısa devre akım hesabının maksimum değeri 840A olarak bulunmuştur. Diğer bir kısa devre akım değeri analiz yöntemi olan “faz-faz” hesabına göre maksimum değer 1826A olarak belirlenmiştir. Rüzgâr türbinleri devreye alındıktan sonra sistemin kısa devre analizi yapılırken “faz-toprak” hesabı dikkate alındığında ortaya çıkan maksimum değer 1794A’dır. Diğer taraftan “faz-faz” analiz yöntemine göre maksimum kısa devre akım değeri 2136A olarak bulunmaktadır.

Denge barası olarak isimlendirilen baranın sistem içindeki görevi; şebekede bulunan aktif ve reaktif güçlerin dengelenmesini sağlamaktır. Diğer baraların da sisteme dâhil edilme durumu aynı şekildedir. Şekil 5’te Pınarbaşı’na ait bara için verilerin girişi görülmektedir. Power World programı yüksek gerilimli sistemlerin çalışmasını simülasyon haline getiren ve son güncellemeleri ile 250000 bara kullanımına izin veren görsel bir sistemdir. Sistem çalışırken bile yüklere anında müdahale edilebilir ve değişimler anlık olarak görülebilir. İçinde barındırdığı görseller ve grafikler sayesinde çözüm noktası bulunması hakkında kullanıcılara yardımcı olmaktadır.

Yapılan tasarımda bulunan 12 adet yükün aktif ve reaktif güçleri, MW ve MVAR cinsinden Tablo 2’de verilmişti. Yük miktarları 2025 yılı için ilçelerde oluşabilecek ihtiyaçlara göre belirlenmiştir. Bu ihtiyaçlar ise 2025 yılı tahmini nüfus miktarları temel alınarak hazırlanmıştır. Yapılan yük girişlerine ve sistem tasarımına ait örnek bir ekran görüntüsü Şekil 6’da verilmektedir. Şekil 6’da yer alan Develi ilçesinin talebi olan 21 MW aktif güç ve 10 MVAR reaktif güç ihtiyacının modele tanımlanması yapılmıştır. Diğer ilçelerinin yük girişleri de Şekil 6’da görüldüğü gibi sisteme dâhil edilmiştir.

Şekil 5. Pınarbaşı denge barası veri girişi

Şekil 6. Develi ilçesinin yük girişinin yapılması

Şekil 7’de Pınarbaşı ile Melikgazi ilçeleri arasında yer alan iletim hattının özelliklerinin belirlendiği tasarımın ekran görüntüsü görülmektedir. Bu pencerede direnç(R) ve reaktans(X) değerleri ile “Cardinal” iletkeninin hat taşıma kapasitesi de bulunmaktadır.

Şekil 7. İletim hatlarının veri girişi

### 3.2. Şebekenin Çalıştırılması ve Sistem Çıktıları

Power World programa veri girişleri yapıldıktan sonra sistem çalıştırılmaya hazır hale gelmiştir. Sistemde ilk olarak;

- 1 ana generatör,
- 12 adet bara,
- 12 adet yük,
- 18 iletim hattı bulunmaktadır.

Program ilk olarak bu şekilde çalıştırılmıştır. Ardından senaryolarda belirtilen noktalara 50'şer MW gücünde rüzgâr türbinlerinin entegrasyonu sağlanıp sistem tekrar çalıştırılacaktır.

Şebeke içinde rüzgâr türbinleri olmadan çalıştırılması sonucunda iletim hatlarında yaşanan kayıpların oldukça fazla olduğu görülmüştür. Şebeke ilk olarak çalıştırıldığında iletim hatlarında yaşanan kayıp Tablo 3'te görüldüğü gibi toplamda 44,25 MW olarak hesaplanmıştır. Tablo 3 incelendiğinde yaşanan güç kayıplarının yoğunlaştığı iletim hatlarının Pınarbaşı-Melikgazi, Pınarbaşı-Kocasinan ve Pınarbaşı-Talas olduğu görülmektedir. Bu üç iletim hattındaki aktif güç kayıplarının, toplam aktif güç kaybının içindeki oranı %68,3 olarak bulunmuştur. Tablo 3'te görüldüğü gibi diğer iletim hatlarında da aktif ve reaktif güç kayıpları mevcuttur. Bu ciddi kayıpların rüzgâr türbinleri ile giderileceği yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Sistemin ilk defa çalıştırılmasının ardından iletim hatlarında yaşanan kayıplar

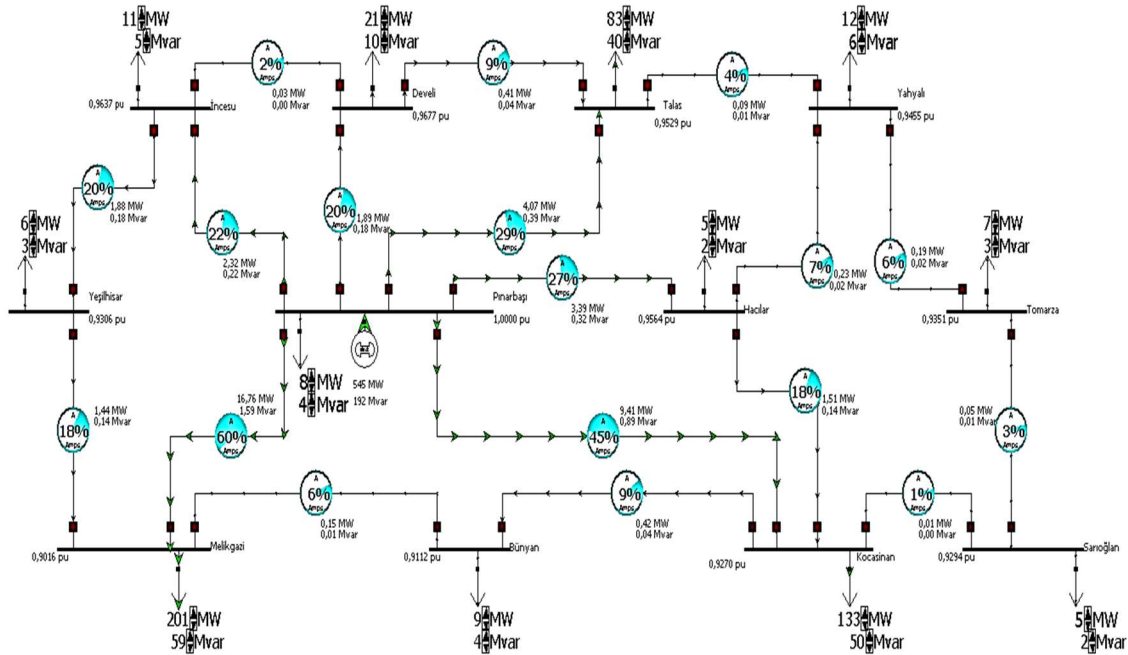
Nereden	Nereye	MW Kayıp	MVAR Kayıp
Bünyan	Kocasinan	0,42	0,04
Develi	Talas	0,41	0,04
Hacılar	Kocasinan	1,51	0,14
Hacılar	Yahyalı	0,23	0,02
İncesu	Develi	0,03	0
Kocasinan	Sarıoğlan	0,01	0
Melikgazi	Bünyan	0,15	0,01
Pınarbaşı	Develi	1,89	0,18
Pınarbaşı	Hacılar	3,39	0,32
Pınarbaşı	İncesu	2,32	0,22
Pınarbaşı	Kocasinan	9,41	0,89
Pınarbaşı	Melikgazi	16,76	1,59
Pınarbaşı	Talas	4,07	0,39
Talas	Yahyalı	0,09	0,01
Tomarza	Sarıoğlan	0,05	0,01
Yahyalı	Tomarza	0,19	0,02
Yeşilhisar	İncesu	1,88	0,18
Yeşilhisar	Melikgazi	1,44	0,14
<b>Toplam</b>		<b>44,25</b>	<b>4,2</b>

Enerjinin çok kıymetli ve masraflı olduğu bir ülkede 44,25 MW'lık bir kayıp ciddi anlamda hem sistemi hem de ekonomiyi zarara uğratmaktadır. Bu nedenle çalışmanın geriye kalan kısımlarında rüzgâr türbinlerine yani yenilenebilir enerji kaynaklarına odaklanılıp sistemin geliştirilmesine çalışılmıştır. Şekil 8'de tasarlanan sistemin ilk defa çalıştırıldıktan sonraki görünümü yer almaktadır. Rüzgâr enerji santrallerinin kurulumu için dikkat edilen ilk husus şebeke içindeki yüklerin, ana generatöre olan uzaklıklarıdır. Sadece Pınarbaşı ilçesinde bulunan ana generatör, tüm şebekenin güç talebini karşılamaya çalışmaktadır. İletim hatlarında yaşanan kayıpların sebeplerinden biri olan uzaklık etkeni göz önüne alındığında, ana generatöre en uzak konumda bulunan noktalara rüzgâr enerji santrallerinin kurulması ve şebekeye entegre edilmesi uygun görülmüştür. En uzak noktaların da kendi aralarında ikili seçimi yapılırken yine birbirlerine olan

mesafeleri dikkate alınmış ve sonuç olarak şebekeye entegre edilecek olan rüzgâr türbinlerinin yerleştirilecekleri 5 farklı ikili noktalar:

- İncesu-Sarıoğlan
- Develi-Kocasinan
- Talas-Bünyan
- Yahyalı-Melikgazi
- Yeşilhisar-Hacılar olarak belirlenmiştir.

Senaryolardan ilki olan İncesu – Sarıoğlan noktalarına yerleştirilen 50’şer MW’lık rüzgâr türbinleri sonrasında sistemdeki kayıplar ve ana generatörden talep edilen güç miktarları kaydedilmiştir. İncesu – Sarıoğlan noktalarında rüzgâr türbinlerinin devreye alınmasının ardından türbinler ikinci senaryo noktaları olan Develi – Kocasinan mevkilerine taşınmıştır.



Şekil 8. Şebekenin ilk defa çalıştırılması

Burada rüzgâr türbinlerinin etkisi analiz edildikten sonra sırayla Talas – Bünyan, Yahyalı – Melikgazi ve Yeşilhisar – Hacılar noktalarına taşınan rüzgâr türbinleri çalıştırıldıktan sonra sonuçları ayrı ayrı kaydedilmiştir. Elde edilen çıktıların toplu gösterimi Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4. Rüzgâr türbinlerinin eklenmesi ile iletim hatlarında yaşanan kayıplar

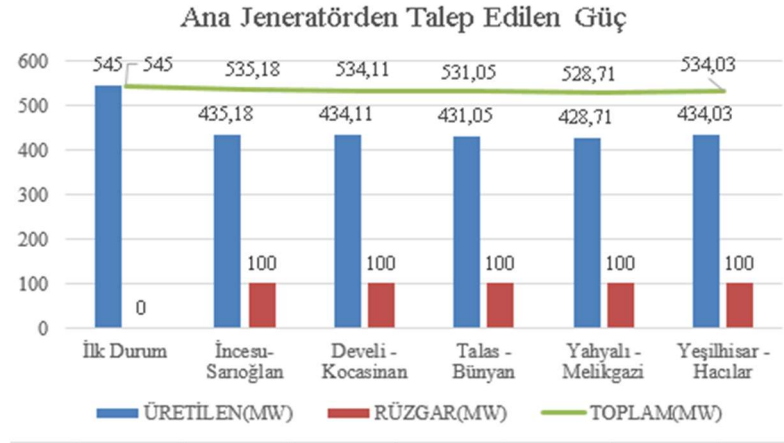
NOKTALAR	Kayıp (MW)	Kayıp (MVAR)
İlk Durum	44,25	4,2
İncesu – Sarıoğlan	34,2	3,2
Develi – Kocasinan	33,1	3,1
Talas – Bünyan	30,1	2,9
Yahyalı – Melikgazi	27,7	2,6
Yeşilhisar- Hacılar	33	3,1

Tablo 4’te görüldüğü gibi ilk durumda yaşanan kayıp 44,25 MW iken türbinlerin eklenmesi ile kayıplar ilk duruma göre sürekli olarak azalmıştır. Türbinler eklendikten sonra kendi aralarında kıyaslanması sonucu ise türbinlerin entegrasyonu için en uygun noktaların Yahyalı – Melikgazi noktaları olduğu anlaşılmaktadır. Yahyalı ve Melikgazi noktalarına 50’şer MW gücünde rüzgâr türbinlerinin entegrasyonu sonucunda iletim hatlarının yüklenme oranları



azalmıştır. Rüzgâr santralleri, seçilen iki farklı noktadan toplamda 100 MW gücü sisteme dâhil etmektedir. İletim hatlarındaki kullanım oranının düşmesi sayesinde yaşanan kayıplar da en aza inmiştir. Bu nokta da sistemin iletim hatlarındaki kayıpları 27,7 MW'a kadar düşmektedir.

Sistemdeki kayıpların ne kadar azaldığını “denge barası” ile bağlantılı generatörün ürettiği güce bakarak anlamak da mümkündür. Sistemde yaşanan kayıplardan dolayı generatör, ihtiyaçtan daha fazla güç üretmek zorunda kalmaktadır. Bu nedenle rüzgâr türbinleri eklendikten sonra ana generatörün üretimini en çok düşüren nokta rüzgâr türbinleri için en uygun yer olarak belirlenebilir. Buradan yola çıkılacak olursa ilk durumda generatörden talep edilen güç 545 MW iken rüzgâr türbinleri devreye alındığı zaman ana generatörden talep edilen güçte, rüzgâr türbinlerinin toplam MW gücünden daha fazla düşüş yaşanmaktadır. Yahyalı – Melikgazi noktası bu açıdan incelendiğinde ana generatörden talep edilen güç miktarı 428,71 MW olarak bulunmaktadır. Şekil 9’da ana generatörden talep edilen aktif güç miktarlarının, rüzgâr türbinlerinin eklendiği noktalara göre değişimi verilmiştir.



Şekil 9. Ana generatörden talep edilen MW miktarı

Ana generatörün yükünü oldukça etkin bir şekilde azaltan rüzgâr türbinlerinin, iletim hatlarındaki kayıpları da ortadan kaldırması ile ana generatörden talep edilen güç miktarı azalmıştır. Örnek verilecek olursa, sistemde rüzgâr türbinleri devreye alınmadan önce ana generatörden 545 MW aktif güç talep edilirken, sisteme toplamda 100 MW’lık rüzgâr türbinlerinin eklenmesiyle ana generatörden talep edilen aktif güç 428,71 MW olmaktadır. Diğer taraftan ana generatörde oluşan 192 MVAR reaktif güç, rüzgâr türbinlerinin devreye alınması ile birlikte 151 MVAR olarak belirlenmiştir.

Tablo 5’e bakıldığında, iletim hatlarında türbinler devreye alınmadan önce toplamda 44,25 MW kayıp varken, türbinler Yahyalı – Melikgazi noktalarında devreye alındıktan sonra iletim hatlarındaki toplam kayıp 27,7 MW olmaktadır. Aradaki fark ise 16,55 MW’tır. Bu iyileşme yüzde olarak %37,4’e denk gelmektedir. Yaklaşık olarak %38’lik bir iyileşmenin hem iletim hatlarının ömrüne hem de ekonomik olarak yatırımcılara ve ülkemize büyük bir katkısı olacağını göstermektedir. Elde edilen sonuçlar dikkatle incelendiğinde, türbinler devreye alınmadan önce Kocasinan-Sarıoğlan iletim hattı aktif olarak kullanılmazken, türbinler devreye alınca kullanılmaya başlamıştır. Bu nedenle üzerinden geçen akım artmıştır. Hatlarda yaşanan kayıpların analizi yapıldığında bu noktalarda kaybın arttığı gibi bir görünüm ortaya çıkmaktadır. Bunun gibi birkaç iletim hattı daha bulunmaktadır. Bunlar dışında aktif olarak kullanılan iletim hatlarının kayıplarında ciddi oranda düşüşler meydana gelmiştir.

Tablo 5’teki bilgiler, rüzgâr türbinleri için en uygun yer olan Yahyalı–Melikgazi noktalarında türbinlerin devreye alınmasından önceki ve devreye alındıktan sonraki verilerine dayanmaktadır. Türbinlerin devreye alınmasına, 13 iletim hattı olumlu tepki vermiştir. Diğer hatlarda kaybın artması gibi bir görüntü bulunmaktadır fakat bu durum yukarıda da

açıklandığı gibi türbinlerin olumsuz etkilerinden kaynaklanmamaktadır. Olumsuz görüntünün temel sebebi aktif olarak kullanılmayan iletim hatlarının rüzgâr türbinlerinin devreye alınması ile kullanılmaya başlamasından kaynaklanmaktadır.

**Tablo 5.** Rüzgâr türbinlerinin eklenmeden önceki ve eklendikten sonra iletim hatlarında yaşanan kayıplar

Nereden	Nereye	ÖNCE		SONRA		Değişim (MW)
		MW Kayıp	MVAR Kayıp	MW Kayıp	MVAR Kayıp	
Melikgazi	Bünyan	0,15	0,01	0,03	0	-%80,0
Pınarbaşı	Melikgazi	16,76	1,59	9,67	0,92	-%42,3
Yeşilhisar	Melikgazi	1,44	0,14	0,74	0,07	-%48,6
Bünyan	Kocasinan	0,42	0,04	0,17	0,02	-%59,5
Pınarbaşı	Kocasinan	9,41	0,89	6,56	0,62	-%30,3
Kocasinan	Sarıoğlan	0,01	0	0,08	0,01	+%700,0
Hacılar	Kocasinan	1,51	0,14	1,57	0,15	+%4,0
Develi	Talas	0,41	0,04	0,2	0,02	-%51,2
Talas	Yahyalı	0,09	0,01	0,11	0,01	+%22,2
Pınarbaşı	Talas	4,07	0,39	2,45	0,23	-%39,8
Pınarbaşı	Develi	1,89	0,18	1,26	0,12	-%33,3
İncesu	Develi	0,03	0	0,01	0	-%66,7
Yahyalı	Tomarza	0,19	0,02	0,38	0,04	+%100,0
Hacılar	Yahyalı	0,23	0,02	0,01	0	-%95,7
Pınarbaşı	İncesu	2,32	0,22	1,5	0,14	-%35,3
Pınarbaşı	Hacılar	3,39	0,32	1,72	0,16	-%49,3
Tomarza	Sarıoğlan	0,05	0,01	0,18	0,02	+%260,0
Yeşilhisar	İncesu	1,88	0,18	1,06	0,1	-%43,6
	<b>Toplam</b>	<b>44,25</b>	<b>4,2</b>	<b>27,7</b>	<b>2,63</b>	<b>-%37,4</b>

İletim hatlarındaki kullanım oranlarının azalması sayesinde tasarlanan sistem, sürekli olarak artan yük ihtiyaçları karşısında uzun süre kullanılabilir. Dolayısı ile yenilenebilir enerji kaynaklarının maliyet konusunda bir faydası daha ortaya çıkmıştır. Yenilenebilir enerji kaynaklarının açıkça görüldüğü bir diğer etki alanı ise sistem gerilimlerindeki değişimlerdir. Tablo 6’da türbinlerin devreye alınmasından önce ve devreye alınmasından sonra sistem gerilimlerinin değişimi ve gerilim genlik açıları verilmiştir.

Rüzgâr türbinleri Yahyalı–Melikgazi noktalarında devreye alındıktan sonra gerilimlerde istenen düzeylere biraz daha ulaşıldığı görülmektedir. Bu sonuçlar ile birlikte yenilenebilir enerji kaynaklarının faydaları da bir kez daha açık bir şekilde ortaya çıkmıştır. Değişim olmayan tek bara Pınarbaşı’nda yer almaktadır. Bu bara, “denge barası” olarak seçilmesinden dolayı p.u değeri sürekli olarak 1 olmaktadır. Türbinler sisteme analiz edilen hangi bara üzerinden dâhil edilirse edilsin, sistem gerilimi üzerinde genel olarak olumlu etkide bulunmuştur.

**Tablo 6.** Türbinlerin devreye alınmasından önce ve devreye alınmasından sonra pu volt değerleri

Bara	ÖNCE		SONRA	
	PU Volt	Deg	PU Volt	Deg
Melikgazi	0,902	1,23	0,925	0,84
Kocasinan	0,927	1,11	0,939	0,91
Talas	0,953	0,89	0,964	0,71
Develi	0,968	0,56	0,974	0,47
Yahyalı	0,945	0,95	0,971	0,51
Bünyan	0,911	1,23	0,929	0,94
Pınarbaşı	1,000	0	1,000	0
Tomarza	0,935	1,08	0,956	0,72
İncesu	0,964	0,53	0,971	0,42
Yeşilhisar	0,931	0,91	0,946	0,67
Sarıoğlan	0,929	1,12	0,946	0,84
Hacılar	0,956	0,69	0,969	0,48

Tablo 5 ve Tablo 6’da sunulan veriler, maliyet konusunda da yatırımcıların kısa sürede geri dönüş almalarını sağlayan yenilenebilir enerji kaynaklarının daha çok kullanılması ve değerlendirilmesi gerektiğini doğrulamaktadır. Ana generatör olan termik santralin ilk durumda ürettiği gücün 545 MW olduğu bilinmektedir. Termik santrallerde enerji üretim maliyeti ortalama 6 cent/kWh’tir [27]. Bu durumda tasarlanan şebekede termik santralin 1 yıl boyunca çalışmasının maliyeti 286.452.000 \$ olarak hesaplanmıştır. Rüzgâr türbinlerinin devreye alınması ile termik santralden talep edilen güç 428,71 MW’a düşmüştür. Diğer taraftan toplamda 100 MW’lık bir rüzgâr enerjisi üretime destek vermektedir. Termik santral ile rüzgâr türbinlerinin birlikte çalışmasının yıllık maliyeti 234.089.976 \$ olarak bulunmuştur. Bu hesaplama yapılırken rüzgâr enerjisinin üretim maliyeti ortalama olarak 1 cent/kWh olarak alınmıştır [28]. Bu hesaplamalar ışığında rüzgâr türbinlerinin devreye alınması ile birlikte yıllık olarak 52.362.024 \$ değerinde termik santral üretimi azaltılmıştır. Maliyetteki azalan miktar ise rüzgâr türbinlerinin kurulum maliyetini yaklaşık olarak 3 yıl 4 ay gibi kısa bir sürede karşılamaktadır. 100 MW’lık rüzgâr enerjisinin toplam kurulum maliyeti 175.000.000 \$ olarak belirtilmiştir [28].

