



**EJBACS**

**Eurasian Journal of  
Biological and Chemical Sciences  
(Eurasian J. Bio. Chem. Sci.)**

*Cilt: 4    Volume: 1    Year: 2021*

**e-ISSN 2651-5237**



# EJBCS

Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

**Cilt: 4    Volume: 1    Year: 2021**

**Published Biannually**

### **Corresponding Address**

Gaziantep University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Gaziantep, Turkey

E-mail: mtdogan1@gmail.com

Web: <http://www.dergipark.org.tr/ejbc>

### **Editor in Chief**

Prof. Dr. Muhittin DOĞAN

### **Editor (Associate)**

Assist. Prof. Dr. Muhammet DOĞAN

### **Editorial Board**

Prof. Dr. Ali Tuncay ÖZYILMAZ	Hatay Mustafa Kemal University, Turkey
Prof. Dr. Anna PEKSA	Wrocław University, Poland
Prof. Dr. Elif LOLOĞLU	Gazi University, Turkey
Prof. Dr. Elif ÖZTETİK	Eskisehir Technical University, Turkey
Prof. Dr. Erol ATAY	Hatay Mustafa Kemal University, Turkey
Prof. Dr. Hikmet GEÇKİL	İnönü University, Turkey
Prof. Dr. Issa SHARİFPOUR	Iranian Fisheries Research Organization, Iran
Prof. Dr. İsmet YILMAZ	İnönü University, Turkey
Prof. Dr. Osman GÜLNAZ	Cukurova University, Turkey
Prof. Dr. Osman Selçuk ALDEMİR	Adnan Menderes University, Turkey
Prof. Dr. Vladimer TSITSISHVILI	Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia
Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU	Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey
Assoc. Prof. Dr. Gökhan NUR	Gaziantep University, Turkey
Assoc. Prof. Dr. H. Ahmet DEVECİ	Gaziantep University, Turkey
Assoc. Prof. Dr. Şenay UĞUR	Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey
Assoc. Prof. Dr. Utku AVCI	Recep Tayyip Erdoğan University, Turkey
Assist. Prof. Dr. Mustafa PEHLİVAN	Gaziantep University, Turkey
Dr. Ardalan PASDARAN	Shiraz University, Iran.
Dr. Eva URGEOVÁ	The University of St. Cyril and Methodius of Trnava, Slovakia

### **Language Editor**

Assist. Prof. Dr. Demet DOĞAN    Gaziantep University, Turkey

### **Technical Editor**

Assoc. Prof. Dr. Mustafa SEVİNDİK    Osmaniye Korkut Ata University, Turkey

Owner / Publisher  
Muhammet DOĞAN

This journal is peer-reviewed and published twice (June, December) a year.  
All responsibility of the articles belongs to the authors.

**e-ISSN 2651-5237**



# EJBCS

Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

**Cilt: 4    Volume: 1    Year: 2021**

## Contents / İçindekiler

---

### Research Articles / Araştırma Makeleleri

**Synthesis of Biologically Active 4-Arylideneamino-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-one Compound by Ultrasonic Radiation and Conventional Method, Comparison of Methods and Elucidation of Structure ..... 1-4**

*İnci Selin DOĞAN, Bahittin KAHVECİ*

**Box-Behnken deneysel tasarım metodunun boyalı sulardan kitosan koagülasyonu ile renk giderimine uygulanması .....5-11**

*Ezgi OKTAV AKDEMİR*

**Anatomical Structure and Ecological of *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce and Its on Contribution to the Taxonomy of Orchidaceae ..... 12-15**

*Derviş ÖZTÜRK*

**Ti/RuO<sub>2</sub> karışık metaloksit elektrot kullanılarak elektrokimyasal oksidasyon ile boyarmadde giderimine NaCl destek elektrolitinin etkisi ve toksik etkilerin değerlendirilmesi ..... 16-21**

*Elif DELİKTAS, Yusuf YAVUZ*

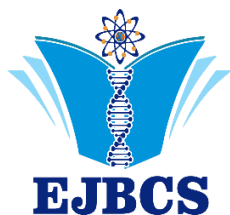
**Phytochemical screening and anthelmintic activity of leafand seed extract of *Cassia occidentalis* L. .... 22-25**

*Faiza SHAFİ, Muhammad AJAİB, Khizar Hayat BHATTİ, Muhammad Faheem SİDDİQUİ, Afsheen KHAN*

### Review Articles / Derleme Makaleler

**Tilmikosin Zehirliliği: Mini Derleme ..... 26-29**

*Rahmi CANBAR, Enver YAZAR*



## Synthesis of Biologically Active 4-Arylideneamino-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-one Compound by Ultrasonic Radiation and Conventional Method, Comparison of Methods and Elucidation of Structure

İnci Selin DOĞAN<sup>1\*</sup>, Bahittin KAHVECİ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Karadeniz Technical Uni., Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Trabzon, Turkey.  
<sup>2</sup>Karadeniz Technical Uni., Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Trabzon, Turkey.