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada yenilenebilir enerji kaynaklarının şebekeye entegre edilmesi durumunda sağlayacağı faydaların somut örneklerle verilmesi için bir araştırma yapılmıştır. Bunun için rüzgar türbinlerine dayalı bir sistem tasarlanmış ve belirli senaryolar ile rüzgâr türbinlerinin sisteme entegrasyonu sağlanmıştır. Amaç olarak, sistem içerisinde yer alan kayıpların yaratmış olduğu maliyetlerden ve yenilenebilir enerji kaynaklarının dışında kalan enerji kaynaklarının çevreye verdiği zararlardan bir nebze olsun uzak durabilmektir. Çalışma içerisinde 5 farklı senaryo geliştirilmiş olup bu senaryolar, yaygın olarak kullanılan ve nispeten daha pratik bir şekilde sonuç üreten Power World programı kullanılarak analiz edilmiştir. Analizler sonucunda, örneklenen şebekenin mevcut durumu ve geliştirilen senaryolar dikkate alınarak şebekede yaşanan hat kayıpları, kısa devre analizleri ve gerilim profilleri ile ilgili bilgilere ulaşılmıştır. Rüzgâr türbinleri, istenilen baralara entegre edilerek sonuçlar incelenmiştir.

Türbinler devreye alınmadan önce sistemde var olan kayıp 44,25 MW’tır. Bu kayıp, türbinlerin sisteme entegre edilmesi ve katkı sağlaması sonucunda 27,7 MW’a kadar düşmüştür. Tasarlanan sisteme entegre edilen rüzgâr türbinleri sayesinde sistem içerisinde yer alan kayıpların yaklaşık olarak %38 oranında azaldığı görülmüştür. Aynı zamanda sistem gerilimlerindeki olumlu değişimler türbinlerin sistem içerisinde aktif olması ile birlikte hemen kendisini göstermektedir. İletim hatları üzerindeki yüklerin oranını da düşüren dağıtık üretim kaynakları, bu sayede şebekelerin daha uzun ömürlü olmalarını da sağlamaktadır.

#### 5. Kaynaklar

- [1] Haque M.H., “Voltage profile and loss assessment of distribution systems with fixed speed wind generators”, *2014 IEEE Innovative Smart Grid Technologies - Asia (ISGT ASIA)*, 2014.
- [2] Guerriche K.R., Bouktir T., “Maximum loading point in distribution system with renewable resources penetration”, *International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC)*, IEEE, 481-486, 2014.
- [3] Shrivastava C., Gupta M., Koshti A., “Review of forward & backward sweep method for load flow analysis of radial distribution system”, *International Journal of Advanced Research in Electrical, Electronics and Instrumentation Engineering*, 4(6), 5595-5599, 2015.
- [4] Dharageshwari K., Nayanatara C., “Multiobjective optimal placement of multiple distributed generations in IEEE 33 bus radial system using simulated annealing”, *2015 International Conference on Circuits, Power and Computing Technologies [ICCPCT-2015]*, IEEE, 1-7, 2015.
- [5] Wazir A., Arbab N., “Analysis and optimization of IEEE 33 bus radial distributed system using optimization algorithm”, *(JETAE) J. Emerg. Trends Appl. Eng.*, 1(2), 2518-4059, 2016.

- [6] Majidi M., “Optimal distributed generation allocation and sizing in radial distribution networks by cuckoo search algorithm”, İstanbul Technical University Graduate School of Science Engineering and Technology, *Doktora Tezi*, 83s, İstanbul, 2017.
- [7] Parasher R., Maida A., “Load flow analysis of radial distribution network using linear data structure”, arXiv preprint arXiv:1403.4702, 2014.
- [8] Akdeniz E., Kaypmaz A., Yağmur E., “Yenilenebilir Kaynaklardan Enerji Üretiminin Şebekenin Enerji Kalitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi”, *Elektrik Mühendisleri Odası*, [http://www.emo.org.tr/ekler/8e6ba1db0f3c405\\_ek.pdf](http://www.emo.org.tr/ekler/8e6ba1db0f3c405_ek.pdf), Yayın tarihi 2006. Erişim tarihi Haziran 27, 2020.
- [9] İçel Y., Baran B., Kaygusuz A., Bektaş Ö., “Yenilenebilir Kaynakları İçeren Güç Sistemlerinin PowerWorld Programı ile Analizi”, *Otomatik Kontrol Ulusal Toplantısı TOK2013*, 26-28, 2013.
- [10] Karaarslan K., “Dağıtılmış üretim kaynaklarının elektrik dağıtım sistemlerine etkileri”, Kocaeli Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 85s, Kocaeli, 2010.
- [11] Geidl M., “Protection of power systems with distributed generation: State of the art”, *Eidgenössische Technische Hochschule Zürich*, EEH Power Systems Laboratory, Zurich, 2005.
- [12] Uyar M., Gençoğlu M.T., Yıldırım S., “Değişken hızlı rüzgar türbinleri için generatör sistemleri”, *III. Yenilenebilir Enerji Kaynakları Sempozyumu*, Mersin- Türkiye, 2-5, 2005.
- [13] Dulău L.I., Abrudean M., Bică D., “Effects of distributed generation on electric power systems”, *Procedia Technology*, 12(2014), 683-685, 2014.
- [14] Uzal H., Zonturlu A., Karatepe E., “Enerji iletim ve dağıtım hatlarının matlab ve powerworld simulator ile güç akışı analizi”, Ege Üniversitesi, *Elektrik- Elektronik Mühendisliği Bölümü*, İzmir, 2011.
- [15] Parihar S.S., Malik N., “Load flow analysis of radial distribution system with DG and composite load model”, *International Conference on Power Energy, Environment and Intelligent Control (PEEIC)*, IEEE, 295-300, 2018.
- [16] Narayan K.S., Kumar A., “Energy savings in radial distribution systems with intermittent wind power and probabilistic load demands”, *Energy Procedia*, 90, 137-144, 2016.
- [17] Glover, S., Neely, J., White, F., Foster, P., Wasynczuk, O., Pekarek, S., “Secure scalable distributed network test bed at sandia national laboratories”, *IEEE International Conference on Cyber Technology in Automation, Control, and Intelligent Systems (CYBER)*, 23-27, 2007.
- [18] Hossain, E., Kabalci, E., Bayindir, R., Perez, R., “A comprehensive study on distributed network technology”, *International Journal of Renewable Energy Research*, 4(4), 1094- 1107, 2014.
- [19] Kruegle, H., “CCTV surveillance”, *Elsevier Butterworth Heinemann*, Amsterdam, s. 572, 2007.
- [20] Willis, H., “Power distribution planning reference book”, New York: M. Dekker, 2004.
- [21] Kishorbha, T. M., Mangroliya, D. G. P., “Recent Trades in Distribution System”, *International Journal of Advance Engineering and Research Development*, 2(3), 211-217, 2015.
- [22] Sochinskayaa, M., “Distributed networks: experiences, barriers and success factors”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 5-30, 2014.
- [23] Cristian, N., Ahmed, A., Dakyo, B., “Impact Analysis of Distributed Generation on Mesh and Radial distribution network”, *Overview and State of the art*, ResearchGate, 2013.
- [24] Bosisio, A., “Structural and functional optimization in distribution grid planning”, Politecnico Di Milano, *Department of Energy, PhD thesis*, Milano, 2015.
- [25] Tande, J. O. G., “Grid Integration of Wind Farms”, *Wind Energy*, 6, 281-295, 2003.

- [26] Elektrik Mühendisleri Odası. [http://www.emo.org.tr/ekler/31bef974be23b27\\_ek.pdf](http://www.emo.org.tr/ekler/31bef974be23b27_ek.pdf). Erişim tarihi Nisan 12, 2020.
- [27] Kaya K., Koç E., “Enerji üretim santralleri maliyet analizi”, *Mühendis ve Makina*, 56(660), 61-68, 2015.
- [28] Ertuğrul Ö.M., Kurt M.B., “Yenilenebilir enerji kaynakları maliyet analizi ve sürdürülebilir yek uygulamaları”, *V. Yenilenebilir Enerji Kaynakları Sempozyumu*, Diyarbakır-Türkiye, 37-41, 2009.



## Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

**Araştırma Makalesi (Research Article)**

Makale Doi: **10.17100/nevbiltek.867334**

Geliş Tarihi:24-01-2021

Kabul Tarihi:15-02-2021



### Atık Aktif Çamurun Nano-Fenton Prosesi ile Parçalanması<sup>A</sup>

Serkan ŞAHİNKAYA<sup>1\*</sup>, Damla KESEK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Çevre Mühendisliği Bölümü, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Merkez, Nevşehir, 50300, Türkiye  
ORCID: 0000-0002-0176-4198

<sup>2</sup>Çevre Mühendisliği Bölümü, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Merkez, Nevşehir, 50300, Türkiye  
ORCID: 0000-0003-2944-2251

#### Öz

Bu çalışmada, modifiye Fenton prosesi ile atık aktif çamurun parçalanması incelenmiştir. Fenton prosesinde demir kaynağı olarak nano boyuttaki demir (II, III) oksit kullanılmıştır. Çalışma kapsamında, pH, katalist demir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonlarının optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu değişkenlerin çamurun çözünmüş fazındaki kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve protein konsantrasyonları etkisi üzerinde durulmuştur. Ayrıca, Fenton prosesinin temel işletme parametrelerinin çamurun bulanıklığına ve su verme özelliğine etkisi de incelenmiştir. Atık aktif çamurun parçalanması için optimum pH 3 olarak belirlenirken, optimum demir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozları ise sırasıyla 8 ve 80 g/kg TS olarak bulunmuştur. Öte yandan, optimum şartlarda yapılan kinetik çalışmada ise, çamurun parçalanması neticesinde gerçekleşen çözünmüş KOİ artışının sıfırıncı derece kinetik modeline ve protein konsantrasyonundaki artışın ise birinci derece kinetik modeline uyduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, atık aktif çamurun parçalanması için Fenton prosesinde alternatif bir katalizör olarak demir (2, 3) oksidin kullanılabilir olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Atık aktif çamur; çamur parçalaması; demir (II, III) oksit; Fenton prosesi.

### Disintegration of Waste Activated Sludge via Nano-Fenton Process

#### Abstract

In this study, the disintegration of waste activated sludge by modified Fenton process was investigated. In the Fenton process, nano-sized iron (2, 3) oxide was used as the catalyst iron source. Within the scope of the study, optimizations of pH, iron and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrations were carried out. The effects of these variables on chemical oxygen demand (COD) and protein concentrations in the dissolved phase of the sludge are emphasized. In addition, the effects of the main operating parameters of the Fenton process on the turbidity and dewatering ability of the sludge were also investigated. While the optimum pH for the disintegration of waste activated sludge was determined as 3, the optimum iron and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> doses were found to be 8 and 80 g/kg TS, respectively. On the other hand, in the kinetic study conducted under the optimized conditions, it was determined that the dissolved COD increase as a result of the sludge disintegration, fit the zeroth order kinetic model and the increase in the protein concentration to the first order kinetic model. As a result, it has been observed that iron (II, III) oxide can be used as an alternative catalyst in the Fenton process for the disintegration of waste activated sludge.

**Keywords:** Waste activated sludge; sludge disintegration; iron (II, III) oxide; Fenton process.

#### 1. Giriş

Aktif çamur prosesi, kentsel atıksuların arıtımında en yaygın kullanılan biyolojik arıtma prosesidir. Aktif çamur prosesi ile atıksuların arıtımı, aerobik şartlarda askıda halde bulunan karışık bir mikroorganizma kültürü tarafından atıksudaki organik maddelerin tüketilmesine dayanmaktadır. Ancak mikroorganizmaların organik maddeleri enerji kaynağı olarak kullandıkları bu solunum faaliyeti neticesinde kaçınılmaz olarak fazla biyokütle de üretilmektedir. Prosesin aerobik şartlarda yüksek verimle işletilebilmesi için sistemdeki fazla biyokütlenin atılması gerekmektedir. Bu

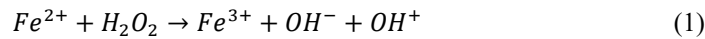
\* Sorumlu Yazar: [serkansahinkaya@nevsehir.edu.tr](mailto:serkansahinkaya@nevsehir.edu.tr)

<sup>A</sup>Bu makale yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

fazla çamur da, “atık aktif çamur” olarak adlandırılmaktadır. Atık aktif çamurun arıtımı ve bertarafı, atıksu arıtma tesislerinin ilk yatırım maliyetinin %30’unu ve işletme masraflarının ise %40’ını oluşturmaktadır [1].

Atık aktif çamurun yüksek organik madde içeriği ile kolayca bozunma ve kokuşma eğilimindedir. Yüksek organik madde içeriğine sahip bu atık çamurun çevreye arıtılmadan deşarj edilmesi ise, geri dönülmez çevresel tahribatlara neden olmaktadır. Bu nedenle atık çamurun arıtılması çok önemlidir ve bu maksatla, atıksu arıtma tesislerinde başlıca iki metot kullanılmaktadır: Küçük atıksu arıtma tesislerinde aerobik çamur çürütücüler kullanılırken, büyük atıksu arıtma tesislerinde atık çamur miktarının fazla olması ve metan üretimi ile prosesin ciddi miktarda metan gazı üretebilmesinden dolayı anaerobik çamur çürütücüler kullanılmaktadır. Ancak her iki proseste de atık aktif çamurun çürütülmesi için ilk aşama olan çamurun hidrolizi, hız sınırlayan aşamadır. Ayrıca uzun hidroliz aşaması çürütücülerdeki hidrolik alıkonma süresinin daha uzun olmasına neden olarak, daha büyük çürütücüler gerektirerek hem ilk yatırım hem de işletme maliyetini arttırmaktadır. Çürütücülerdeki hidroliz aşamasını kısaltmak için, çamur floklarını dağıtarak ve biyokütle hücrelerini parçalayarak katı fazdan sıvı faza organik madde geçişini sağlayan çeşitli fiziksel ve kimyasal çamur parçalama metotları kullanılmaktadır [2]. Bu metotlardan bazıları ultrasonikasyon, mikrodalga ışınlama, termal ön işlem, alkalizasyon, asidifikasyon ve Fenton prosesidir.

Fenton prosesi, asidik şartlarda katalizör olarak kullanılan ferro demir ( $Fe^{2+}$ ) ile hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) reaksiyonu sonucunda oksitleyici hidroksil serbest radikalinin ( $OH^\bullet$ ) üretilmesine dayanmaktadır (Eşitlik 1) [3]. Ferro demiri kullanan bu proses, konvansiyonel Fenton prosesi olarak adlandırılmaktadır. Ürettiği hidroksil radikali, seçici olmayan ve bilinen en güçlü ikinci oksitleyici ajandır. Yüksek verimde hidroksil üretimine dayanan bir ileri oksidasyon metodu olan Fenton prosesinin en önemli avantajları, ucuz, uygulaması basit ve kalifiye eleman gerektirmemesidir. Fenton prosesinin atıksulardan toksik ve biyolojik olarak parçalanabilirliği düşük olan maddelerin giderimi üzerine literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır. Ancak literatürde Fenton prosesi ile atık aktif çamurun parçalanması üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmaların çoğunluğu ferro demirin demir kaynağı olarak kullanıldığı, konvansiyonel Fenton prosesi üzerinedir. Örneğin, Şahinkaya ve arkadaşları [4] tarafından yapılan çalışmada atık aktif çamurun parçalanması için ferro demir kullanan konvansiyonel Fenton prosesi ile sıfır değerlikli demir ( $Fe^0$ ) kullanan modifiye Fenton proseslerinin çamur parçalama verimleri kıyaslanmıştır. Her iki metodun da atık çamuru verimli bir şekilde parçalayabildiği ve anaerobik çamur çürütme sırasında metan üretimini arttırdığı belirlenmiştir. Yıldız ve Cömert [5] tarafından yapılan çalışmada da konvansiyonel ve modifiye Fenton proseslerinin çamurun parçalanmasına etkileri araştırılmıştır. Her iki çalışmada da modifiye Fenton prosesinin çamur parçalama veriminin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise Erden ve Filibeli [6], Fenton prosesinin çamurun çözünürlüğünü arttırdığını ortaya koymuşlardır. Ancak, literatürde nano boyutta demir (2, 3) oksidi demir kaynağı olarak kullanan modifiye Fenton prosesi ile atık aktif çamurun parçalanması üzerine bir çalışmaya rastlanmamıştır. Öte yandan, Sahinkaya ve Adanur [7] tarafından nano boyutta demir (2, 3) oksidin katalist olarak kullanıldığı Fenton prosesi ile gri suların arıtımı üzerine yapılmış olan çalışmada, bu katalizörün Eşitlik (1) ve (2)’de gösterilen reaksiyon eşitliklerine uygun olarak, Fenton prosesinde başarı ile kullanılabileceğini belirlenmiştir.



Bu çalışmada, atık aktif çamurun modifiye Fenton prosesi ile kimyasal olarak parçalanması araştırılmıştır. Çamurun parçalanması, çamurun çözünmüş fazındaki kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve protein konsantrasyonlarına bağlı olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca çamurun bulanıklığı da ölçülmüştür. Çamurun su verme özelliği de kapiler emme süresi (KES) parametresi ile değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında, Fenton prosesinde demir kaynağı olarak nano boyutta demir (2, 3) oksit kullanılmıştır. Literatürde çamur parçalama amacıyla Fenton prosesinde nano boyutta demir (2,

3) oksit kullanılan başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmada nano boyutta demir (2, 3) oksit kullanılması, bu çalışmanın literatürdeki çalışmadan farklı ve özgün yönünü oluşturmaktadır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Atık aktif çamur

Çalışmada kullanılan atık aktif çamur, Nevşehir Kentsel Atıksu Arıtma Tesisindeki son çökeltim havuzunun havalandırma havuzuna çamur geri çevrim hattından alınmıştır. Alınan çamur numunesi saf su kullanılarak %1 katı madde içeriğine ayarlandıktan sonra deneylerde kullanılmıştır. Bu çamur 1 hafta süre ile buzdolabında karanlıkta +4 °C’de saklanmış ve tüm deneyler bu süre içinde tamamlanmıştır. %1 katı madde içeriğine sahip olan ve deneylerde kullanılan atık aktif çamurun karakterizasyonu da Tablo 1’de sunulmuştur.

**Tablo 1.** Atık aktif çamurun karakterizasyonu.

Parametre	Değer
pH	7,22
Toplam Kimyasal Oksijen İhtiyacı (tKOİ), mg/L	8950
Çözünmüş Kimyasal Oksijen İhtiyacı (çKOİ), mg/L	40
Toplam Katı Madde (TKM), mg/L	9800
Uçucu Katı Madde (UKM), mg/L	7050
Askıda Katı Madde (AKM), mg/L	8075
Uçucu Askıda Katı Madde (UAKM), mg/L	5990
Çözünmüş Protein, mg/L	20
Bulanıklık, NTU	12,4
Kapiler Emme Süresi (KES), s	8,2

### 2.2. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, analitik saflıktadır. Nano boyutta demir (2, 3) oksit (Fe(II, III)O) 50 – 100 nm tanecik boyutu aralığındadır ve Sigma (Almanya)’dan satın alınmıştır. Diğer kimyasallar ise Merck firmasından alınmıştır. Çalışmanın gerçekleştirilmesinde saf su kullanılmıştır.

### 2.3. Nano-Fenton prosesinin uygulanması

Çalışma kapsamında Fenton prosesinde verime etki eden proses parametrelerinin optimize edilebilmesi için deneyler farklı pH değerlerinde, değişken katalist demir ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) konsantrasyonlarında gerçekleştirilmiştir. Nano-Fenton prosesinde, katalist demir olarak nano boyuttaki demir (2, 3) oksit kullanılmıştır. Deneyler ise MTops marka altılı jar testi cihazında 250 mL hacminde çamur kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Oksidasyon sürecine dayalı çamur parçalama deneyleri oda sıcaklığında yürütülmüştür. Çamur pH’ını ayarlamak için 1 ve 6 N derişimindeki NaOH ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltileri kullanılmıştır.

Fenton prosesinin uygulanmasında ilk aşamada çamur pH’ı istenen başlangıç değerine ayarlanmıştır. Sonra sırasıyla, istenen konsantrasyonu sağlayacak kadar nano boyuttaki demir (2, 3) oksit ve hemen sonrasında hidrojen peroksit ilavesi yapılmıştır. Hidrojen peroksitin ilave edilmesi ile Fenton oksidasyon sürecinin başladığı kabul edilmiştir ve oksidasyon süreci çamur 90 rpm devirde karıştırılarak 1 saat sürmüştür. Bu sürenin sonuçta, çamur pH’ı yaklaşık 7,5 değerine ayarlanmıştır. Nötralizasyondan sonra çamur karıştırma durdurulmuş ve 30 dakika süre ile durgun şartlarda bekletilmiştir. Sonra çamur numuneleri üstteki duru fazdan pipetle, içinde mangan (IV) oksit (MnO<sub>2</sub>) bulunan beherlere alınmıştır. MnO<sub>2</sub> oksidasyon sürecinin sonunda reaksiyon karışımının içinde tepkimeye girmeden kalabilen kalıntı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’nin bozundurulması için kullanılmıştır [8]. MnO<sub>2</sub>, katalizör olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile reaksiyona girmekte ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’yi suya ve oksijene parçalamaktadır [8]. MnO<sub>2</sub> ile 10 dakika temas ettirilen çamur numunesi 15 dakika santrifüjlenmiş ve sonra



0,45 µm gözenek çapına sahip Sartorius marka (Almanya) membran filtre kâğıdından süzölmüştür. Elde edilen süzöntü, çözünmüş KOİ ve protein parametrelerinin analizinde kullanılmıştır.

#### 2.4. Analizler

pH ölçümleri, Hach Lange (Almanya) marka multi parametre ölçer ile gerçekleştirilmiştir. Tablo 1’de sunulan çamurun karakterizasyonunun belirlenmesi için yapılmış olan tKOİ, TKM, UKM, AKM ve UAKM ölçümleri, çamuru doğrudan kullanarak Standart Metotlara göre yapılmıştır [9]. çKOİ ise alınan numunenin membran filtre kâğıdında süzölmesinden sonra, Hach Lange (Almanya) marka spektrofotometre kullanarak kolorimetrik metotla ölçölmüştür [9]. Çözünmüş protein ise, elde edilen bu süzöntü kullanılarak Modifiye Lowry metoduna dayalı olarak Pierce Marka deney kitleri ile Thermo marka UV – VIS spektrofotometrede ölçölmüştür. Protein analizlerinde protein standardı olarak bovin serum albümin kullanılmıştır. Bulanıklık ölçümleri, Velp marka türbidimetre ile yapılmıştır. Çamurun su verme özelliğinin göstergesi olan kapiler emme süresi (KES) ölçümleri ise, Ofite marka KES metre (ABD) ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında, Fenton oksidasyon prosesi ile atık aktif çamurun parçalanma veriminin değerlendirilmesinde, çamurun parçalanma derecesi (PD) parametresi esas alınmıştır. PD parametresi, çözünmüş fazdaki KOİ artışının, çözünmüş KOİ’de gerçekleşebilecek maksimum artışa oranı olarak, Eşitlik 3’te gösterildiği gibi hesaplanmıştır [10].

$$PD = \left[ \frac{(çKOİ - çKOİ_0)}{(tKOİ - çKOİ_0)} \right] \cdot 100 \quad (3)$$

Bu formölde, PD, çamurun parçalanma derecesini % olarak göstermektedir. çKOİ, Fenton prosesi ile parçalanmış çamurun çKOİ konsantrasyonunu (mg/L); çKOİ<sub>0</sub>, ham (parçalanmamış) çamurun çKOİ konsantrasyonunu (mg/L) ve tKOİ ise ham (parçalanmamış) çamurun tKOİ konsantrasyonunu (mg/L) ifade etmektedir.

### 3. Bulgular

Bu çalışmada Fenton prosesi, atık aktif çamur içinde bulunan flokların dağıtılması ve floklar içinde yer alan bakteri hücrelerinin parçalanması için kullanılmıştır. Çalışma kapsamında, Fenton prosesinin önemli işletme parametreleri olan reaksiyon karışımının başlangıç pH’ının ve reaksiyon karışımında katalist demir ile hidrojen peroksit konsantrasyonlarının optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Tüm bu optimizasyon çalışmaları, oda sıcaklığında, reaksiyon (oksidasyon) aşaması sürecinde 90 rpm karıştırma hızında ve 1 saatlik sürede yapılmıştır. Optimize edilmiş şartlarda da atık arıtma çamurunun parçalanma kinetiği incelenmiştir.

Çalışma kapsamında çamurun parçalama verimi temel olarak, çözünmüş fazdaki KOİ konsantrasyonu ve buna bağılı olarak hesaplanan, parçalama derecesi (PD) parametresi üzerinden değerlendirilmiştir. Ayrıca hem hücreler arası polimerik maddelerden hem de hücre içi polimerik maddelerden olan proteinin çözünmüş fazdaki konsantrasyonunun artışı, flokların dağıtılması ve bakteri hücrelerinin parçalanması ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir [11]. Çamurun bulanıklık verisindeki artış ise, dağıtılan floklar ile parçalanan hücrelerden kaynaklı olarak tanecik boyutundaki küçölmenin bir göstergesidir [12]. Bu nedenle, bulanıklık verisi hem çözünmüş fazdaki KOİ ve protein verilerini hem de çamurun su verme özelliğinin önemli bir göstergesi olan KES verilerini desteklemek için değerlendirilmiştir.

#### 3.1. Başlangıç pH’ının çamur parçalama üzerine etkisi

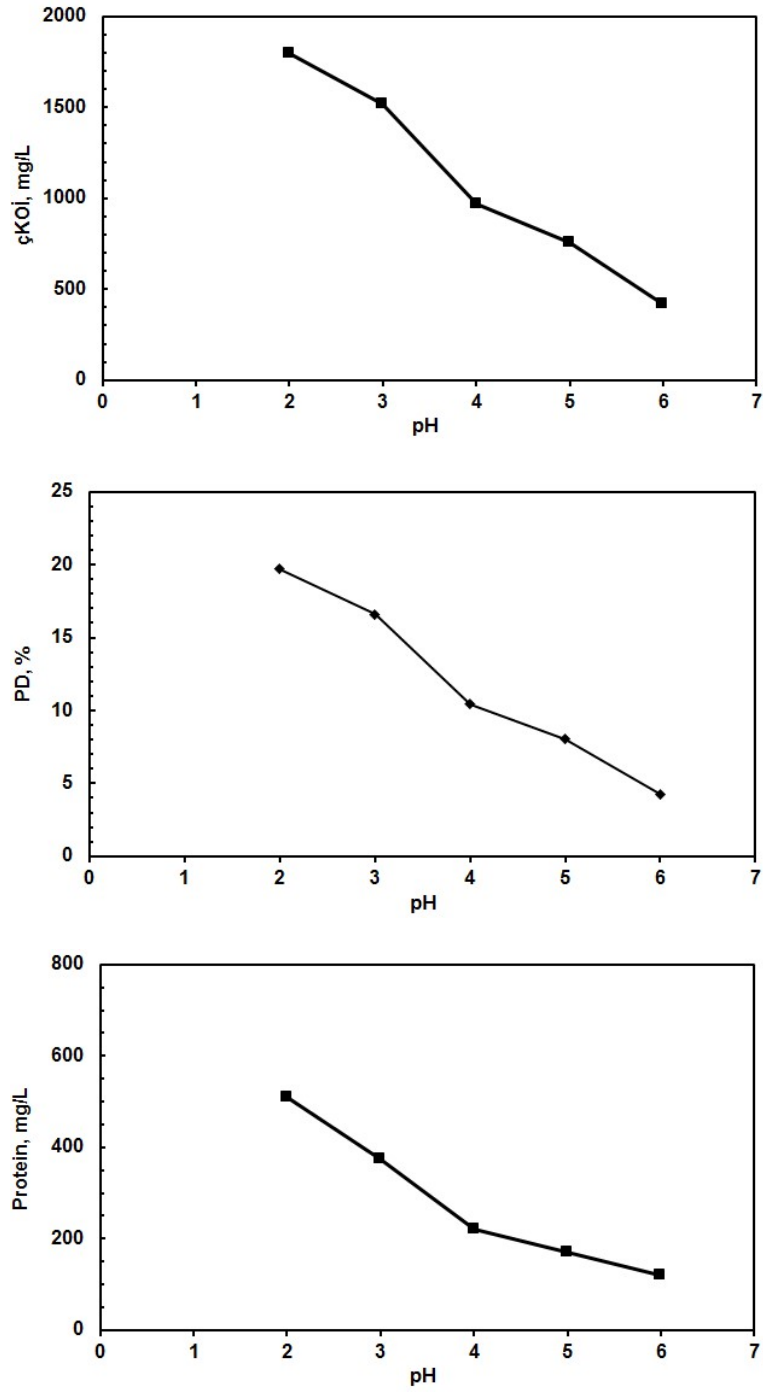
Bir ileri oksidasyon prosesi olan Fenton prosesinin, süreç verimine etki eden en önemli parametrelerden biri, reaksiyon ortamının pH’ıdır. Reaksiyon ortamının pH’ı, reaksiyona giren katalist demirin ortamdaki çözönlürlüğünü ve iyonik türünü belirlemektedir [4]. Ayrıca, hidrojen peroksit, kuvvetli asidik ortamda (Fenton sürecinde katalist demir ile

daha yavaş reaksiyona giren)  $H_3O_2^+$  olarak stabilize olabilmektedir [13]. Bu nedenlerle, Fenton prosesinde üretilen oksitleyici  $OH^\bullet$  serbest radikal miktarı ve dolayısı ile oksidasyon verimi de doğrudan ortam pH'ı ile ilişkilidir. Başlangıç pH'ının çamur parçalama verimine etkileri, katalist demir dozu 8 g/kg TS ve  $H_2O_2$  dozu ise 80 g/kg TS'de sabit tutularak denenmiştir. Reaksiyon ortamının başlangıç pH'ının etkileri, Şekil 1'de gösterilmiştir.

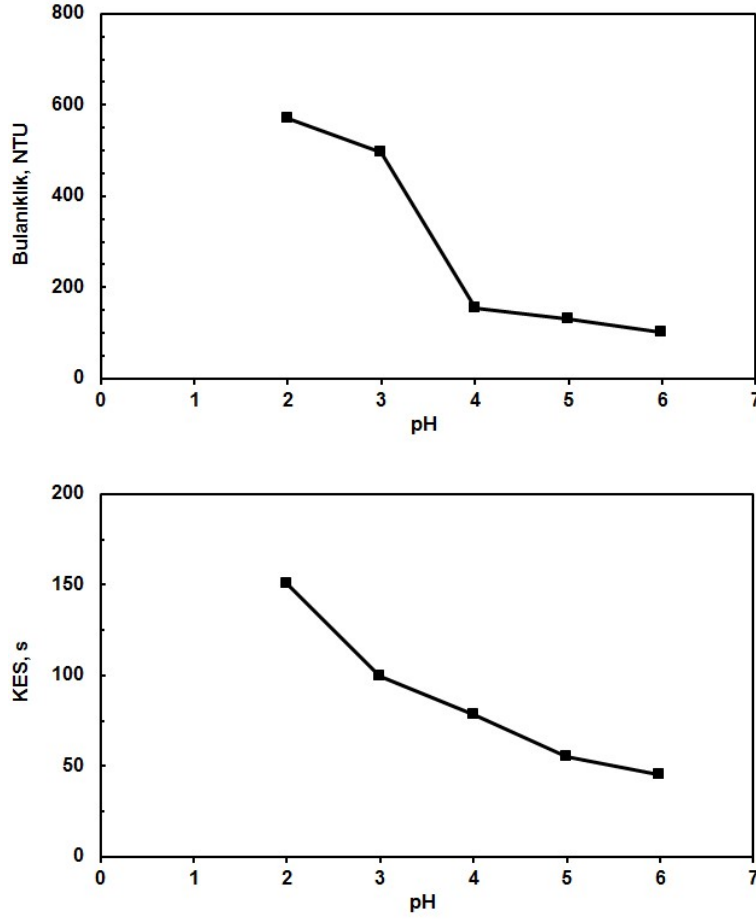
Şekil 1'den anlaşılacağı gibi, maksimum çamur parçalama verimi pH 2'de elde edilmiştir. pH 2'de çözülmüş fazdaki KOİ konsantrasyonu, 45 mg/L'den 1795 mg/L'ye yükselmiştir. Bu yüksek konsantrasyonla ilişkili olarak PD değeri de Eşitlik 2'ye uygun olarak, % 19,7 olarak hesaplanmıştır. Bu kuvvetli asidik şartta modifiye Fenton prosesi ile, çözülmüş protein konsantrasyonu da 20 mg/L'den 510 mg/L'ye yükselmiştir. Bulanıklık değeri de bu sonuçlara uygun olarak pH 2'de maksimum olmuştur. Nano demir tozlarının katalist demir kaynağı olarak kullanıldığı bu çalışmada pH optimizasyon çalışmasının gerçekleştirildiği en düşük pH değeri olan 2'de çamur parçalanmanın maksimum olmasının nedeni, hem kuvvetli asidik şartların biyokütlenin parçalanmasına maksimum düzeyde pozitif katkı yapması hem de kuvvetli asidik şartlarda katı (toz) halde reaksiyon çözeltilisine eklenen nano boyuttaki Fe(II, III) oksit'in maksimum çözünürlüğünün sağlanmasıdır [4]. Öte yandan sadece kuvvetli asidik pH'ın çamurun parçalanmasına olan etkisinin belirlenebilmesi için (katalist demir ve hidrojen peroksit ilavesi olmadan) yapılan deneyde ise, pH 2'de 1 saat bekletildikten sonra çamurun PD değeri %7,2 olarak belirlenmiştir. Böylece bu süreçte baskın olan parçalama mekanizmasının Fenton oksidasyon süreci olduğu tespit edilmiştir. Asidik şartlarda pH'ın etkisi üzerine benzer bir sonuç, Şahinkaya [14] tarafından yapılmış olan çalışmada da bulunmuştur.

Öte yandan nano boyutta toz halde bulunan Fe(II, III) oksidin içeriğinde bulunan demirin iki farklı türde bulunması nedeni ile katı halden sıvı faza çözüldüğünde hem ferro ( $Fe^{2+}$ ) hem de ferrik ( $Fe^{3+}$ ) demir olarak bulunmaktadır. Sıvı faza geçen ferro demir Eşitlik 1'e uygun olarak doğrudan reaksiyona girerken, ferrik demir ise önce Eşitlik 2'de gösterildiği gibi ferro demire dönüştürülmekte ve sonra Fenton oksidasyon reaksiyonları Eşitlik 1'e uygun olarak gerçekleşmektedir [7]. Şekil 1'de de gösterildiği gibi reaksiyon ortamının başlangıç pH'ının 2'den 3'e ayarlanması sonucunda, çamurun parçalanmasında hafif bir düşüş gerçekleşmiştir. pH 3'te çamur parçalama derecesi, % 16,6 olmuştur. Başlangıç pH'ının daha fazla yükseltilmesi ise, çamur parçalama veriminde dramatik bir düşüşe neden olmuştur. pH'ın 4, 5 ve 6'ya ayarlandığı şartlarda PD değerleri sırasıyla % 10,4, 8 ve 4,3 olarak hesaplanmıştır. Fenton reaktiflerinin konsantrasyonlarının sabit tutulduğu pH optimizasyon çalışmasında, pH yükseldikçe verimin düşmesinin nedeni, artan pH ile metalik demirin çözünürlüğünün azalmasıdır [4, 5]. Reaksiyon ortamında daha az çözülmüş demir olması ise, Eşitlik 1'e göre daha az  $OH^\bullet$  radikalinin üretilmesine neden olarak, prosesin oksidasyon verimi düşürmüştür. Sonuç olarak, maksimum çamur parçalama verimi pH 2'de elde edilmiş olsa bile, pH 3'te kayda değer bir azalma olmadığı için, optimum pH değeri 3 olarak belirlenmiştir.

Çalışmanın esas amacı, çoğunlukla bakteriyal biyokütleden oluşan atık aktif çamurun nano-modifiye Fenton prosesi ile parçalanarak çözünürlüğünün artırılması ve bu şekilde kendisinden sonra gelecek bir çamur çürütme prosesinin de veriminin artırılmasıdır. Ayrıca, bu prosesin, çamurun su verme özelliğine etkisi de araştırılmıştır ve Şekil 2'de başlangıç pH'ının çamurun su verme özelliğine etkisi gösterilmiştir. Bu şekilden de anlaşılacağı üzere, çamurun parçalanması arttıkça çamurun su verme özelliği kötüleşmiştir. Bunun başlıca nedeni, parçalanmış çamurdaki tanecik boyutunun küçülmesidir [15]. Bulanıklık verisindeki artış da çamur taneciklerindeki küçülmeyi işaret etmektedir. Diğer neden ise, protein gibi, dağılan çamur floklarının hücreler arası bağ maddelerinin ve parçalanmış bakteri hücrelerinin temel hücre içi yapıtaşlarının sıvı faza geçişi sonucu artan viskozitedir [15]. Böylece, çamurun çözünürlüğündeki gelişmeyle ters orantılı olarak, çamurun su verme özelliği kötüleşmiştir.



Şekil 1. pH'ın çamur parçalamaya etkisi.

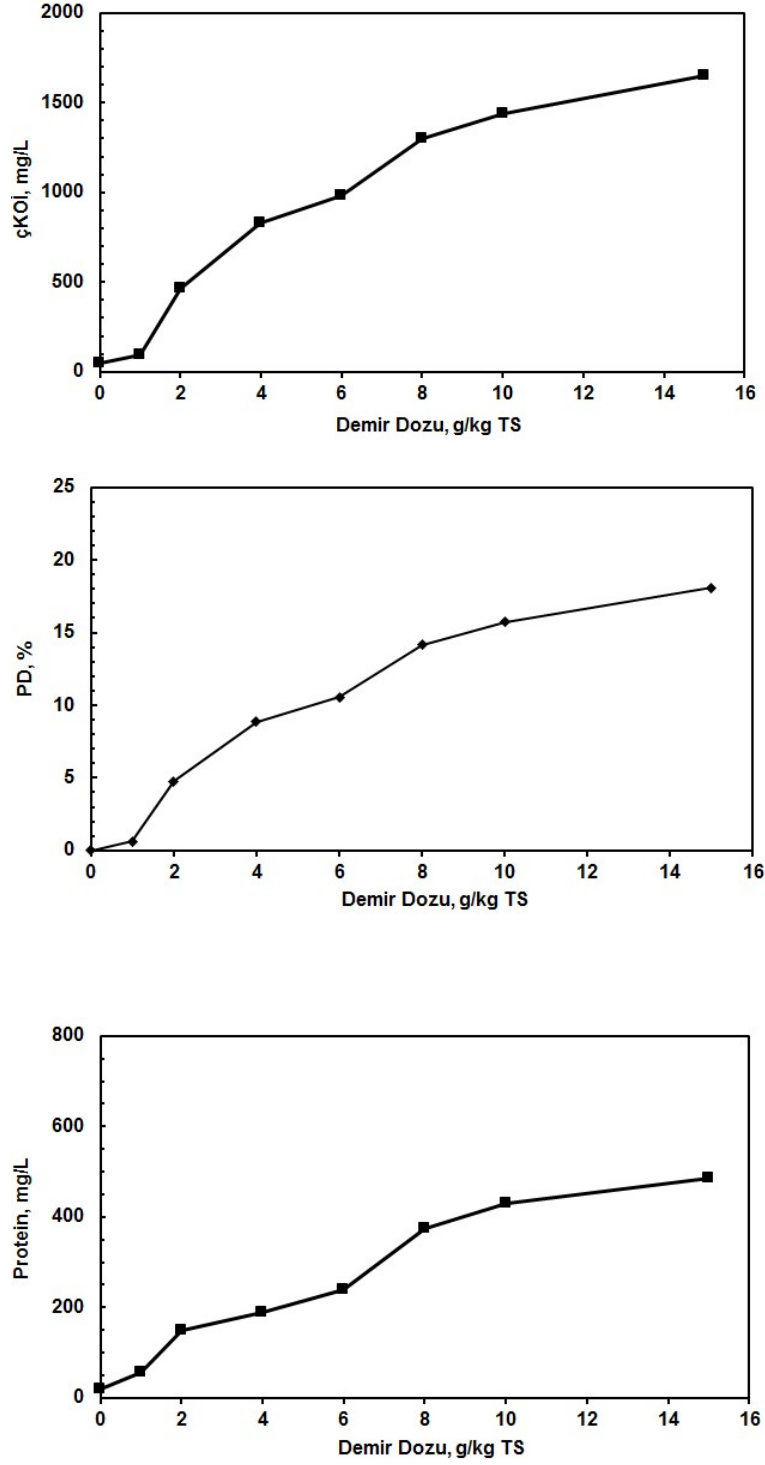


Şekil 2. pH'in çamurun fiziksel özelliklerine etkisi.

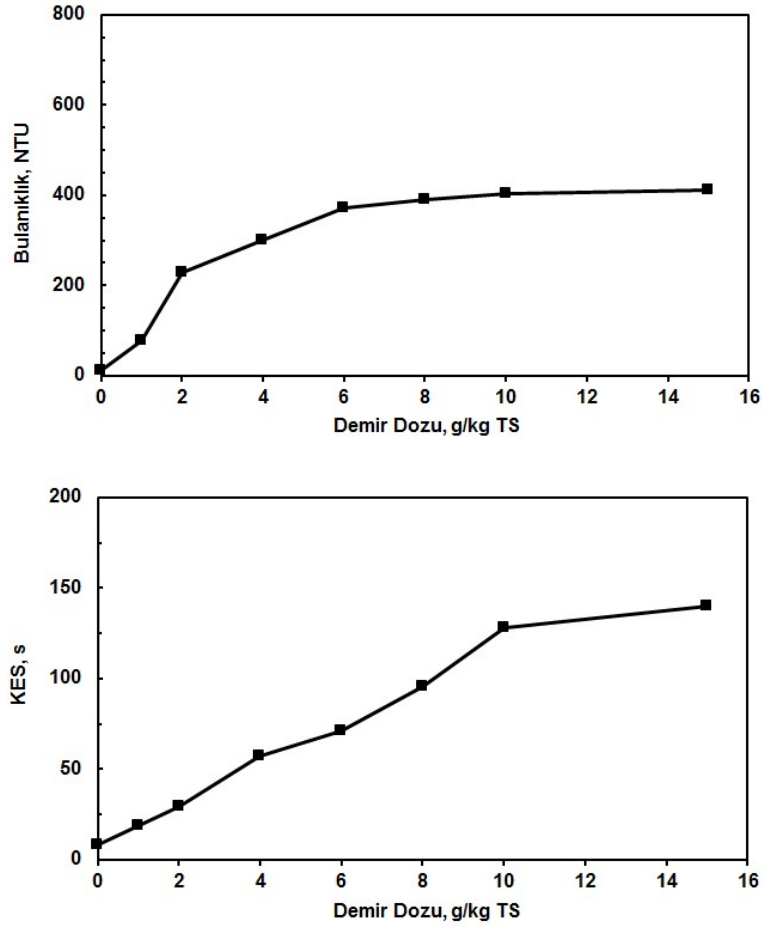
### 3.2. Demir konsantrasyonunun çamur parçalama üzerine etkisi

Fenton prosesinde kullanılan katalist demirin konsantrasyonunun optimizasyonu, bir diğer önemli parametredir. Çünkü demirin fazla miktarda kullanılması halinde, (1) fazla demir serbest  $\text{OH}\cdot$  radikalleri ile reaksiyona girerek radikalleri süpürmektedir, (2) daha fazla kimyasal demir çamuru oluşturmaktadır ve de (3) sürecin işletme maliyeti artmaktadır [3, 7, 17]. Öte yandan, az kullanılması halinde de Eşitlik (1)'e uygun olarak daha az oksitleyici radikal üretilmekte ve sürecin oksidasyon verimi düşmektedir. Ayrıca kullanılan demir türü de Fenton oksidasyon prosesinin verimine etki etmektedir. Literatürde atıksuların arıtımında Fenton prosesinin denendiği çalışmalarda, farklı demir türlerinin denendiği çalışmalar mevcuttur. Çamur parçalama üzerine yapılmış çalışmalarda ise, demir türünün etkisinin incelendiği çalışmalar, katalist demirin ferro iyonu ve sıfır değerlikli halleri ile sınırlı kalmıştır [4-6, 16]. Bu nedenle, bu çalışma kapsamında nano boyutta demir (II, III) oksidin kullanılması, literatüre farklı bir bakış açısı getirmektedir.