\*Corresponding author : [isdogan@ktu.edu.tr](mailto:isdogan@ktu.edu.tr)  
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0003-4949-1747>

Received : 04/05/2020  
Accepted : 05/02/2021

**Abstract:** Today, the majority of the drugs used in the treatment of diseases are obtained by synthesis. A large proportion of the compounds have obtained heterocyclic structure. Therefore, synthesis of new heterocyclic compounds has always attracted and continues to attract scientist. It is known that compounds bearing triazole skeleton in the heterocyclic have an important place.

The reactions of 4-amino-triazole compounds, especially with aromatic aldehydes, have been known for a long time and this reaction is carried out by conventional heating methods. However, the development of alternative heating methods to these conventional methods has also recently been studied. One of the most important of these is organic synthesis by microwave method and it is widely used. Another alternative method that has recently been used in organic synthesis is the realization of organic synthesis reactions with ultrasonic radiation. Ultrasound-assisted organic synthesis is an environmentally friendly, modern and economical method used to accelerate reactions.

In this study, optimum conditions were determined for this reaction by using ultrasonic radiation method and the results were compared with the classical method. For this purpose, in the first step iminoester was synthesized by using *Pinner* method. The reaction of this iminoester with ethylcarbazate gave the corresponding hydrazone. Then the reaction of this obtained hydrazone derivative with hydrazine hydrate, the 4-amino-1,2,4-triazole derivative compound was synthesized. In the final reaction step, the interaction of this amino compound with 3-bromo-4-fluorobenzaldehyde was carried out by conventional and novel method (ultrasonic radiation) to obtain the targeted imine compound. The chemical structure of the new compound will be determined by spectroscopic methods such as <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR and IR.

The results compared in terms of reaction time, yield and purity between conventional and ultrasonic method. And we found that the ultrasonic radiation method is much more advantageous.

**Keywords:** 1,2,4-triazole, Ultrasonic Radiation Method, Iminoester, Schiff base, Benzaldehyde, Conventional Method.

© EJBCS. All rights reserved.

### 1. Introduction

It is known that compounds bearing triazole skeleton in the heterocyclic chemical have an important place. Therefore, studies on the synthesis of these systems have become particularly popular recently. The reactions of 4-amino-triazole compounds, especially with aromatic aldehydes, have been known for a long time and this reaction is carried out by conventional heating methods (Kahveci et al., 2000).

However, an experimental study on the realization of this reaction using ultrasonic radiation in these systems carried out with this study and the results compared with the classical method.

For this purpose, 4-amino-1,2,4-triazole compound registered in the literature (Kahveci et al., 2000) have been synthesized and the reaction of this compound with 3-bromo-4-fluorobenzaldehyde have investigated by both classical and ultrasonographic methods and a novel Schiff base derivative compound was obtained.

Ultrasound-assisted organic synthesis (Sonochemistry) is an environmentally friendly, modern and economical method used to accelerate reactions (Alissa, 2014). Ultrasound can increase chemical reactivity besides heat, pressure, light and catalyst. Application of power of sound to chemical processes: 1-Ultrasound can increase chemical

reactivity besides heat, pressure, light and catalyst; 2-Chemical changes by power of ultrasound lower frequency as result of generated cavitation (Sarpong, 2003; Mason et al., 2002).

When we look at the benefits of using ultrasonic radiation in chemical synthesis (Sonochemistry); the reaction rate increases and allows the reaction to proceed in mild conditions, it shortens the onset time for exothermic reactions, reactions can usually walk without need for additives as a catalyst, the number of reaction steps and duration decreases, reaction can be directed to alternative pathway (Thompson et al., 1999; Gogate et al., 2006; Url-1, 2020).

Sonochemistry can use for; synthesis processing in nanomaterials; cancer treatment, drug delivery in therapeutic ultrasound; mizing, preservation, extraction in food technology; electroplating, electrosynthesis, electroanalysis in electrochemistry; chemical synthesis, catalysis in Green Chemistry (Thompson et al., 1999; Gogate et al., 2006; url-1, 2020).

Therefore, here we aimed to analyze the utility of Sonochemistry method for the synthesis procedure.

In this study, we aimed to synthesize a novel Schiff base derivative “4-(3-bromo-4-fluorobenzylideneamino)-5-(3-bromobenzyl)-2*H*-1,2,4-triazol-3(4*H*)-on” compound by both Conventional and Ultrasonic radiation method (Sonochemistry), analyze the structure by spectral methods (<sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR and IR) and compare the methods by providing optimum conditions.