Demir dozunun optimizasyonu deneyleri, 1 – 15 g/kg TS aralığında yapılmıştır. Deneylerde, pH 3'te ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  dozu ise 100 g/kg TS değerinde sabit tutulmuştur. Deneysel sonuçlar, Şekil 3'te sunulmuştur. Bu grafiklerden de anlaşılacağı üzere, demir dozundaki artışa bağlı olarak çamurun parçalanması sürekli artmıştır. Bu artış, 8 g/kg TS dozuna kadar hızla gerçekleşmiştir. 8 g/kg TS dozunda elde edilen çözünmüş  $\text{KOI}$  ve protein konsantrasyonları, 1300 ve 375 mg/L olarak ölçülmüştür. Parçalama derecesi ise % 14,1 olmuştur. Ancak doz 10 ve 15 g/kg TS dozuna yükseltildiğinde ise, çamurun çözünürlüğünü, nispeten sınırlı seviyede artmıştır. Demir dozundaki aşırı artışa rağmen, radikal süpürme etkisi görülmemiştir. Bunun nedeni, reaksiyon ortamına metalik toz olarak dozlanan katalist demirin öncelikle çözünmesinden kaynaklanmıştır.



Şekil 3. Demir dozunun çamur parçalamaya etkisi.



Şekil 4. Demir dozunun çamurun fiziksel özelliklerine etkisi.

Şekil 4'te ise demir dozunun bulanıklık ve çamurun su verme özelliğine etkisi sunulmuştur. Çamurun bulanıklık değeri, 6 g/kg TS demir dozuna kadar artmıştır. Daha yüksek dozlarda ise artan demirin flokülasyon etkisi ile çamurun parçalanma derecesindeki artışa rağmen bu parçacıklar bir araya gelerek tanecik boyutu daha fazla küçülmemiş, bu nedenle de bulanıklık değeri sabit de kalmıştır [18, 19]. Öte yandan, KES değerleri ise, demir dozu arttıkça sürekli artmıştır. Bulanıklığın aksine, çamurun su verme değerinin kötüleşmesinin nedeni, Şekil 3'te gösterildiği gibi çamurun parçalanması neticesinde sıvı fazda protein vb organik maddelerin artan konsantrasyonudur [15, 20]. Çünkü protein gibi hücreler arası ve hücre içi polimerik maddeler çamurun viskozitesini arttırarak, çamurun su verme özelliğini kötüleştirmektedirler [15].

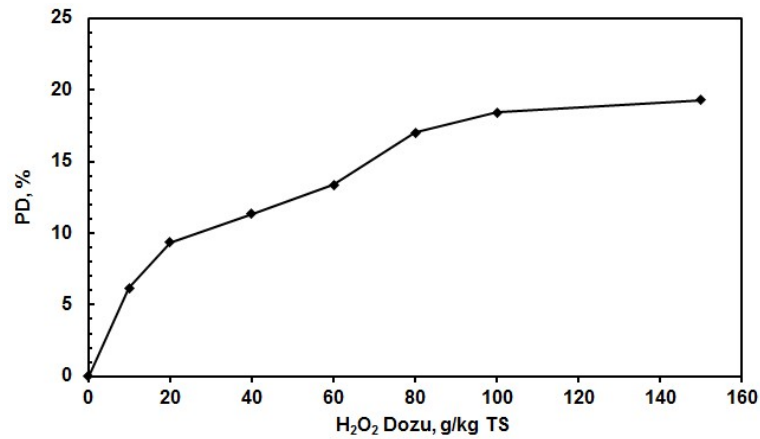
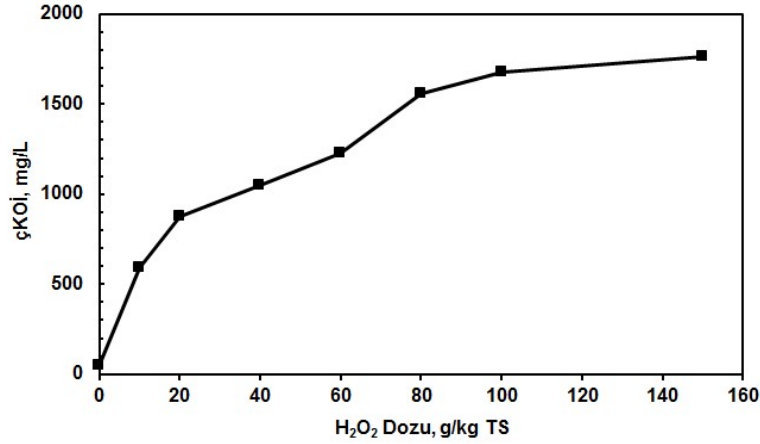
### 3.3. Hidrojen peroksit konsantrasyonunun çamur parçalama üzerine etkisi

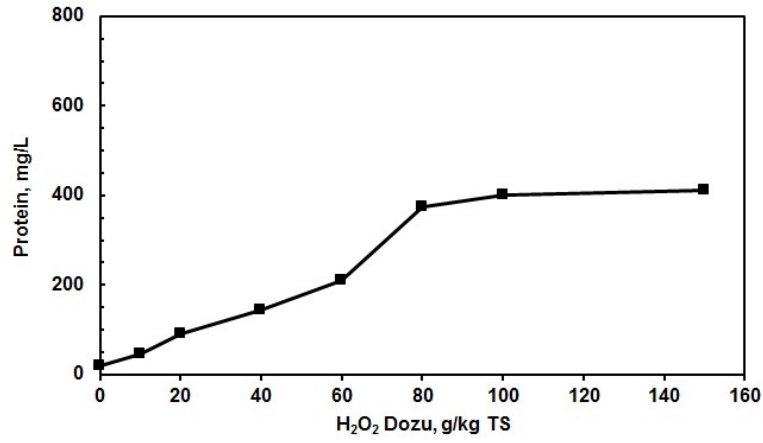
Hidrojen peroksit, Fenton prosesinde üretilen serbest hidroksil radikalının kaynağıdır. Ancak aşırı yüksek dozlarda uygulandığı zaman, hidrojen peroksit, üretilen serbest radikallerle reaksiyona girebildiği için süreç verimini düşürmektedir [8]. Ayrıca, sürecin işletme maliyetini de arttırmaktadır. Bu nedenle, hidrojen peroksit dozunun optimize edilmesi çok önemlidir. Bu çalışmada, hidrojen peroksit dozunun çamur parçalamaya etkisi, 10 – 150 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS aralığında incelenmiştir. Deneysel sonuçlar, Şekil 5 ve 6'da sunulmuştur.

Şekil 5'te de görüleceği gibi, hidrojen peroksit dozundaki artış ile çamurun parçalanması da gelişmiştir. 100 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS dozuna kadar çamurun parçalanması hızla artarken, hidrojen peroksit dozunun 100 ve 150 g/kg TS dozlarına yükseltilmesi çamurun parçalanmasında kayda değer bir artışa neden olmamıştır. 80 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS ve daha düşük dozlarda, Eşitlik 1'e uygun olarak reaksiyon ortamında hidrojen peroksit dozundaki artış, daha fazla OH• üretilmesine

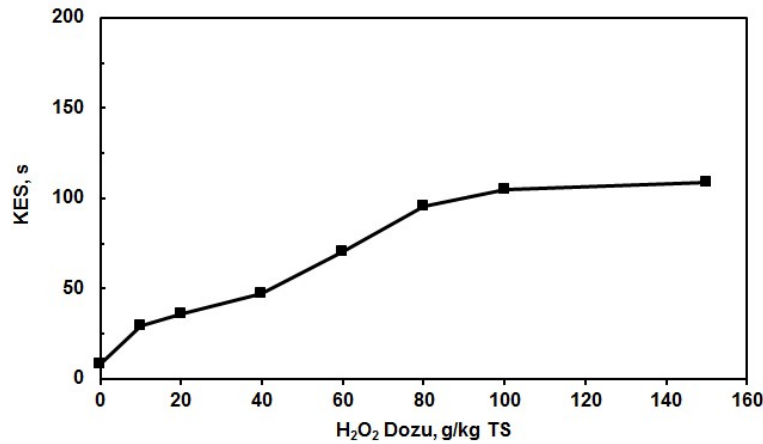
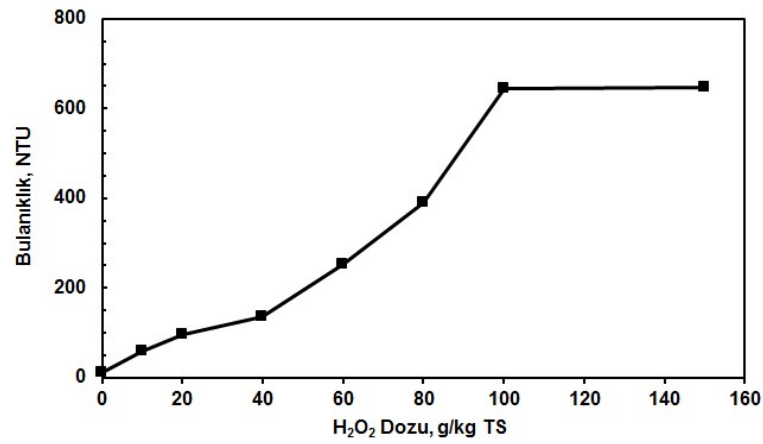
ve böylece çamur parçalama veriminin artmasına neden olmuştur. Böylece optimum hidrojen peroksit dozu 80 g/kg TS olarak belirlenmiştir. 100 ve 150 g/kg TS dozlarında ise şu iki olası nedenden ötürü, çamurun parçalanmasında sınırlı bir gelişme sağlanabilmiştir: (1) hidrojen peroksitin bu yüksek dozlarda kısmen radikal süpürücü etki gösterebilmiş olması [8], (2) hem hidrojen peroksitin hem de reaksiyon sonucunda üretilen OH• radikalının sıvı faza geçen hücre içi polimerik maddeleri okside edebilmesi [20]. Şekil 5 dikkatle incelendiğinde, hidrojen peroksitin dozu 100 ve 150 g/kg TS'ye yükseltildiğinde, hem çözünmüş fazdaki KOİ konsantrasyonunda kayda değer bir artış olmadığı hem de protein konsantrasyonunun hemen hemen sabit kaldığı görülmektedir. Bu sonuç da, aşırı yüksek dozlarda hidrojen peroksidin reaksiyon ortamına verilmesi, Fenton prosesi sonucunda dağıtılan flokların hücresel arası bağ materyallerinin ve parçalanmış hücrelerin katı fazından sıvı faza geçen protein gibi hücresel yapı maddelerinin okside olması ile sonuçlandığına işaret etmektedir [20].

Hidrojen peroksit dozunun bulanıklığa ve çamurun su verme özelliğine etkisi, Şekil 6'da gösterilmiştir. Grafikte gösterildiği gibi, 100 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS dozuna kadar çamurun bulanıklığı artmış ve su verme özelliği kötüleşmiştir. Hidrojen peroksit dozunun 150 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS'ye yükseltildiğinde ise, hem bulanıklık hem de KES parametrelerinde kayda değer bir değişim olmamıştır. Bunun nedeni ise, Şekil 5'te de sunulduğu gibi, 100 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS dozuna kadar çamurun sıvı fazındaki organik madde konsantrasyonu sürekli artarken, dozun 100 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS'den 150 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS'ye yükseltilmesi çamurun parçalanmasında kayda değer bir gelişmeye neden olamamasıdır. Yani, yukarıda da açıklandığı gibi, uygulanan aşırı yüksek dozlarda (100 ve 150 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS'den) reaksiyon ortamındaki fazla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> parçalanmış hücrelerden açıda çıkan protein gibi organik maddeleri okside etmesidir. Bunun sonucunda da çamurun su verme özelliğinde, 150 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg TS dozunda çamurun su verme özelliği daha fazla kötüleşmemiştir.





Şekil 5. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozunun çamur parçalamaya etkisi.



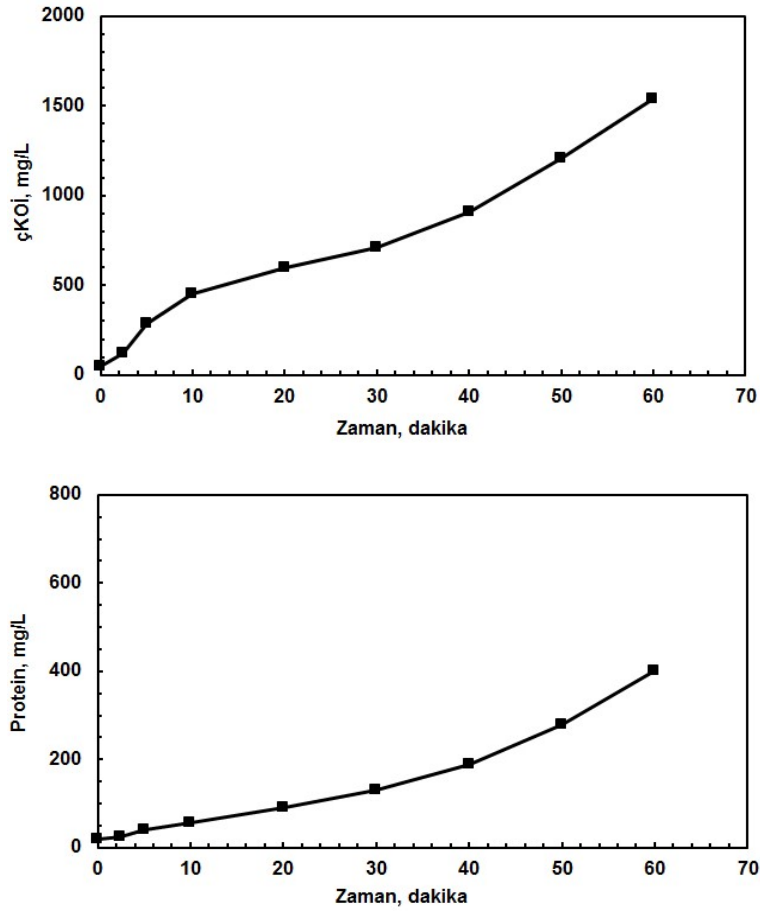
Şekil 6. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozunun çamurun fiziksel özelliklerine etkisi.

### 3.4. Kinetik çalışma

Kinetik çalışma, optimize edilmiş şartlarda yapılmıştır. Bu şartlar, başlangıç pH'ı 3, katalist demir dozu 8 g/kg TS ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozu ise 80 g/kg TS olarak belirlenmiştir. Kinetik çalışmada, çamurun parçalanması sonucunda sıvı fazda gerçekleşen çözülmüş KOİ ve protein konsantrasyonlarındaki artış dikkate alınmıştır. Optimize edilmiş şartlarda, 1 saatlik sürede sıvı fazdaki KOİ ve protein konsantrasyonları zamana bağlı olarak ölçülmüş ve sonuçlar Şekil 7'de sunulmuştur. Bu grafiklerde sunulan kinetik veriler, sıfırıncı, birinci ve ikinci derece kinetiklere uygulanmış ve kinetik modellerin sonuçları ise Tablo 2'de özetlenmiştir.



Tablo 2’de sunulan kinetik modellerin sonuçları, Fenton prosesi ile atık aktif çamurun parçalanma mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi için önemlidir. Bu tablodan da görülebileceği gibi, çKOİ konsantrasyonundaki artış için sıfırıncı derece kinetik modeli geçerli iken, dağıtılan floklardan ve parçalanmış hücrelerden kaynaklanan protein konsantrasyonu için ise birinci derece kinetik modeli geçerlidir.



Şekil 7. Zamana bağlı olarak çKOİ ve protein konsantrasyonlarındaki artışlar.

Tablo 2. Kinetik modellerin sonuçları.

Kinetik Modeller	Çözünmüş KOİ		Çözünmüş Protein	
	k	R <sup>2</sup>	k	R <sup>2</sup>
0. Derece	22,378	0,9758	5,7774	0,9438
1. Derece	0,0452	0,7521	0,0473	0,9645
2. Derece	-0,0002	0,3726	-0,0007	0,7218

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Çalışma kapsamında nano boyuttaki demir (2, 3) oksidi katalist demir kaynağı olarak kullanılan modifiye Fenton prosesi ile atık aktif çamurun parçalanması çalışılmıştır. Çalışmada Fenton prosesinin temel işletme parametreleri olan reaksiyon ortamının başlangıç pH’ı, katalist demir ve hidrojen peroksit dozlarının optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Buna göre optimize edilmiş şartlar şunlardır, pH = 3, [Fe<sup>2,3+</sup>] = 8 g/kg TS ve [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 80 g/kg TS. Optimize edilmiş bu şartlarda, zamana bağlı olarak çözünmüş fazdaki KOİ ve protein konsantrasyonlarının artışı da araştırılmıştır. Deneysel sonuçlara göre, çKOİ artışının sıfırıncı derece kinetik modeline ve çözünmüş protein artışının ise birinci derece kinetik modeline uyduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, nano boyuttaki demir (2, 3) oksit tozunu demir kaynağı olarak Fenton prosesinde atık aktif çamurun parçalanması için kullanılabilir olduğu belirlenmiştir.

#### 4. Teşekkür

Bu çalışma, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Yazarlar, proje desteklerinden ötürü [Proje No: ABAP20F32] Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürlerini sunmaktadırlar.

#### 5. Kaynakça

- [1] Wilson, C.A., Novak, J.T. Hydrolysis Of Macromolecular Components Of Primary And Secondary Wastewater Sludge By Thermal Hydrolytic Pretreatment, *Water Research*, 4489–4498, 2009.
- [2] Sari Erkan, H., Onkal Engin, G. A Comparative Study Of Waste Activated Sludge Disintegration By Electrochemical Pretreatment Process Combined With Hydroxyl And Sulfate Radical Based Oxidants, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4-8, 2020
- [3] Bagal, M.V., Gogate, P.R.. Wastewater Treatment Using Hybrid Treatment Schemes Based On Cavitation And Fenton Chemistry: A Review. *Ultrasonics Sonochemistry*,. 1-14, 2014.
- [4] Şahinkaya, S., Kalıpcı, E., Aras, S. Disintegration Of Waste Activated Sludge By Different Applications Of Fenton Process, Process Safety and Environmental Protection, Cilt: 9 3, s. 274–281, DOI: 10.1016/j.psep.2014.05.010.
- [5] Yıldız, S., Cömert, A. Fenton Process Effect On Sludge Disintegration, *International Journal of Environmental Health Research*, 30(1), 89-104, 2020.
- [6] Erden, G., Filibeli, A. Improving Anaerobic Biodegradability of Biological Sludges By Fenton Pre-Treatment: Effects On single Stage And Two-Stage Anaerobic Digestion. *Desalination*, 25, 58–63, 2010.
- [7] Şahinkaya, S., Yakut, S.M. A Comparative Study On Applicability Of Nano-Sized Iron(II, III)Oxide In Ultrasonicated Fenton Process, *Environmental Engineering Research*, 25(1), 36-42, 2020.
- [8] Neyens, E., Baeyens, J. A Review Of Classic Fenton's Peroxidation As An Advanced Oxidation Technique, *Journal of Hazardous Materials*, 98, 33-50, 2003.
- [9] APHA/AWWA/WEF. In: Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Eaton, A.D., 1998. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 20th ed., Washington D.C.: American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation.
- [10] Zhang, P., Zhang, G., Wang, W.. Ultrasonic Treatment Of biological Sludge: Floc Disintegration, Cell Lysis And inactivation, *Bioresour Technol*, 98, 207–210, 2007.
- [11] Pilli, S., Bhunia, P., Yan, S., Leblanc, R.J., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. Ultrasonic Pretreatment Of Sludge: A Review, *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 1–18, 2011.
- [12] Tahmasebian, S., Borghei, S.M., Torkaman, M., Goudarzi, H.H.. Influence Of Ultrasonic Cell Disintegration On Excess Sludge Reduction In A Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR), *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7 (2) , 2019.
- [13] Babuponnusami, A., Muthukumar, K., 2014. A Review On Fenton And Improvements To The Fenton Process For Wastewater Treatment, Journal of Environmental Chemical Engineering, Cilt: 2, s: 557-572, DOI: 10.1016/j.jece.2013.10.011.
- [14] Şahinkaya, S. Disintegration Of Municipal Waste Activated Sludge By Simultaneous Combination Of Acid And Ultrasonic Pretreatment, *Process Safety and Environmental Protection*, 93, 201-205, 2015.
- [15] Wang, F., Ji, M., Lu, S. Influence Of Ultrasonic Disintegration On The Dewaterability Of Waste Activated Sludge. *Environmental Progress*, 25, 257–260, 2006. .

- [16] Banu, J.R., M.Gayathri devi, Kumar, S.A., Kumar, G., DucNguyen, D., Saratale, G.D. Cost Effective Sludge Reduction Using Synergetic Effect Of Dark Fenton And Disperser Treatment, *Journal of Cleaner Production*, 207, 261-270, 2019.
- [17] Wang, N., Zheng, T., Zhang, G., Wang, P. A Review On Fenton-Like Processes For Organic Wastewater Treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4, 762-787, 2016.
- [18] Liang, J., Huang, J., Zhang, L., Sun, F., Ye, M., Liao, X., Huang, S., Suna, S. High-Level Waste Activated Sludge Dewaterability Using Fenton-Like Process Based On Pretreated Zero Valent Scrap Iron As An In-Situ Cycle Iron Donator, *Journal of Hazardous Materials*, 391, 2020.
- [19] Jessieleena, A.A., Priyanka, M., Saravanakumar, M.P., Comparative Study Of Fenton, Fe<sup>2+</sup>/NaOCl And Fe<sup>2+</sup>/(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> On Tannery Sludge Dewaterability, Degradability Of Organics And Leachability Of Chromium, *Journal of Hazardous Materials*, 402 2020..
- [20] Wang, B.B., Shi, X., Liu, X.T., Zou, J.T., Li, H.J., Peng, D.C., Hea, F.. Insight Into The Fenton-Induced Degradation Process Of Extracellular Polymeric Substances (EPS) Extracted From Activated Sludge, *Chemosphere*, 234, 318-327, 2019.



## Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

**Araştırma Makalesi (Research Article)**

Makale Doi: **10.17100/nevbiltek.878877**

Geliş Tarihi:12-02-2021

Kabul Tarihi:07-05-2021



### ***Lasiocampa trifolii* (Denis & Schiffermüller, 1775)'nin Dahili Bakteriye Çeşitliliği: Yeni Bir Olası *Okibacterium* sp.**

Ali SEVİM<sup>1\*</sup>, Elif SEVİM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kırşehir  
ORCID ID: 0000-0003-2472-599X

<sup>2</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kırşehir  
ORCID ID:0000-0002-6455-1333

#### Öz

Böceklerin bağırsak sistemlerinde bulunan mikroorganizmaların bu böceklerin sindirim ve beslenme süreçlerinde faydalı olduğu bilinmektedir. Bu anlamda, böceklerin bağırsak sistemindeki bakterilerin tanımlanması, özellikle ekonomik olarak zararlı veya faydalı böcek türlerinin besleyici ve sindirim özelliklerinin belirlenmesi açısından özellikle önemlidir. Bu çalışmada, *Lasiocampa trifolii*'nin (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera: Lasiocampidae) dahili bakteriye florası kültür bağımlı teknikler kullanılarak belirlenmiştir. Bu böceğin larvaları, çeşitli otlar ve çalılar, meşe, kavak ve süpürge çimi gibi bitki yapraklarıyla beslenmektedir. Larvalar Mayıs-Haziran (2019) aylarında Türkiye'nin Kırşehir bölgesinden toplanmış ve bakteri izolasyonu için laboratuvara getirilmiştir. Dört adet 3-4. instar larvalar bakteri izolasyonu için kullanılmıştır. İzole edilen bakteriler, 16S rRNA dizin analizi kullanılarak tanımlanmıştır. On bir bakteri izole edilmiş ve bunlar *Bacillus* sp. TT1, *Micrococcus luteus* TT2, *Arthrobacter* sp. TT3, *Corynebacterium* sp. TT4, *Arthrobacter agilis* TT5, *Micrococcus luteus* TT6, *Micrococcus luteus* TT7, *Arthrobacter* sp. TT8, *Okibacterium* sp. TT9, *Staphylococcus haemolyticus* TT10 ve *Bacillus* sp. TT11 olarak tanımlanmıştır. İzolat TT9'un, *Okibacterium* cinsi içinde yer alan yeni bir tür olarak değerlendirilebilmesi için daha ileri moleküler çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu bakteri bu çalışma ile şimdiye kadar herhangi bir hayvandan ilk kez izole edilmiştir. Elde edilen sonuçlar beslenme ve böcek hastalıkları açısından tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteri, böcekler, simbiyoz, *Okibacterium*, 16S rRNA

### **Internal bacterial diversity of *Lasiocampa trifolii* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera: Lasiocampidae): A possible novel *Okibacterium* sp.**

#### Abstract

Microorganisms in the intestinal systems of insects are known to be useful in the digestive and feeding processes of these insects. In this sense, the identification of bacteria in the intestinal systems of insects is especially important for determining the nutritional and digestive properties of economically harmful or useful insect species. In this study, the internal bacterial flora of *Lasiocampa trifolii* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera: Lasiocampidae) was determined based on culture-dependent technique. The larvae of this insect are fed with leaves of plants such as various herbs and shrubs, oak, poplar and broom grass. The larvae were collected from Kırşehir region of Turkey in May-June (2019) and brought to the laboratory for bacterial isolation. Four 3-4. instar larvae were used for bacterial isolation. The isolated bacteria were identified using 16S rRNA sequence analysis. Eleven bacteria were isolated, and these were identified as *Bacillus* sp. TT1, *Micrococcus luteus* TT2, *Arthrobacter* sp. TT3, *Corynebacterium* sp. TT4, *Arthrobacter agilis* TT5, *Micrococcus luteus* TT6, *Micrococcus luteus* TT7, *Arthrobacter* sp. TT8, *Okibacterium* sp. TT9, *Staphylococcus haemolyticus* TT10 and *Bacillus* sp. TT11. Further molecular studies are required for isolate TT9 to be considered as a new species within the genus *Okibacterium*. This has the first time been isolated from any animal so far. The results are discussed in terms of nutrition and diseases of insects.

**Keywords:** Bacteria, insects, symbiosis, *Okibacterium*, 16S rRNA

\* Sorumlu yazar: ali.sevim@ahievran.edu.tr

## 1. Introduction

The lifestyle of many insects is based on their relationship with microorganisms. For example, microorganisms in the intestinal systems of insects have many advantages, such as termites to develop in a wood or soil diet, to feed leaf-cutting ants to fungal gardens in plant nests, and to provide plant sap eating habits of many Hemipteran beetles (aphids, white flies, etc.). More generally, all insects investigated so far have built-in microorganisms, and while some taxons are not necessarily linked to microbiotes, there is also increasing evidence that these microorganisms affect many insect properties [1]. For example, symbiosis containing bacteria that cause nutrient yields have been examined especially in aphids, whiteflies and cicadas, and these bacteria have been shown to help provide essential amino acids (EAAs) and vitamin B to their hosts [2]. The capacity of using plant floem extract which has low essential amino acid content by aphids was attributed to *Buchnera aphidicola*, a symbiotic bacterium that can synthesize these nutrients [3]. In another example, the *Wolbachia* bacterium is the most common endosymbiotic bacteria that manipulates the reproduction of arthropod hosts to increase their spread throughout host populations. The *Wolbachia* infection causes parthenogenetic reproduction in many Hymenopteran insects and only female offspring provide production [4]. For Lepidopteran insects, bacteria in the intestines of these insects are known to produce digestive enzymes to help break down molecules such as cellulose, pectin and starch [5]. However, little is known about the detoxification of plant secondary metabolites by insect symbionts or their contribution to advocating of hosts against pathogens, parasitoids, or predators. In this sense, the identification of bacteria in the intestinal systems of insects is especially important for determining the nutritional and digestive properties of insect species.

At the same time, many species of entomopathogenic bacteria (especially *Bacillus thuringiensis*) are effectively used in the biological control of harmful insects. One of the most important of these bacteria is *B. thuringiensis* which is a soil bacterium with a very economical value since it is used as a biological control agent [6]. This bacterium produces proteins called as delta-endotoxins or *Cry* proteins in crystal form that show insecticidal activity against many insect pests. These bacteria are usually effective in the intestinal system of insects and eventually cause the death of the insect [7]. Therefore, the isolation of pathogenic bacteria during the identification of bacteria in the intestinal system of insects is also important. In addition, symbiotic bacteria of insects bring new approaches in the control of insect pests in the agriculture and forestry. Some studies have been shown to modify the symbiotic bacteria using genetic engineering techniques to express insect killing proteins or toxins (for example *Bt* toxins). This approach can be useful for the control of insect pests in many areas of entomological studies [8].

Therefore, it is thought that identifying symbiotic and pathogenic bacteria from different insects and determining the roles of these bacteria will be useful for future studies in increasing the production of beneficial insects and combating with insect pests. In this sense, as a first step, isolation and species determination of intestinal bacterial members should be performed correctly. For this purpose, *Lasiocampa trifolii* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera: Lasiocampidae) was selected as the model organism in this study since it has a very widespread distribution worldwide and its larvae can feed on various plants such as *Ammodendron*, *Caragana fruticosa*, *Astragalus* spp., *Medicago* sp. (Fabaceae), *Calligonum* (Polygonaceae), *Haloxylon* (Chenopodiaceae) and *Artemisia* sp. (Asteraceae) [38]. Total bacterial isolation was performed from the larvae of this insect and the isolated bacteria were identified based on 16S rRNA sequence analysis.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Collection of larvae

The larvae required for this study were collected from the various vegetation areas of Kırşehir (Turkey) and surrounding districts in May-June of 2019 and brought to the laboratory. The larvae collected in the field were placed in plastic boxes (25 × 25) together with the leaves of the plants where they were collected and brought to the laboratory for bacterial isolation as soon as possible. During the field studies, larvae with every growth stage were collected. After that, the larvae were kept in the laboratory for 2 days under laboratory conditions and bacteria were isolated from healthy larvae.

### 2.2. Identification of larvae

It is often difficult to identify insect specimens based on morphological characters using the larva stage of the insect. Therefore, in order to confirm the species determination of the larvae samples collected for this purpose, a partial sequence analysis of the cytochrome oxidase (subunit I) (*COI*) gene was performed and species identification was performed by phylogenetic analysis [9]. Total genomic DNA isolation was performed from the larvae samples using DNeasy Blood & Tissue Kit from QIAGEN (Qiagen, Germantown, USA). The DNAs obtained were stored at -20 °C until use. After genomic DNA isolation, approximately 620 bp of the cytochrome oxidase (subunit I) gene was amplified by PCR (Polymerase Chain Reaction). LCO1490-5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATGG-3' was used as forward primer and HCO2198-5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' was used as reverse primer [15]. PCR conditions were as follows: 1 µl template DNA (genomic), 5 µl 10 x PCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.3; 500 mM sterile KCl), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 U *Taq* DNA Polymerase, 0.25 mM forward primer, 0.25 mM reverse primer, 200 mM dNTPmix. The final mixture was completed to 50 µl with sterile distilled water. Reaction temperatures and times were as follows: initial denaturation at 95 °C for 5 min; 36 cycles of 94 °C for 1 min (for denaturation), 56 °C for 1 min (for primer binding) and 72 °C for 1 min (for polymerization); and final extension at 72 °C for 10 min. 5 µl of the PCR products obtained from PCR reactions were run together with the marker on 1% agarose gel and were imaged under UV light after staining with ethidium bromide dye (0.5 µg / ml). The sequence of the *COI* gene replicated from genomic DNA was performed by MACROGEN (The Netherlands). The obtained 620 bp sequence of *COI* gene was compared with the sequences in GenBank, similarity ratios were revealed, and species determination of the collected larvae were determined [10,11]. In addition, the partially sequenced *COI* gene was used in phylogenetic analysis using MEGA 7.1 software [12]. The partial *COI* gene sequence was compared with the insect species (especially lepidopteran insects) used in the study of Mutanen et al. (2010) [13].

### 2.3. Isolation of bacteria

Bacterial isolation for aerobic bacteria was performed from 3rd and 4th instars healthy larvae. For isolation, five larvae were used, and they were first surface sterilized with 70% ethyl alcohol, then washed 3 times with sterile distilled water. Then, the larvae were homogenized in 3 ml of nutrient broth. The obtained homogenate was filtered through two layers of sterile cheesecloth to remove insect debris. After that, the homogenate was diluted from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-8</sup> using sterile serum saline and 100 µl of these dilutions were plated on nutrient agar. The petri dishes were incubated at 30 °C for 2 days. At the end of the incubation period, the number of bacteria per larva was calculated by counting colonies. In addition, those colonies with different colors and morphologies were selected and transferred to another nutrient agar plate. Pure cultures of bacteria were stocked at -20 °C with 20% glycerol [14].

### 2.4. 16S rRNA gene sequencing

Total DNA extraction from the bacterial isolates obtained from a single colony for each was performed according to the method determined by Sambrook et al. (1989) [15]. The obtained DNA pellets were dissolved in 50 µl Tris-EDTA buffer and stored at -20°C until used in PCR. 16S rRNA genes from the isolated genomic DNAs were amplified with PCR using primer pairs of 27F-(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') and 1492R-(5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (MACROGEN). PCR ingredients were as follows: 1 µl genomic DNA, 5 ul 10 x PCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.3; 500 mM sterile KCl), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 U *Taq* DNA Polymerase, 0.25 mM forward primer, 0.25 mM reverse primer and 200 mM d NTPmix. After adding all ingredients, each mixture was completed to 50 µl with sterile distilled water. Reaction temperatures and times were as follows: initial denaturation at 95 °C for 5 min; 35 cycles of 94 °C for 1 min (for denaturation), 56 °C for 1 min (for primer binding) and 72 °C for 1 min (for polymerization); and final extension at 72 °C for 10 min. The obtained PCR products were analyzed as described above. The obtained 16S rRNA sequences, which are about 1,400 bp long, were compared to the sequences existed in GenBank, similarities between them were revealed and species determinations of the isolated bacteria were performed [10,11]. In addition, the sequenced 16S rRNA genes were used in phylogenetic analysis (comparing the closest bacteria in GenBank) using MEGA 7.1 software [12].

Finally, the 16S rRNA sequence of *Okibacterium* sp. TT9 was used to construct phylogenetic tree to compare it with the most closely related bacterial species in GenBank.

### 2.5. **Data analysis**

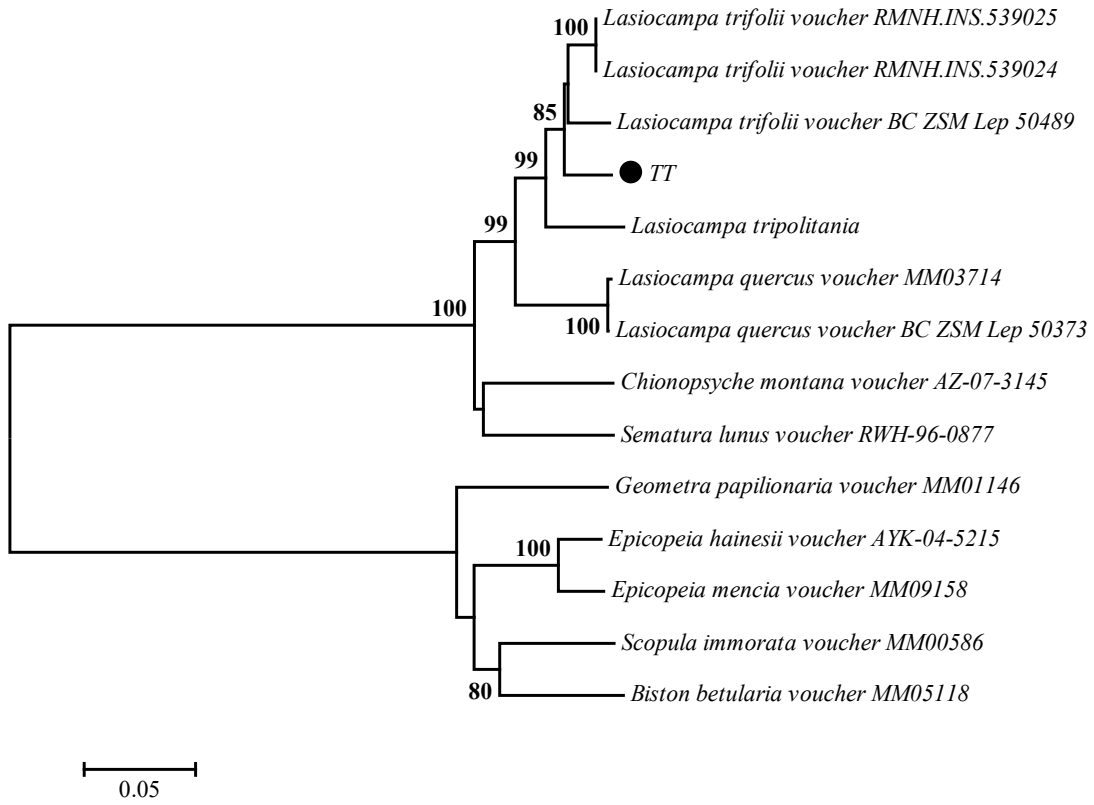
All obtained DNA sequences were arranged by the BioEdit (Hall 1999, version 7.09) software and the percentage similarities of the sequences with other bacterial species in GenBank were determined by BLAST search [10]. Cluster analysis of DNA sequences was similarly done using the ClustalW program packed in BioEdit, and the data obtained from this was used in neighbor-joining (NJ) analysis using MEGA 7.1 [12]. Alignment gaps have been evaluated as missing data. The reliability of the generated dendrograms was tested based on 1.000 repetitions using bootstrap analysis.

### 2.6. **GenBank Accession Numbers**

16S rRNA gene sequences of the bacterial isolates (from TT1 to TT11) have been deposited in GenBank under accession numbers of MT264951, MT264952, MT264953, MT264954, MT264955, MT264956, MT264957, MT264958, MT264959, MT264960 and MT264961, respectively.

## 3. **Results**

Cytochrome oxidase (subunit I) (*COI*) gene sequencing was used to identify *Lasiocampa trifolii* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera: Lasiocampidae) larvae. Total genomic DNA was extracted from healthy larvae and the partial sequence of cytochrome oxidase (subunit I) gene was sequenced and used to determine correct identification of the collected insect. It was found that the partial *COI* gene sequences was like *Lasiocampa trifolii* voucher BC ZSM Lep 60900 at the rate of 97,09% based on Blast search. Additionally, the partial *COI* sequence was compared with other Lepidopteran insects used in the study of Mutanen et. al. (2010) using phylogenetic analysis [13]. Based on the dendogram, it was clear that the collected larvae were *L. trifolii* (Figure 1).



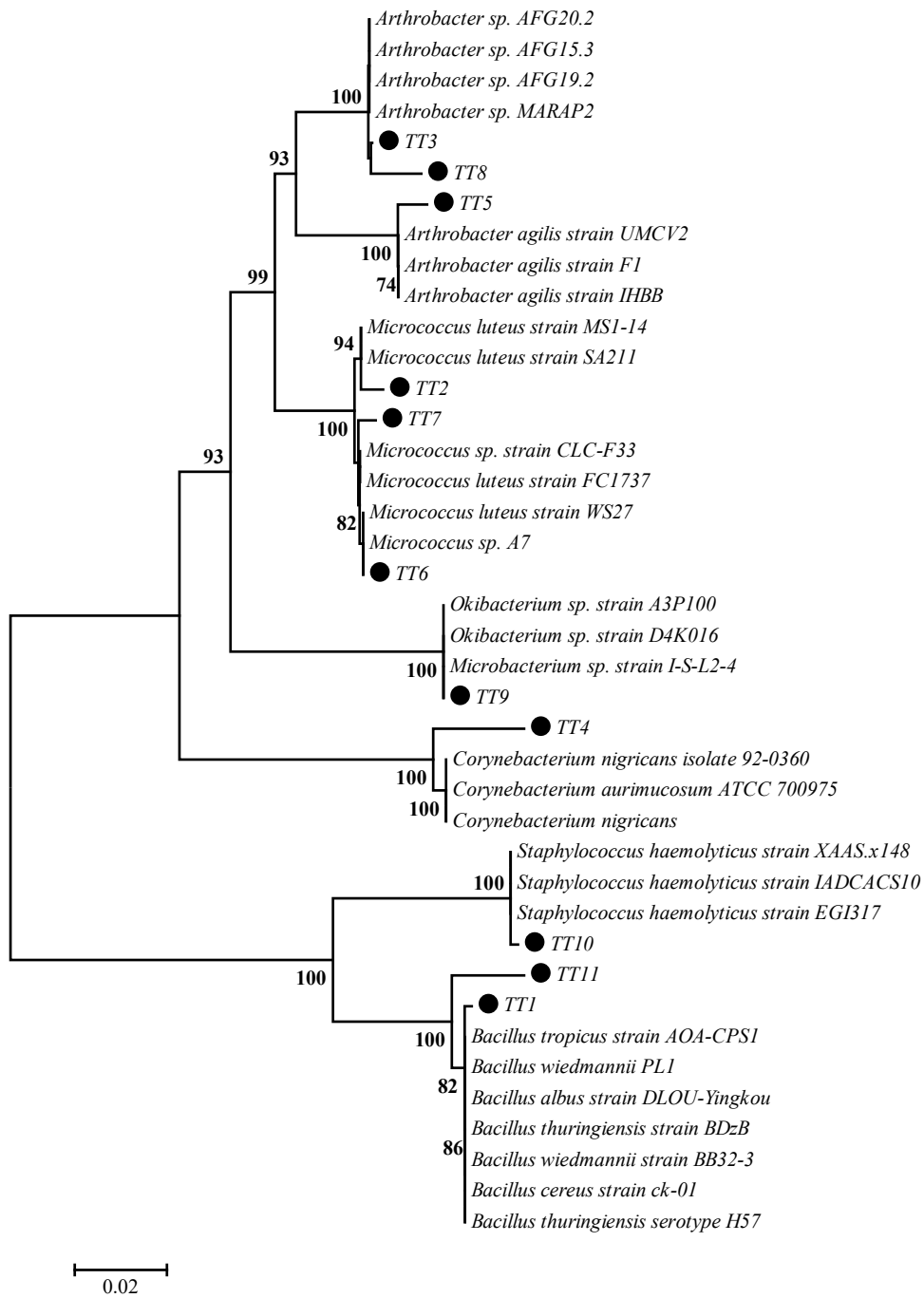
**Figure 1.** The N-J tree showing the taxonomic position of *Lasiocampa trifolii* based on the partial sequence of *COI* gene (620 bp long). Reference species were taken from the study of Mutanen et al. (2010) [1]. Bootstrap values were tested with 1.000 repetitions and 70% or higher were indicated. The scale below the dendrogram shows the degree of dissimilarity. *L. trifolii* sample was indicated by black circle.