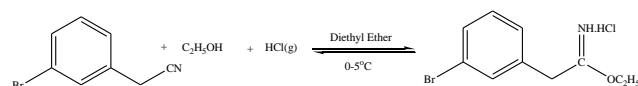
## 2. Materials and Method

All the chemicals purchased from Merck, Fluka AG, and Sigma–Aldrich. Merck Kieselgel60 F254 plates were used for thin layer chromatography (TLC) to monitor reactions. Melting points (m.p.) were determined using an Electrothermal 9200 capillary melting point apparatus and are uncorrected. <sup>1</sup>H-NMR (400MHz) and <sup>13</sup>C-NMR (100MHz) spectra were recorded with Bruker Avance Ultrashield NMR spectrometers, and Elemental analyses were performed by Leco CHNS-932 LECO932CHNS elemental analysis apparatus.

General experimental procedure for synthesis of the compounds

### 1) Synthesis of Iminoester Hydrochloride (Compound 1a)

The iminoester hydrochlorides used as starting compounds of our study were synthesized according to the Pinner Method recorded in the literature (Figure 1) (Pinner, 1892). In this method, suitable nitrile derivatives and ethanol were reacted with HCl (g) at anhydrous ether at 0-5°C to obtain the corresponding iminoester hydrochloride.



Compound 1a

### Figure 1. Synthesis of Iminoester Hydrochloride Derivative Compound (1a) by Pinner Method

For the production of HCl gas, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and NH<sub>4</sub>Cl were reacted and the HCl gas formed was passed to the reaction medium with the Kip device. The reaction setup is given in figure 2.

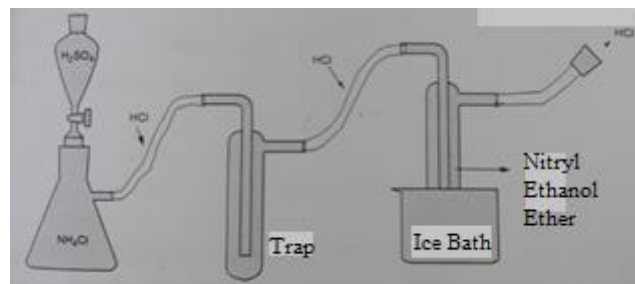
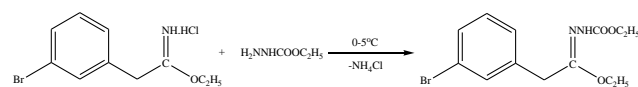


Figure 2. Kip setup for obtaining HCl(g)

### 2) Synthesis of Ester ethoxycarbonyl hydrazone derivative (Compound 2a)

The ester ethoxycarbonyl hydrazone derivatives to be used in the study for the production of triazole derivatives were synthesized according to the method in the literature (Figure 3) (İkizler et al., 1996). In this method; the iminoester hydrochlorides and ethyl carbazate were dissolved in ethanol and reacted in a sealed flask. The flask was placed in the ice bath and mixing was done with the help of a magnetic stirrer.

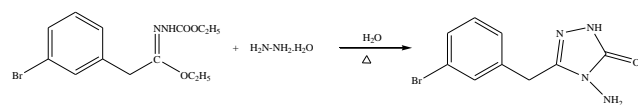


Compound 2a

### Figure 3. Synthesis of Ester ethoxycarbonyl hydrazone derivative compound (2a)

### 3) Synthesis of 4-Amino-1,2,4-triazole derivative (Compound 3a)

The corresponding 4-Amino-1,2,4-triazole compound was obtained from the reaction of ester ethoxycarbonyl hydrazone with hydrazine hydrate (Figure 4) (Kahveci, 2005).

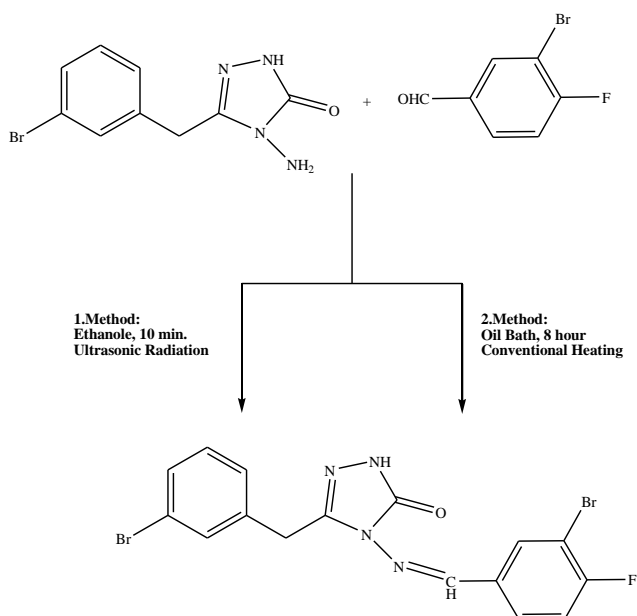


Compound 3a

### Figure 4. Synthesis of 4-Amino-1,2,4-triazole derivative compound (3a)

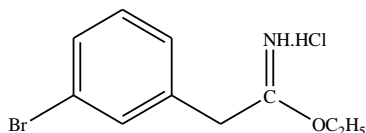
### 3) Synthesis of Schiff base derivative final compound (Compound I)

The reaction of amino-triazole compound with 3-Bromo-4-fluorobenzaldehyde, corresponding Schiff base derivative was synthesized by two different methods (Figure 5).