Bacterial isolation from the larvae was made as mentioned above and the number of bacteria for per larva was calculated as  $18.75 \times 10^3$  cfu/larva. A total of 11 bacteria was isolated and identified based on 16S rRNA gene analysis. The sequenced 16S rRNA genes were used to compare with other bacterial species which are available in GenBank using Blast search (Table 1). Also, these sequences were used in phylogenetic analysis with the most closely related bacteria (Figure 2). Based on all these data, the bacterial isolates were identified as *Bacillus* sp. TT1, *Micrococcus luteus* TT2, *Arthrobacter* sp. TT3, *Corynebacterium* sp. TT4, *Arthrobacter agilis* TT5, *Micrococcus luteus* TT6, *Micrococcus luteus* TT7, *Arthrobacter* sp. TT8, *Okibacterium* sp. TT9, *Staphylococcus haemolyticus* TT10 and *Bacillus* sp. TT11.



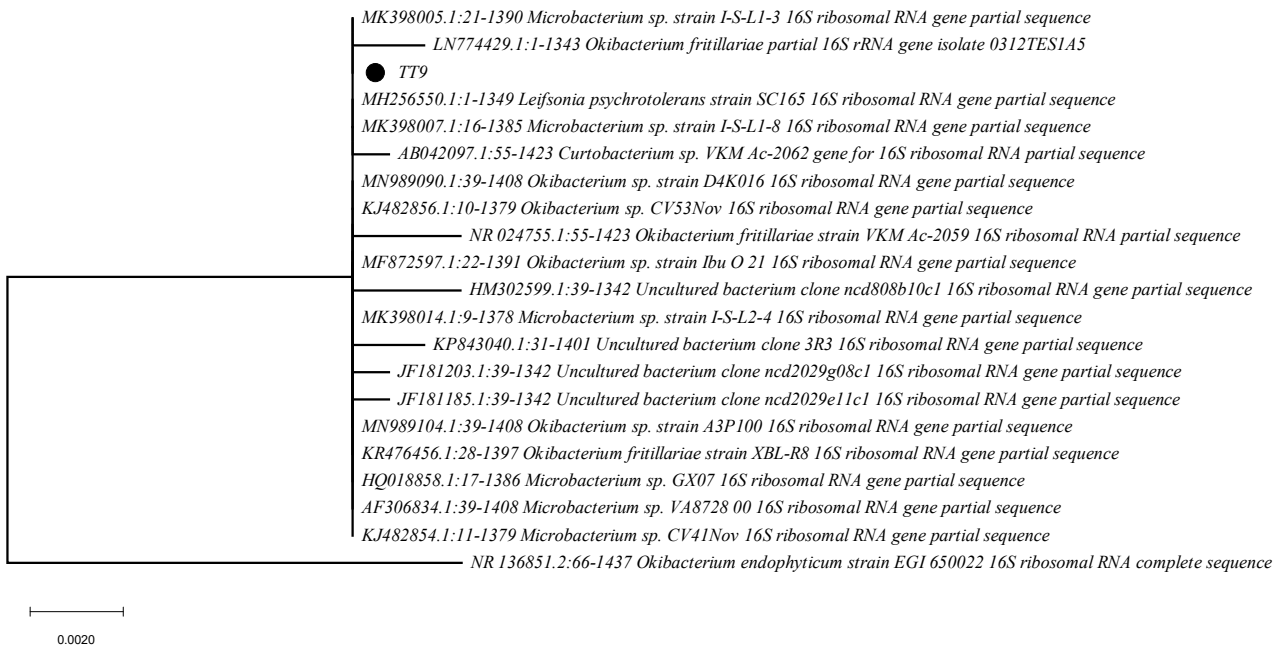
**Table 1.** Percentage similarities of the bacterial isolates with the most closely related bacteria in GenBank based on 16S rRNA gene sequences.

Strain	Species	GenBank ID	Query coverage (%)	Similarity (%)
TT1	<i>Bacillus tropicus</i> strain AOA-CPS1	CP049019	%100	%99,85
	<i>Bacillus wiedmannii</i> PL1	AP022643	%100	%99,85
	<i>Bacillus albus</i> strain DLOU-Yingkou	CP040344	%100	%99,85
	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain BDzB	MN203613	%100	%99,85
TT2	<i>Micrococcus luteus</i> strain NCCP	CP043842	%100	%99,54
	<i>Micrococcus luteus</i> strain MS1-14	MN238740	%100	%99,54
	<i>Micrococcus luteus</i> strain SA211	CP033200	%100	%99,54
TT3	<i>Arthrobacter</i> sp. MARAP2	KU882738	%99	%99,78
	<i>Arthrobacter</i> sp. AFG19.2	KT314143	%99	%99,86
	<i>Arthrobacter</i> sp. AFG20.2	KT314137	%99	%99,86
TT4	<i>Corynebacterium aurimucosum</i> ATCC 700975	CP001601	%100	%97,45
	<i>Corynebacterium nigricans</i>	AY227208	%100	%97,45
	<i>Corynebacterium nigricans</i> isolate 92-0360	AF537608	%100	%97,45
TT5	<i>Arthrobacter agilis</i> strain UMCV2	CP024915	%100	%99,19
	<i>Arthrobacter agilis</i> strain F1	MG279727	%100	%99,19
	<i>Arthrobacter agilis</i> strain IHBB	KR085842	%100	%99,19
TT6	<i>Micrococcus luteus</i> strain SA211	CP033200	%100	%99,93
	<i>Micrococcus luteus</i> strain SA211	CP033200	%100	%99,93
	<i>Micrococcus</i> sp. A7	AM235879	%100	%99,93
TT7	<i>Micrococcus</i> sp. strain CLC-F33	MH518215	%100	%99,42
	<i>Micrococcus luteus</i> strain SA211	CP033200	%100	%99,35
	<i>Micrococcus luteus</i> strain FC1737	MH665979	%100	%99,35
TT8	<i>Arthrobacter</i> sp. AFG19.2	KT314143	%100	%98,68
	<i>Arthrobacter</i> sp. AFG20.2	KT314137	%100	%98,68
	<i>Arthrobacter</i> sp. AFG15.3	KT314123	%100	%98,68
TT9	<i>Okibacterium</i> sp. strain A3P100	MN989104	%99	%100
	<i>Okibacterium</i> sp. strain D4K016	MN989090	%99	%100
	<i>Microbacterium</i> sp. strain I-S-L2-4	MK398014	%99	%100
TT10	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> strain EGI317	MN704523	%100	%99,57
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> strain XAAS.x148	MN187274	%100	%99,57
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> strain IADCACS10	MH973470	%100	%99,57
TT11	<i>Bacillus wiedmannii</i> strain BB32-3	MN314860	%99	%97,80
	<i>Bacillus cereus</i> strain ck-01	MK592620	%99	%97,80
	<i>Bacillus thuringiensis</i> serotype H57	DQ286352	%99	%97,80



**Figure 2.** The N-J tree showing the taxonomic position of the bacterial isolates from *Lasiocampa trifolii* based on the 16S rRNA sequence (approximately 1.400 bp long). Reference species were taken from GenBank based on Blast search. Bootstrap values were tested with 1.000 repetitions and 70% or higher were indicated. The scale below the dendrogram shows the degree of dissimilarity. *L. trifolii* isolates were indicated by black circle.

Based on the phylogenetic tree constructed using 16S rRNA gene sequence of TT9 and it is the most closely related bacteria species in GenBank, it is possible to say that this isolate seems to be a novel species (Figure 3).



**Figure 3.** The N-J tree showing the taxonomic position of *Okibacterium* TT9 based on the 16S rRNA sequence (approximately 1.400 bp long). Reference species were taken from GenBank based on Blast search (first twenty closely related bacteria were selected). Bootstrap values were tested with 1.000 repetitions and 70% or higher were indicated. The scale below the dendrogram shows the degree of dissimilarity. TT9 was indicated by black circle.

#### 4. Discussion and Conclusion

Insects are experimentally tractable and cost-effective model systems to investigate animal-bacterial interactions. So far, microorganisms living in symbiotic relationship with insects have been shown that they play an important role in nutrition, development, and evolution of their hosts. Some of these microorganisms help their hosts use weak digestible foods, gain resistance to biotic and abiotic stress conditions, and to regulate different metamorphosis events. Based on the some studies, some of the endosymbionts contained in insects have been shown that they were left from ancient infections [16]. In addition to symbionts associated with insects, there are many types of pathogenic bacteria that cause the death of insects by damaging insects' intestinal system [17]. Some of these bacteria (especially *Bacillus thuringiensis*) are used as environmentally friendly challenges to insects that cause harm in agriculture and forestry. For this purpose, *L. trifolii* which feeds on various oaks, beech, poplar, and single-year herbaceous plants, was selected as a model organism. Both endosymbiont and pathogenic bacteria in the intestinal system of this insect were isolated and identified.

The *Bacillus* genus contains phenotypically large, Gram-positive (some species Gram-variable), endospore-forming, aerobic or facultative anaerobic and rod-shaped bacteria. Advances in molecular biology have shown a high degree of phylogenetic heterogeneity in this genus. Members of this genus are widely found in many environments and often stand out as contaminants in a laboratory environment. The most important pathogenic types of this genus, which contains approximately 200 species, are *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. subtilis* and *B. thuringiensis* [18]. Among these species, *B. thuringiensis* are especially important for biological control of insect pests [19]. In this study, a total of two *Bacillus* sp. (TT1 and TT11) was isolated, and these two isolates were found to be similar with *B. thuringiensis* with 99% based on 16S rRNA gene sequence. However, more detailed tests are needed to distinguish the species within the *Bacillus* genus. In addition, it is necessary to determine whether these two isolates contain insecticidal crystal proteins or not. Therefore, more detailed tests are needed to determine the potential of TT1 and TT11 isolates in terms of biological control.

The *micrococcus* genus contains Gram-positive, non-motile, non-spore forming bacteria that form sphere-shaped tetrads or irregular communities. Many species produce carotenoid pigments [20]. Members of this genus are found in many habitats, from soil to water. They are often also found in the skin flora of other animals and humans [21]. There are many studies showing that some species of this genus were isolated from different insects [22,23]. In this study, three *Micrococcus* (*Micrococcus luteus* TT2, *Micrococcus luteus* TT6 and *Micrococcus luteus* TT7) were isolated. These studies show that some members of this gene are closely related to insects. However, further studies based on host-microorganism relationship are needed to determine the role of these bacteria in insects.

The genus of *Arthrobacter* is a very wide genus and contains very common species in nature. Due to the versatility of their diet, they can often be easily isolated from soil, sewerage, food and some other environments [24]. There are also some studies showing the isolation of some members of this genus from various insects [25]. Some members of this group are also known to break up agricultural pesticides [26]. Although there have been many studies on this genus, studies based on their roles in insects are very limited.

*Corynebacterium* genus is often composed of rod-shaped, Gram-positive, non-motile, non-spore forming, aerobic and catalase positive members. Members of this group are located in the normal skin flora of many hosts and mucous membranes, but can also be found in other ecological environments such as soil and water [27]. The members involved in this genus are classified as pathogenic, opportunistic, and saprophytic. Some members ( such as *C. diphtheriae* and *C. pseudotuberculosis*) cause disease in humans and animals [28]. In this study, one *Corynebacterium* sp. (TT4) was isolated from *T. trifolii*. Although there are some studies showing isolation of some members of this genus from insects, there is a limited information about their roles in insects [29].

*Okibacterium* which was placed in Microbacteriaceae is composed of Gram-positive and non-spore-forming bacteria. This genus was first defined in 2002 by Evtushenko et al. (2002) and includes only two species identified so far (*O. fritillariae* and *O. endophyticum*) [30,31]. These two species were isolated from plant samples (roots and seeds) and these limited studies may indicate that these bacteria are endophytically associated with plants. In this study, one *Okibacterium* sp. (TT9) was isolated, and this is the first study showing the isolation of this genus from any animals or insects. According to the phylogenetic tree, it seems that the genus of *Okibacterium* may include some undefined species and it may need a complete molecular systemic revision. With advanced molecular identification techniques, it is necessary to determine whether this isolate is a new species or not.

*Staphylococcus haemolyticus* which is a member of coagulase negative staphylococci and is found in human's normal skin flora. This bacterium can also be colonized in primates, pets and is known as a well-known opportunistic pathogen [32-35]. In some studies, performed so far, various types of *Staphylococcus* have been isolated from many insect samples [26,36,37]. Based on these studies, it should be considered that members of the *Staphylococcus* genus are closely related to insects and are involved in normal intestinal flora of insects. When evaluated in terms of animal micro-ecology, it can be said that the nature, quantity, and conditions of natural intestinal flora in insects are closely related to the feeding of the insect and digestive physiology. In this study, one *Staphylococcus haemolyticus* (TT10) was isolated and is a bacterium which is important for human health. Although it is unusual for such bacteria to take part in the intestinal flora of insects, it should be kept in mind that healthy insect microbiota may contain pathogens when insects are considered as vectors of certain human diseases. However, further studies strictly are needed to prove this.

In this study, a total of 11 bacterial strain was isolated from *L. trifolii* and they were characterized based on 16S rRNA sequence analysis. The obtained and defined bacterial strains were discussed in terms of nutrition, physiology, and diseases of insects. Studies are required to identify some bacterial strains obtained from this study at the species level using advanced molecular techniques (especially *Okibacterium* sp. TT9) and to determine the role of these bacteria in insects.

## 5. Acknowledgements

We would like to thank Kırşehir Ahi Evran University (BAP unit) for supporting this study (Project number: ZRT.A4.19.023).

## 6. References

- [1] Douglas A.E., "The Molecular Basis of Bacterial-Insect Symbiosis" *Journal of Molecular Biology*, 426 (23):3830-3837, 2014.
- [2] Ankrah N.Y.D., Luan J., Douglas A.E., "Cooperative Metabolism in a Three-Partner Insect-Bacterial Symbiosis Revealed by Metabolic Modeling" *Journal of Bacteriology*, 199 (15), 2017.
- [3] Gündüz E.A., Douglas, A.E., "Symbiotic bacteria enable insect to use a nutritionally inadequate diet" *Proceedings of the Royal Society: B-Biological Sciences*, 276:987-991, 2008.
- [4] Cerveau N., Gilbert C., Liu C., Garrett R.A., Greve P., Bouchon D., Cordaux R., "Genomic context drives transcription of insertion sequences in the bacterial endosymbiont *Wolbachia wVulC*" *Gene*, 564 (1):81-86, 2015.
- [5] Bourtzis K., Miller, T.A., "Insect Symbiosis" *CRC Press*, New York, USA, 2003.
- [6] Ben-Dov E., "*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins" *Toxins (Basel)*, 6 (4):1222-1243, 2014.
- [7] Khetan S.K., "Microbial Pest Control" *Marcel Dekker Inc.*, New York, USA, 2001.
- [8] Beard C.B., Durvasula R.V., Richards F.F., "Bacterial symbiosis in arthropods and the control of disease transmission" *Emerging Infectious Disease*, 4 (4):581-591, 1998.
- [9] Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R., "DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates" *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3 (5):294-299, 1994.
- [10] Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J., "Basic Local Alignment Search Tool" *Journal of Molecular Biology*, 215 (3):403-410, 1990.
- [11] Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Clark K., Lipman D.J., Ostell J., Sayers E.W., "GenBank" *Nucleic Acids Research*, 40 (D1):D48-D53, 2012.
- [12] Kumar S., Stecher G., Tamura K., "MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets" *Molecular Biology Evolution*, 33 (7):1870-1874, 2016.
- [13] Mutanen M., Wahlberg N., Kaila L., "Comprehensive gene and taxon coverage elucidates radiation patterns in moths and butterflies" *Proceedings of the Royal Society: B-Biological Sciences*, 277 (1695):2839-2848, 2010.
- [14] Sevim E., Celebi O., Sevim A., "Determination of the bacterial flora as a microbial control agent of *Toxoptera aurantii* (Homoptera: Aphididae)" *Biologia*, 67 (2):397-404, 2012.
- [15] Sambrook J.F.E., Maniatis T., "Molecular cloning" *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, New York, USA, 1989.
- [16] Moran N.A., Tran P., Gerardo N.M., "Symbiosis and insect diversification: An ancient symbiont of sap-feeding insects from the bacterial phylum Bacteroidetes" *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (12):8802-8810, 2015.
- [17] Ruiu L., "Insect Pathogenic Bacteria in Integrated Pest Management" *Insects*, 6 (2):352-367, 2015.
- [18] J.E. Thwaite H.S.A., "*Bacillus*: Anthrax; food poisoning" *Medical Microbiology (Eighteenth Edition)*. Elsevier, 2012.

- [19] Hofte H., Whiteley H.R., "Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*" **Microbiology Reviews**, 53 (2):242-255, 1989.
- [20] Kocur M., Kloos W.E., Schleifer K.H., "The Genus *Micrococcus*" *The Prokaryotes Springer*, New York, USA, 2017.
- [21] Betts G., "Other spoilage bacteria. Food Spoilage Microorganisms" *Woodhead Publishing Ltd.*, Sawston, UK, 2006.
- [22] Demirci M., Sevim E., Demir I., Sevim A., "Culturable bacterial microbiota of *Plagioderia versicolora* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) and virulence of the isolated strains" **Folia Microbiologica** 58 (3):201-210, 2013.
- [23] Çelebi Ö., Sevim E., Sevim A., "Investigation of the internal bacterial flora of *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae) and pathogenicity of the flora members" **Biologia**, 69 (10), 2014.
- [24] Lipski A., "*Arthrobacter* spp. in Milk and Milk Products" Reference Module in Food Science. *Elsevier*, 2020.
- [25] Liu W., Ye L., Guo S., Yin H., Lei C.L., Wang X.P., "Association between gut microbiota and diapause preparation in the cabbage beetle: a new perspective for studying insect diapause" **Scientific Reports**, 6 (38900), 2016.
- [26] Malele I., Nyingilili H., Lyaruu E., Tauzin M., Bernard Ollivier B., Cayol J. L., Fardeau M. L., Geiger, A., "Bacterial diversity obtained by culturable approaches in the gut of *Glossina pallidipes* population from a non sleeping sickness focus in Tanzania: preliminary results" **BMC Microbiology**, 18(Suppl 1):164, 2018.
- [27] Dorella F.A., Pacheco L.G., Oliveira S.C., Miyoshi A., Azevedo V., "*Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence" **Veterinary Research**, 37 (2):201-218, 2006.
- [28] Groman N., Schiller J., Russell J., "*Corynebacterium ulcerans* and *Corynebacterium pseudotuberculosis* responses to DNA probes derived from coryneophage beta and *Corynebacterium diphtheriae*" **Infection and Immunity**, 45 (2):511-517, 1984.
- [29] Anjum S.I., Shah A.H., Aurongzeb M., Kori J., Azim M.K., Ansari M.J., Bin L., "Characterization of gut bacterial flora of *Apis mellifera* from north-west Pakistan" **Saudi Journal of Biological Sciences**, 25 (2):388-392, 2018.
- [30] Evtushenko L.I., Dorofeeva L.V., Krausova V.I., Gavrish E.Y., Yashina S.G., Takeuchi M., "*Okibacterium fritillariae* gen. nov., sp nov., a novel genus of the family Microbacteriaceae" **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, 52:987-993, 2002.
- [31] Wang H.F., Zhang Y.G., Li L., Liu W.H., Hozzein W.N., Chen J.Y., Guo J.W., Zhang Y.M., Li W.J., "*Okibacterium endophyticum* sp nov., a novel endophytic actinobacterium isolated from roots of *Salsola affinis* C. A. Mey" **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, 107 (3):835-843, 2015.
- [32] De Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whitman W.B., "The Firmicutes vol 3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" *Springer-Verlag*, New York, USA, 2009.
- [33] de Silva G.D.I., Kantzanou M., Justice A., Massey R.C., Wilkinson A.R., Day N.P.J., Peacock S.J., "The ica operon and biofilm production in coagulase-negative *Staphylococci* associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit" **Journal of Clinical Microbiology**, 40 (2):382-388, 2002.
- [34] Fischetti A.N., Ferretti J.J., Portnoy D.A., Rood J.I., Lina G., Etienne J., Vandenesch F. "Biology and pathogenicity of *Staphylococci* other than *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*" Gram-positive pathogens" *ASM Press*, Washington, D.C, 2000.

- [35] de Allori M.C.G., Jure M.A., Romero C., de Castillo M.E.C., "Antimicrobial resistance and production of biofilms in clinical isolates of coagulase-negative *Staphylococcus* strains" ***Biological and Pharmaceutical Bulletin***, 29 (8):1592-1596, 2006.
- [36] Ignasiak K., Maxwell A., "Antibiotic-resistant bacteria in the guts of insects feeding on plants: prospects for discovering plant-derived antibiotics" ***BMC Microbiology***, 17. doi:ARTN 223, 2017.
- [37] He C., Nan X.N., Zhang Z.Q., Li M.L., "Composition and diversity analysis of the gut bacterial community of the Oriental armyworm, *Mythimna separata*, determined by culture-independent and culture-dependent techniques" ***Journal of Insect Sciences***, 13, 2013.
- [38] Zolotuhin V.V., Didmanidze E.A., "The Lasiocampidae (Lepidoptera) of Georgia and neighbouring countries" ***Entomofauna Zeitschrift Für Entomologie***, 30(19): 301-328, 2009.



## Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi

### Araştırma Makalesi (Research Article)

Makale Doi: 10.17100/nevbittek.917256

Geliş Tarihi:16-04-2021

Kabul Tarihi:01-06-2021



## Çinko Nanopartiküllerinin (ZnO NP) Biyosentezi, Karakterizasyonu ve Anti- Bakteriye Etkisinin İncelenmesi<sup>A</sup>

Kevser GÜNAY<sup>1</sup> Zeliha LEBLEBİCİ<sup>2\*</sup>, Fatih Doğan KOCA<sup>3</sup>,

<sup>1</sup>Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
ORCID ID:0000-0001-8650-0281

<sup>2</sup>Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü  
ORCID ID:0000-0002-6127-3809

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
ORCID ID:0000-0001-9774-3019

### Özet

Bitki özütleri ile sentezlenen metal nanopartiküllerin diğer sentez yöntemlerine kıyasla üretimi kolay, güvenilir ve ucuz bir yöntemdir. *Nasturtium officinale* (su teresi) ağır metalleri akümüle etme yeteneğine sahiptir. Bu çalışmada, *Nasturtium officinale* özütü kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin (NP) biyosentezi, karakterizasyonu ve antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Nanopartiküllerin karakterizasyonu X-ışını analizi (XRD), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi (FT-IR), Yüzeysel yük ölçümü (ZETA), Taramalı elektron mikroskobu (SEM) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. *Nasturtium officinale* özütü ile biyosentezi gerçekleştirilen ZnO NP'nin yüzeysel yükü -14 mV'de belirlenmiştir. ZnO NP'nin Taramalı elektron mikroskobu ile parçacık boyutu ortalama 90 nm olarak bulunmuştur. İlk kez bu çalışmada *N. officinale* özüt tabanlı ZnO NP'nin *Vibrio parahaemolyticus* ve *Aeromonas hydrophila* bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri, minimal inhibe edici konsantrasyon (MİK) yöntemiyle ölçülmüştür. Antibakteriyel aktivite ölçümlerinde, sentezlenen nanopartiküllerin *V. parahaemolyticus* ve *A. hydrophila* bakteriyel aktivite inhibisyonu sağladığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çinko Nanopartikülü (ZnO NP); Biyosentez; *Nasturtium officinale*; SEM; Anti-Bakteriyel etki

## Biosynthesis, Characterization and Anti-bacterial Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles

### Abstract

Production of metal nanoparticles synthesized with plant extracts is easy, reliable and inexpensive method. *Nasturtium officinale* (watercress) plant has the ability to accumulate heavy metals. In this study, green synthesis, characterization and antibacterial effect of ZnO nanoparticles were investigated using *Nasturtium officinale* extract. Characterization of nanoparticles was carried out by X-ray analysis (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy analysis (FT-IR), Surface charge measurement (ZETA), Scanning electron microscope (SEM) method. Biosynthesis with *Nasturtium officinale* extract, surface charge of ZnO NP at -14 mV. Particle size of ZnO NP was found to be approximately 90 nm by scanning electron microscopy. For the first time in this study, the antibacterial activities of *N. officinale* extract-based ZnO NP on *Vibrio parahaemolyticus* and *Aeromonas hydrophila* bacteria were measured by the minimal inhibitory concentration (MIC) method. In antibacterial activity measurements, it has been determined that the synthesized nanoparticles provide bacterial activity inhibition in *V. parahaemolyticus* and *A. hydrophila*.

**Keywords:** Zinc Nanoparticles (ZnO NP); Biosynthesis; *Nasturtium officinale*; SEM; Anti-bacterial effect

\* Sorumlu yazar e-mail: [zleblebici@nevsehir.edu.tr](mailto:zleblebici@nevsehir.edu.tr)

<sup>A</sup>. Bu makale yüksek lisans tezinden üretilmiştir.



## 1. Giriş

Son zamanlarda bitkilerin birçok alanda ve hastalıkları tedavi yöntemlerinde kullanılması büyük önem kazanmıştır. Bitkilerin insan sağlığı açısından çay, baharat ve besin olarak tüketildiği bilinmektedir [1]. Bunların yanı sıra bazı bitkilerden ilaç yapımı söz konusudur. Bitkilerin kimyasal olmayan tekniklerle yağlarını ve özlerini çıkararak kullanımı gerçekleştirilir. Bu bitkilerin bazılarında merhem yapılarak yaraların tedavilerinde kullanılmaktadır [2].

Son yıllarda popülaritesi gittikçe artan nanoteknoloji, 1-100 nm boyutlarında materyaller geliştirmeyi hedeflemektedir. Nanoteknoloji insan hayatında büyük gelişmeler gösteren ve hızla büyüyen bir alandır. Bilim ve teknoloji alanlarında nano yapıları yeni malzemeler üretmektedir [3]. Geleceğin teknolojisi olarak bilinen nanoteknoloji, insan yararına uygun hale getirilmiş nano ölçekler yüzey alanı/ hacim oranına bağlı olarak farklı manyetik, optik, elektriksel, kimyasal ve fiziksel özelliklerde materyallerin oluşumu gerçekleştirilmektedir [4]. Nanoteknoloji, malzemelerin ileri derecede küçültülerek yeni teknolojilerin oluşturulması sağlanmıştır. Bu sayede, uzun yıllar dayanabilen, temiz, güvenilir, akıllı malzemeler oluşmaktadır. Bu üretilen ürünler, tarımda, ulaşımda, evde, tıpta, endüstride, tekstilde, biyoteknolojide ve iletişimde kullanılmaktadır. Nano yapıları malzemelere örnek olarak, nanoteller, nanokristaller, nanotüpler ve nanopartiküller verilebilmektedir [5].

Gümüş (Ag), altın oksit (AuO), çinko oksit (ZnO), titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), bakır oksit (CuO), seryum oksit (CeO<sub>2</sub>) gibi nano skalalarının arasında çinko oksit (ZnO) en yaygın kullanım alanına sahip metalik NP'ler arasındadır. Nano yapıları çinko oksit (ZnO), optik ve elektriksel özelliklere sahiptir [6-7]. Sentezlenen nanopartiküllerin çok fazla alanda, çeşitli çalışmalarda farklı aktiviteleri bulunmaktadır. Çeşitli kanser hücrelerine ZnO nanopartiküllerinin sitotoksik etki gösterdiği bilinmektedir [8-9]. En iyi bilinen ilaç taşıyıcı sistemler olan ZnO nanopartiküller biyoyumluudur. Partikül boyutu 100 nm'den büyük olan ZnO nanopartikülleri ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), ilaç dağıtımını kullanarak kullanımda destek sağlamaktadır [10].

Nanopartikül sentez yöntemleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik sentez yöntemlerinden oluşmaktadır. Fiziksel yöntemde nanopartikül sentezi pahalı malzemelerle gerçekleşmekte, kimyasal yöntemde ise nanopartikül sentezi gerçekleşirken çevreye ve canlılara ciddi zararlar vermektedir. Bu yüzden daha ucuz ve çevre dostu olan biyolojik sentez yöntemi tercih edilmektedir. Biyolojik kaynaklar olarak bilinen bitkiler, mantarlar, algler ve bakteriler biyolojik sentezde kullanılmaktadır [11-12]. Nanopartiküllerin son yıllarda biyolojik olarak kullanımı fiziksel ve kimyasal metotlara göre daha avantajlıdır. Bitki ekstraktlarının kullanımı basit, ucuz ve çeşitli alanlarda uygulanması nanopartikül sentezi için oldukça önemlidir. Çevre dostu, maliyeti düşük ve fazla miktarda NP sentezi için avantajlı bir yöntemdir. Bitki kökenli malzemeler kullanılarak biyojenik sentez işlemi gerçekleştirilmektedir [13]. Bitki kökenli malzemeler sahip oldukları doğal antibakteriyel etkinliklerinden dolayı sentez de kullanıldıklarında, sentezlenen malzemenin antibakteriyel etkinliğini arttırmaktadırlar. Doğal indirgeyici ajan olarak NP'lerin sentezinde bitki kullanımı son yıllarda popüler hale gelmiştir. Bitki özütü, nanopartiküllerin yapısal özelliklerini etkilemekte ve nanopartikül sentez sürecinde stabilize edici, indirgeyici olarak kullanılmaktadır [14].

C vitamini, folik asit, iyot, protein, demir, kalsiyum ve kükürt gibi bileşikler bakımından zengin olan su teresinin farmakolojik potansiyeli de yüksektir. Ayrıca içeriğinde çok miktarda vitamin ve mineral bulunmaktadır [15]. Düşük kalorili ve yeterli lif kaynağı olan su teresi yüksek kaliteli ve çok faydalı olan bitkisel bir besindir. Günümüz koşullarında bitkiler antioksidan özelliği göstermektedir. Primer metabolitler olarak adlandırılan moleküller bitkiler için yaşamsal aktiviteyi gerçekleştirilmektedir. Primer metabolitlerin gıda ve ilaç sanayisinde kullanımı söz konusudur. *Nasturtium*

*officinale* R.Br. (su teresi), ekonomik ve ekolojik öneme sahip tatlı su kaynaklarında yaşayan tıbbi bir bitkidir. Asya ve Avrupa'dan köken alan su teresi besin olarak insanlar tarafından tüketilmektedir [16-17]. *Nasturtium officinale*, hepatit, balgam söktürücü, grip, astım, tüberküloz, şeker hastalığı, kanser gibi birçok hastalığın tedavilerinde su teresinin yapraklarının kullanıldığı bilinmektedir [18]. Daha önceki çalışmalarda *N. officinale* özütünde bulunan alkaloid, fenol bileşenler, tanin grupları, flavanoid ve terpenoidlerin molibden oksit nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak rol oynadığı bildirilmiştir[19].

Çalışmamızda antioksidan özelliğine sahip olan *Nasturtium officinale* ekstraktı kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin sentezi biyolojik sentez yolu ile gerçekleştirilmiştir. Daha önce *N. officinale* özütü ile ZnO sentezi gerçekleştirilmiş [20], ancak bu çalışmada NaOH kullanılarak pH ayarlamasının yapılmaması ve test edilen bakterilerin farklı olması yönüyle özgündür. Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyon çalışmaları Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), Taramalı elektron mikroskobu (SEM), Yüzey yükü ölçümü (ZETA), X-ışını spektroskopisi (XRD) kullanılarak yapılmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin *Vibrio parahaemolyticus* ve *Aeromonas hydrophila* üzerindeki anti-bakteriyel etkileri incelenmiştir.

## 2. Materyal- Metot

### 2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması

Nevşehir'in Gülşehir İlçesi, Eskiyaılacık, Kapadokya Havaalanı Yolu üzeri, Çakırcan Alabalık Tesisleri yanındaki sulak alandan (38°46'35.5"N 34°33'30.4"E) *Nasturtium officinale* bitkisi toplanmıştır. Toplanan örnekler Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Araştırma Laboratuvarı'nda toz kalıntılarında arındırmak için birkaç kez distile su ile yıkanarak 10 gün süre ile kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan *Nasturtium officinale* yaprakları öğütüldükten sonra çalışmalarda kullanılmıştır.

### 2.3. Çinko Oksit Nanopartiküllerinin Sentezi

*Nasturtium officinale* ekstraktı ile çinko nitrat ( $Zn(NO_3)_2$ ) solüsyonu ZnO NP sentezi için kullanılmıştır. Bir saat süre boyunca 60°C'de 10 gr kurutulmuş bitki yaprağı 100 ml distile su içerisinde ısıtılarak ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğutulan solüsyon filtre kâğıdı ile süzölmüştür. Distile su ile 250 ml' ye tamamlanan çözeltiye  $Zn(NO_3)_2$  solüsyonu eklenerek 150°C' de 5-6 saat süre boyunca karıştırılmıştır. Bu işlem sonucunda solüsyon renginin koyulaştığı görölmüştür. Daha sonra 4500 rpm'de 15 dk ile 2 defa santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra elde edilen süpernatant kısmı 400°C' de 2 saat boyunca yakılmıştır [21]. Yakma işleminden sonra toz halinde partiküller elde edilmiştir. Elde edilen nanopartiküller çalışmalarda kullanılmak üzere ependorf tüplerde muhafaza edilmiştir.

### 2.4. Çinko Oksit Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Sentezlenen ZnO NP'nin oluşumu, partikül şekli ve boyutu SEM (Leo 440 computer controlled digital), her bir kristalin karakteristik kırınımı XRD (Bruker AXS D8 advance model), fonksiyonel grup analizi FT-IR (Perkin Elmer 400)ve büyüklük dağılımları ve yüzey yükü ZETA (Zetasizer Nano ZS90) ile karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin antibakteriyel etkileri çalışmada sentezlenen nanopartiküllerin referans bakterilere karşı agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla *E vibrio parahaemolyticus* ve *Aeromonas hydrophila* bakterileri kullanılmıştır.

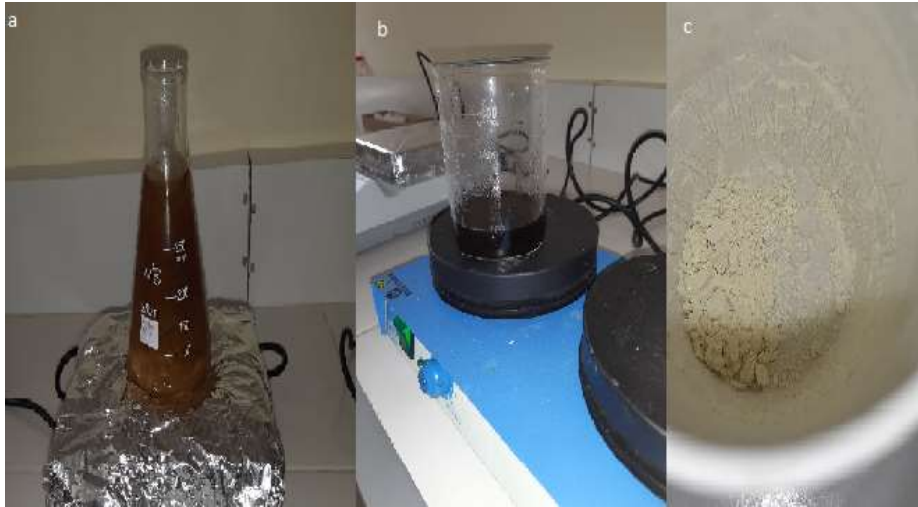
## 2.5. Antibakteriyel Etki

Biyolojik yöntemle sentezlenen ZnO nanopartiküllerin minimum inhibisyon konsantrasyonu testi ile antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için model suşlar olarak *V. parahaemolyticus* ve *A. hydrophila* seçilmiştir. Bu testte, 96 oyuklu mikrotiter plakalar kullanılarak farklı konsantrasyonlarda nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi değerlendirildi. Mikroorganizma kültürleri, 0.5 McFarland standardına ayarlandı ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL'ye eşdeğer). Seri şekilde iki kat seyreltilen ZnO nanopartiküller ve bakteriyel süspansiyon (100 uL) her oyuğa eklendikten sonra (negatif kontrol kolonu hariç) inkübe edilmiştir (37° C'de 24 saat). Daha sonra her test örneğinden 10 uL agar yüzeyine kaplanarak 24 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. ZnO nanopartiküllerin antibakteriyel aktiviteleri, pozitif kontrol olarak kullanılan siprofloksasin ile karşılaştırılırken, negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır [22].

## 3. Bulgular

### 3.1. Çinko Nanopartiküllerin Sentezi

Yaptığımız bu çalışmamızda, çinko nanopartiküllerin sentezi için *Nasturtium officinale* özütü kullanılmıştır. Çinko nitrat solüsyonu renksiz, su teresi özütü sarı renklidir. 5 mM  $Zn(NO_3)_2$  solüsyonuna *Nasturtium officinale* özütü eklenmiş ve ısıtma işleminden sonra sarıdan kahverengiye renk değişiminin gerçekleşmesi nanopartikül oluşumunun ilk görsel ifadesi olarak kabul edilmektedir (Şekil 3.1).

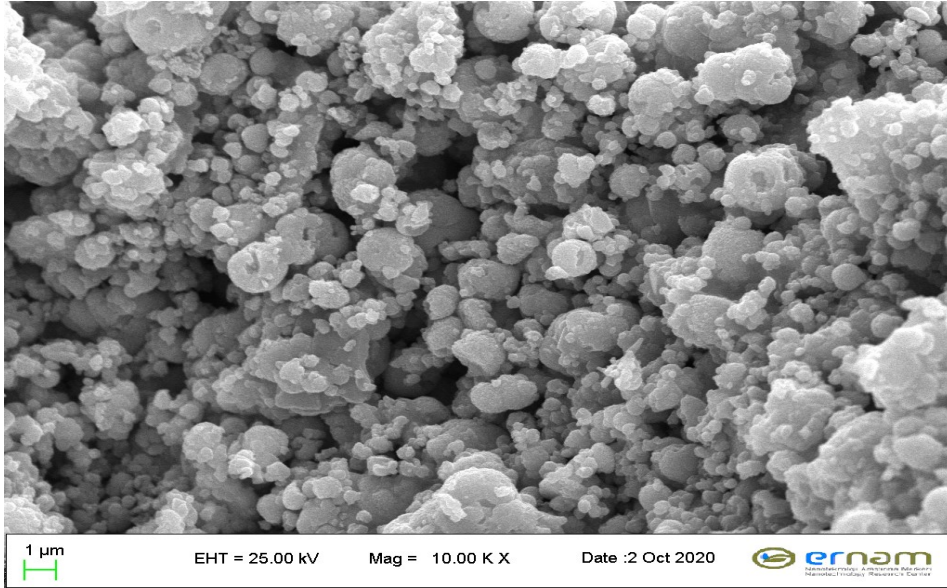


Şekil.3.1. *Nasturtium officinale* özütü kullanılarak ZnO NP'lerin biyosentezi; A- *Nasturtium officinale* özütü; B- ZnO NP solüsyonu; C- Toz halinde ZnO NP

### 3.2. Çinko Oksit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

#### 3.2.1. SEM Analizi

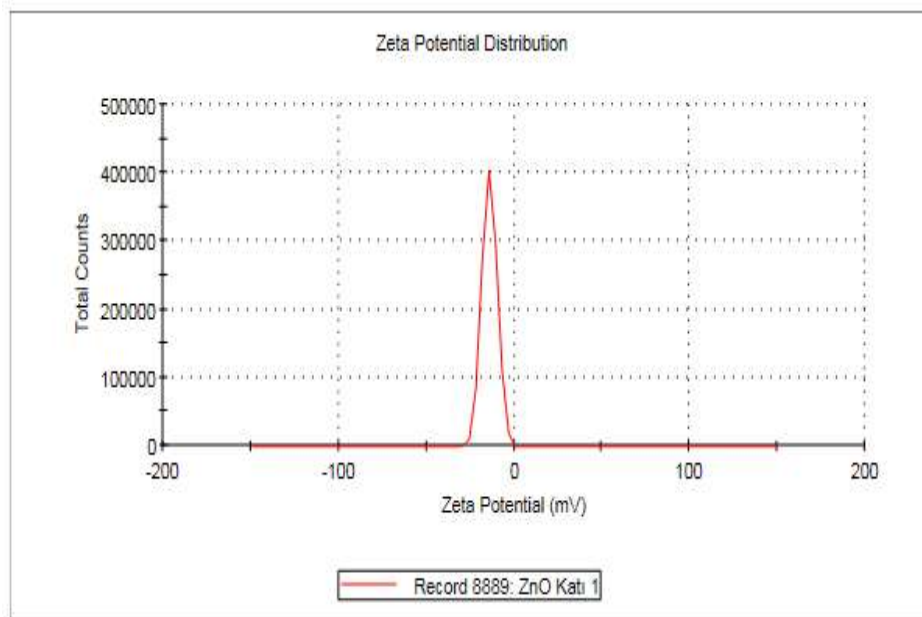
Taramalı Elektron Mikroskobu ile analizi ile yuvarlak yapıdaki ZnO NP'nin parçacık boyutu ortalama 90 nm olarak bulunmuştur (Şekil 3.2). Ayrıca ZnO NP'ler birleşerek farklı boyutlarda agregatlar oluşturduğu gözlenmiştir.



Şekil.3.2. ZN NP

### 3.2.2. Yüzey Yükü Ölçümü

Nanopartiküllerin yüzey yükleri zeta analizleri ile belirlenmekte ve nanopartiküllerin kararlılığının yorumlanmasını sağlamaktadır. Nanopartiküllerin mutlak değer zeta potansiyelinin yüksek çıkması NP'lerin bir araya gelerek kümelenmesini önlemektedir. Bu sayede NP'lerin kararlılığı artmaktadır. *Nasturtium officinale* özütü ile biyosentezi gerçekleştirilen ZnO NP'nin yüzey yükü -14 mV'de belirlenmiştir (Şekil 3.3).

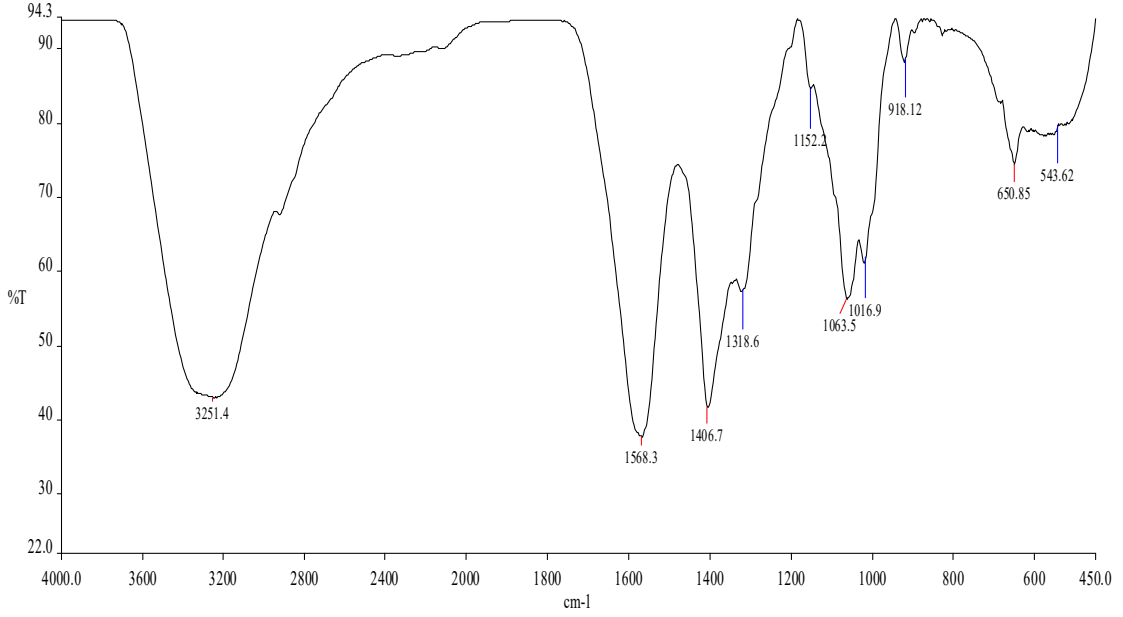


Şekil.3.3. ZnO NP'nin Yüzey Yükü

### 3.2.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

Nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak rol oynayan biyolojik fonksiyonel grupların varlığı FT-IR analizi ile belirlenmektedir. FT-IR haritasında elde edilen piklerin 3251.4, 1568.3, 1406.7, 1318.6, 1152.2,

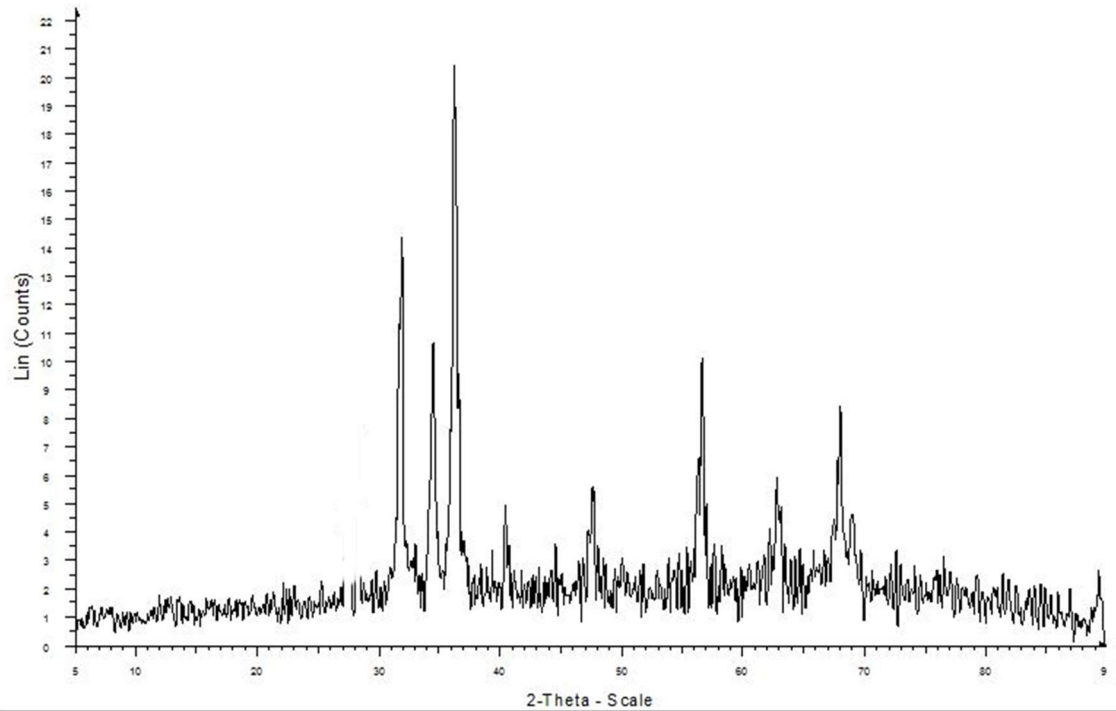
1063.5, 1016.9 ve 918 cm<sup>-1</sup> dalga sayılarında gözlenen pikler ile ZnO NP'lerin sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak rol oynayan fonksiyonel gruplar değerlendirilmiştir (Şekil 3.4. ).



Şekil.3.4. ZnO NP 'nin FT-IR analizi

### 3.2.4. X-Işınları Toz Difraksiyon Analizi

X ışını kırınımı, farklı fazlar, yapı ve kristal oryantasyonu hakkında bilgi veren analitik metot olarak kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin kristal yapılarını belirlemek amacıyla XRD analizi kullanılmıştır. XRD haritasında 2 $\theta$  düzleminde 31.7°, 34.3°, 36.2°, 40.2°, 47.6°, 56.5°, 62.9° ve 67.8°'de gözlenen pikler ile 2 $\theta$  düzleminde kristal yapısı incelenmiştir (Şekil 3.5. ).



Şekil.3.5. ZnO NP'nin XRD analizi

### 3.2.5. Antimikrobiyal aktivite sonuçları

Bu çalışmada *Nasturtium officinale* özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin *A. hydrophila* ve *V. parahaemolyticus* suşlarına karşı MIC değeri sırasıyla 15 ve 7.5 µg/ml olarak belirlenmiştir.

## 4. Tartışma ve Sonuç

İçeriğindeki zengin biyoaktif bileşenlerinden dolayı bitki ekstraktları farklı metalik nanopartiküllerin sentezlerinde çok sık kullanıldığı bilinmektedir. Buradaki biyoaktif bileşenler sentez sırasında metal oksitlerin yüzeyine bağlanabilen ve metal oksitlerinin antikanser ve antibakteriyel özelliklere sahip olmasını sağlayabilmektedir [23-24]. Günümüze kadar birçok çalışmada bitki özütleri kullanılarak Zn/ZnO nanopartiküllerin biyosentezi gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında ise antikanser özelliklerine yeteri kadar açıklık getirilememiştir. Bugüne kadar çinko nanopartiküllerin sentezi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik teknikler kullanılmıştır. Zn NP'lerin sentezinde biyolojik sentez yöntemlerinin gelişim göstermesi düşük maliyetli, çevre dostu ve kolay uygulanabilir olmasıdır.

Su bitkilerinin içeriğinde bulunan zengin biyoaktif bileşenler metal partikülleri oksitleme özelliklerinden dolayı metal oksit sentezinde genellikle kullanılan bitkilerdir. Bitki ekstraktların metal nanopartikülleri indirgeme özelliği metal iyonlarıyla etkileşiminden sonra gerçekleşmektedir [25-30]. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, reaksiyon aşamalarında sarıdan kahverengiye renk değişimi ZnO NP'lerin oluşumunu basitçe belirlemektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da sarıdan kahverengiye renk değişimini destekleyen deliller olmaktadır [31-32]. *Nasturtium officinale* bitkisinin içeriğinde bulunan zengin biyoaktif özelliğinden dolayı bu çalışmamızda ZnO NP'nin sentezinde kullanımı gerçekleşmektedir.

ZnO NP'nin yapısı SEM analizi ile gözlenmektedir. Bu çalışmada *Nasturtium officinale* ekstraktında sentezlenen ZnO NP oluşumu biyolojik sentez ile desteklenmektedir. 330 nm'deki  $\lambda$  max. değerleri ZnO NP'lerin sentezinin gerçekleştiğini göstermektedir [33-34]. Nanotıp uygulamalarında etkinliğinin fazla olması ve hücresel boyutta etkileşimini gerçekleşmesi için ZnO NP'nin boyut sınırı  $\leq 200$  nm olması beklenmektedir [35]. Yaptığımız çalışmada SEM analizinde, nano uygulamaları için istenilen boyutlara sahip olduğu kaydedilmiştir.

ZnO NP'nin XRD analizi  $2\theta$  düzleminde  $31.7^\circ$ ,  $34.3^\circ$ ,  $36.2^\circ$ ,  $40.2^\circ$ ,  $47.6^\circ$ ,  $56.5^\circ$ ,  $62.9^\circ$  ve  $67.8^\circ$  de gözlenen kırınım pikleri sırası ile (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (2 0 0), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3) ve (1 1 2) düzlemlerini ifade etmektedir. Bulgularımız toz kırınımı standartları ortak komitesi (JCPDS NO 36-1451) ile uyumludur [36]. Fu ve Fu (2015), yaptıkları çalışmalarda  $34.420^\circ$ ,  $36.145^\circ$ ,  $47.987^\circ$ ,  $56.502^\circ$ ,  $63.101^\circ$ ,  $67.958^\circ$  ve  $69.014^\circ$  düzleminde gözlenen pikler sırası ile (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3), (1 1 2) ve (2 0 1) çizgilerine denk geldiği kaydedilmiştir [37].

FT-IR ile ZnO NP'nin yapısal analizi yapılmıştır. Bu testin sonucunda  $3251.4\text{ cm}^{-1}$ 'de O-H (alkol),  $1568.3\text{ cm}^{-1}$ 'de N-H (amin),  $1406.7\text{ cm}^{-1}$ 'de O-H (alkol),  $1318.6\text{ cm}^{-1}$ 'de C-N (aromatik amin),  $1152.2\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O (alifatik eter),  $1063.5\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O (alkol),  $1016.9\text{ cm}^{-1}$ 'de C=C (Allen) band titreşimleri  $918\text{ cm}^{-1}$  dalga boylarında ise partikülün yapısında bulunan fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. Zn-O varlığı  $50$  ve  $543.62\text{ cm}^{-1}$ 'de metal oksijen titreşimi ile band gözlenmektedir. ZnO NP'nin FT-IR analizini Rajiv ve ark. (2013), M-O (metal oksijen)  $433,457$  ve  $470\text{ cm}^{-1}$  dalga boylarında [38], Fu ve Fu (2015),  $502\text{ cm}^{-1}$  'de Zn-O band titreşimlerini göstermiştir [37]. Naseer ve ark. (2020), *Cassia fistula* ve *Melia azadarach* özütleri ile sentezledikleri ZnO NP'lerin FT-IR analizinde ortaya çıkan sırasıyla  $683-500\text{ cm}^{-1}$  ve  $698-505\text{ cm}^{-1}$  dalga boylarındaki titreşimlerin ZnO oluşumunu işaret ettiğini bildirmişlerdir [39].

ZnO nanopartiküllerinin sahip olduğu yük şiddeti zeta potansiyeli ile ölçümü gerçekleştirilmiştir. *Nasturtium officinale* özütü ile gerçekleştirilen ZnO NP'nin zeta potansiyeli yüzey yükü -14 mV olarak belirlenmiştir. Bu sayede ortaya çıkan ZnO NP'nin kısa süreli bir stabiliteye sahip özellikte olduğu saptanmıştır.

Çinko nanopartiküller günümüzde tıbbi cihaz üretimlerinde antimikrobiyal olarak kullanımı söz konusudur. Jelatin tabanlı sentezlenen Ag NP'nin *E. coli* ve *S. aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal etkisinin, sentezde kullanılan Ag tuz konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı bildirilmiştir [40]. *Eucalyptus globulus* bitkisinin yağı ile sentezlenen ZnO NP'nin *S. aureus* ATCC 43300 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı MIC değerleri sırası ile 128 ve 32 µg/ml'de gözlenmiştir [41]. *Mussaenda frondosa* özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin *S. aureus* ve *E.coli* suşlarına karşı MIC değerleri sırasıyla 54.13 µg/ml ve 19.23 µg/ml olarak belirlenmiştir [42]. *Artemisia pallens* özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin *E.coli* ve *S. aureus*'a karşı MIC değerleri de sırasıyla 62.5 ve 31.25 µg/ml'de tespit edilmiştir [43]. Nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesinin NP'nin morfolojisine (boyut ve şekil) bağlı olarak farklılık gösterdiği [44], reaksiyon sıcaklığı, bitki özütünün konsantrasyonu, özütün içeriğinin, (dolayısı ile de kullanılan bitki türünün) ortam pH'ı, indirgenen metal konsantrasyonunun da nanopartiküllerin morfolojisine önemli etkiye sahip olduğu bilinmektedir [45]. Dolayısı ile nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerinin, sentezde kullanılan bitki türü ve konsantrasyonuna bağlı olduğu görülmektedir. Nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri ise NP'lerin hücre duvarı ile etkileşime girerek hücre zarının ve bütünlüğünün bozulması, NP'lerin Zn iyonlarının salınımı ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) meydana gelmesi ile oluşan oksidatif hasara bağlı olarak gözlenen etki mekanizmaları ile açıklanmaktadır [46].

## 5. Teşekkür

Bu çalışma Nevşehir Hacıbektaş Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ABAP-20F41 ve GAP20F1 nolu projeleri tarafından destek almıştır. NEÜ BAP birimine desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

## 6. Kaynaklar

- [1] Arıhan S.K., “Antik Dönemde Bitkisel Tıp ve Tedavi” Ankara Üniversitesi, *Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 199s, Ankara, 2003.
- [2] [Ceran B., “Antik Mısır ve Anadolu Uygarlıklarında Tıp” Selçuk Üniversitesi, *Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 38s, Konya, 2008.
- [3] Albrecht M.A., Evan C.W., Raston C.R., “Green chemistry and the health implications of nanoparticles” *Green Chemistry*, 8, 417-32, 2006
- [4] Osuwa J.C., Anusionwu P.C., “Some advances and prospects in nanotechnology: a review” *Asian Journal of Information Technology*, 10, 96-100, 2011
- [5] Buzea C., Pacheco I., Robbie K., “Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity” *Biointerphases*, 2 (4), 17-71, 2007
- [6] Santhoskumar J., Venkat Kumar S., Rajeshkumar S., “Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen” *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 459-65, 2017
- [7] Chen J., Liu X., Wang C., Yin S.S., Li X.L., Hu W.J., “Nitric oxide ameliorates zinc oxide nanoparticles-induced phytotoxicity in rice seedlings” *Journal of Hazardous Materials*, 297, 173-82, 2016
- [8] Nair S., Sasidharan A., Divya Rani V.V., Menon D., Nair S., Manzoor K., “Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20, 235-41, 2009

- [9] Premanathan M., Karthikeyan K., Jeyasubramanian K., Manivannan G., “Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation” *Nanomedicine*, 7(2), 184-92, 2011
- [10] Hanley C., Layne J., Punnoose A., Reddy K.M., Coombs I., Coombs A., “Perferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles” *Nanotechnology*, 19(29), 295-303, 2008
- [11] Agarval H., Venkat Kumar S., Rajeshkumar S., “A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles - An eco-friendly approach” *Resource-Efficient Tecnologies*, 3(4), 406-413, 2017
- [12] Yuvakkumar R., Suresh J., Nathanael A.J., Sundrarajan M., Hong S.I., “Novel green synthetic strategy to prepare ZnO nanocrystals using rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract and its antibacterial applications” *Materials Science and Engineering, C, Materials for Biological Applications*, 41, 17-27, 2014
- [13] Akhtar M., Panwar J., Yun Y.S., “Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts” *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 1, 591-602, 2013
- [14] Kumar V., Yadav S.K., “Plant mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(2), 151-157, 2009
- [15] Rose P., Faulkner K., Williamson G., Mithen R., “7-Methylsulfinylheptyl and 8- methylsulfinyloctyl isothiocyanates from watercress are potent inducers of phase II enzymes” *Carcinogenesis*, 21(11), 1983-1988, 2000
- [16] Lee J.S., Newman M.E., “Aquaculture-an introduction. Agriscience and technology series” *Interstate Publishers*, 445-446, Illinois, 1997
- [17] Stern K.R., “Introductory Plant Biology” *Wm. C. Brown Publishers*, England, 521s, 1994
- [18] Duke J.A., “Handbook of phytochemical constituents of grass herbs and other economic plants” *Boca Raton, CRC Pres. FL. 33431*, 654pp, 1992
- [19] Shaheen I., Ahmad K.S., “Chromatographic identification of “green capping agents” extracted from *Nasturtium officinale* (Brassicaceae) leaves for the synthesis of MoO<sub>3</sub> nanoparticles” *Journal of Seperation Science*, 43 (3), 598- 605, 2020
- [20] Bayrami A., Ghorbani E., Rahim S., Yangjeh P., Bayrami A.K.M., “Enriched zinc oxide nanoparticles by *Nasturtium officinale* leaf extract: Joint ultrasound-microwave-facilitated synthesis, characterization, and implementation for diabetes control and bacterial inhibition” *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104613, 2019
- [21] Gunalan S., Sivaraj R., Rajendran V., “Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens” *Progress in Natural Science: Materials International*, 22 (6), 693-700, 2012
- [22] Ildiz N., Baldemir A., Altinkaynak C., Özdemir N., Yilmaz V., Ocsoy I., “Self Assembled Snowball-Like Hybrid Nanostructures Comprising *Viburnum opulus* L. Extract and Metal Ions for Antimicrobial and Catalytic Applications” *Enzyme and Microbial Technology*, 102, 60-66, 2017
- [23] Lu W., Qin X., Liu S., Chang G., Zhang Y., Luo Y., “Economical, green synthesis of fluorescent carbon nanoparticles and their use as probes for sensitive and selective detection of mercury(II) ions” *Analytical Chemistry*, 84(12), 5351-7, 2012
- [24] Khatami M., Varma R.S., Zafarnia N., Yaghoobi H., Sarani M., Kumar V.G., “Applications of green synthesized Ag, ZnO and Ag/ZnO nanoparticles for making clinical” *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 10, 9-15, 2018
- [25] Edelman A.D., Cammarata R.C., “Nanomaterials Synthesis Properties and Applications” *Taylor and Francis*, Boca Raton, Fla, USA, 1996.



- [26] Sudip S., Kumar S.I., Mandal A., Aslan T., Ustun Y., Yılmaz E.Ş., Katı A., Demirbas A., Mandal A.K., and Ocoy I., “Biosynthesis of silver nanoparticles and their versatile antimicrobial properties” *Materials Research Express*, 6, 1, 2019
- [27] Demirbas A., Kislakci E., Karaagac Z., Onal I., Ildız N., Öçsoy İ., “Preparation of biocompatible and stable iron oxide nanoparticles using anthocyanin integrated hydrothermal method and their antimicrobial and antioxidant properties” *Materials Research Express*, 6, 12, 2019
- [28] Demirbas A., Yılmaz V., Ildız N., Baldemir A., Öçsoy İ., “Anthocyanins-rich berry extracts directed formation of Ag NPs with the investigation of their antioxidant and antimicrobial activities” *Journal of Molecular Liquids*, 248, 1044-1049, 2017
- [29] Ceylan R., Demirbaş A., Öçsoy İ., Aktumsek A., “Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of three *Sideritis* species from Turkey and evaluations bioactivity potentials” *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 21, 10, 2021
- [30] Dadi S., Celik C., Ocoy I., “Gallic acid nanoflower immobilized membrane with peroxidase-like activity for m-cresol detection” *Scientific Reports*, 10,1, 2020
- [31] Sastry M., Mayya K.S., Bandyopadhyay K., “pH Dependent changes in the optical properties of carboxylic acid derivatized silver colloidal particles” *Colloids and Surfaces A*, 127(1-3), 221-8, 1997
- [32] Kalimuthu K., Babu R.S., Venkataraman D., Bilal M., Gurunathan S., “Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*” *Colloids and Surfaces B*, 65(1), 150-3, 2008
- [33] Varghese E., George M., “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles” *International Journal of Advance Research in Science and Engineering*, 4(1), 307- 14, 2015
- [34] Yedurkar S., Maurya C., Mahanwar P., “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using ixora coccinea leaf extract-A green approach” *Journal of Synthesis Theory and Applications*, 5(1), 1-14, 2016
- [35] Rizvi S.A.A., Saleh A.M., “Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology” *The Saudi Pharmaceutical Journal* 26(1), 64-70, 2018
- [36] Etape E.P., Foba-Tendo J., Ngolui L.J., Namondo B.V., Yollande F.C., Nguimezong, M.B.N., “Structural Characterization and Magnetic Properties of Undoped and Ti-Doped ZnO Nanoparticles Prepared by Modified Oxalate Route” *Journal of Nanomaterials*, 9072325, 2018.
- [37] Fu L., Fu Z., “*Plectranthus amboinicus* leaf extract-assisted biosynthesis of ZnO nanoparticles and their photocatalytic activity” *Ceramics International*, 41 (2), 2492-2496, 2015
- [38] Rajiv P., Rajeshwari S., Vencatesh R., “Bio-Fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Parthenium hysterophorus* L. and its size-dependent antifungal activity against plant fungal pathogens” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 112, 384-387, 2013
- [39] Minha Naseer M., Aslam U., Bushra Khalid B., Chen B., “Green route to synthesize Zinc Oxide Nanoparticles using leaf extracts of *Cassia fistula* and *Melia azadarach* and their antibacterial potential” *Scientific Reports*, 10, 9055, 2020
- [40] Pourjavadi A., Soleyman R., “Silver nanoparticles with gelatin nanoshells: photochemical facile green synthesis and their antimicrobial activity” *The Journal of Nanoparticle Research*, 13, 4647–4658, 2011
- [41] Zahra Obeizi Z., Benbouzid H., Sihem O., Bououdina M., “Biosynthesis of Zinc oxide nanoparticles from essential oil of *Eucalyptus globulus* with antimicrobial and anti-biofilm activities” *Materials Today Communications* 25, 101553, 2020

- [42] Jayappa M.D., Ramaiah C.K., Kumar M.A.P. “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from the leaf, stem and in vitro grown callus of *Mussaenda frondosa* L.: characterization and their applications” *Applied Nanoscience*, 10, 3057–3074, 2020
- [43] Gomathi R., Suhana H., “Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles using *Artemisia pallens* plant extract” *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 12, 04, 2020
- [44] Taghizadeh S.M., Lal N., Ebrahiminezhad A., Moeini F., Seifan, M., Ghasemi Y., Berenjian A., “Green and Economic Fabrication of Zinc Oxide (ZnO) Nanorods as a Broadband UV Blocker and Antimicrobial Agent” *Nanomaterials*, 10(3), 530, 2020
- [45] Ahmad T., Bustam A.M., Zulfiqar M., Moniruzzaman M., Idris A., Iqbal J., Asghar H.M.A., Ullah S., “Controllable phytosynthesis of gold nanoparticles and investigation of their size and morphology-dependent photocatalytic activity under visible light” *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 392, 112429, 2020
- [46] Pillai A.M., Sivasankarapillai V.S., Rahdar A., Joseph J., Sadeghfard F., Anuf R., Rajesh A.K., Kyzas G.Z., “Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with antibacterial and antifungal activity” *Journal of Molecular Structure*, 1211, 128107, 2020