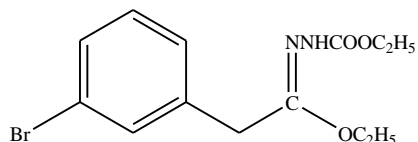


**Figure 5.** Synthesis of Schiff base derivative compound I by two different methods

### 3. Results

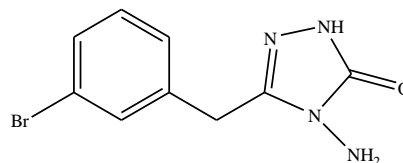


Absolute ethanol (5.9 ml, 0.1 mol) was added to the solution of 4-bromobenzylonitrile (10.3 ml, 0.1 mol) with anhydrous ether (10 ml). Dry HCl gas was passed through the mixture until saturation. The mixture was left in the deep cooler for 12 hours and precipitated by the addition of anhydrous ether. The crystals formed were filtered, washed with anhydrous ether and dried over CaCl<sub>2</sub>. The product obtained was identified as Compound **1a** (Mp: 85 ° C). Yield: 9.5 g (51.21%)

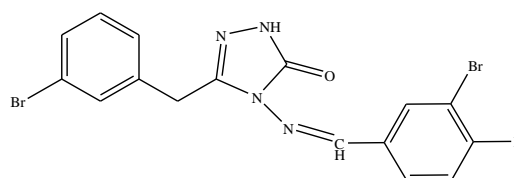


The absolute ethanol solution of imino 4-bromobenzyl ethyl ester hydrochloride (Compound **1a**, 6 g, 0.03 mol) was added to the solution of ethyl carbazate (3.15 g, 0.03 mol) in absolute ethanol. The mixture was reacted in a sealed flask. The flask placed in the ice bath was mixed with the help of a magnetic stirrer. A white turbidity occurred in the reaction medium during the reaction, because of the formation of NH<sub>4</sub>Cl salt in the reaction medium precipitates. After the reaction was over, NH<sub>4</sub>Cl in the medium was filtered. The mixture was kept in the freezer for 12 hours.

Then the solvent was blown off in the evaporator. After extraction with petroleum ether, the crystals formed were filtered, washed with anhydrous ether and dried over CaCl<sub>2</sub>. The product obtained was identified as Compound **2a** (Mp. 85-86 ° C). Yield: 1.5 g (20%).



The corresponding 4-Amino-1,2,4-triazole compound was obtained from the reaction of the ester ethoxycarbonyl hydrazone with hydrazine hydrate and Compound **3a** obtained (Mp. 85-86 ° C). Yield: 1.5 g (20%).



4-(3-bromo-4-fluorobenzylideneamino)-5-(3-bromobenzyl)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on

**Method 1:** 0.01 mol 5-(3-bromobenzyl)-4-amino-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-on (Compound **3a**) was added to 0.01 mol of 3-bromo-4-fluorobenzaldehyde derivative, the mixture was heated dry to dry in an oil bath for 1.5 hours. The reaction process is controlled by TLC. Water is added to the final mixture. The precipitate is filtered and purified by crystallization from the ethanol-water mixture (conventional method, İközler et al, 1991).

**Method 2:** 0.01 mol 5-(3-bromobenzyl)-4-amino-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-one (Compound **3a**) was added to 0.01 mol of 3-bromo-4-fluorobenzaldehyde dissolved in ethanol (1-2 drops of acetic acid is added) and mixture was heated in the ultrasonic bath for 10 minutes using the ultrasonic radiation (at 50°C). The reaction process is controlled by TLC. Water is added to the final mixture. The precipitate is filtered and purified by crystallization from the appropriate ethanol-water mixture (ultrasonic radiation method).

4-(3-bromo-4-fluorobenzylideneamino)-5-(3-bromobenzyl)-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-one (Compound **I**);

Yield % 90/96 (**Method I/II**); Mp.: 213-214°C. Analysis (% Calculated/found) for C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>Br<sub>2</sub>FN<sub>4</sub>O (Mw 426.09) C: 45.10/45.01, H: 2.60/2.53, N: 13.15/13.09

IR spectrum (ν): 3173 (N-H stretching), 3055 (aromatic C-H stretching), 1700 (C=O stretching, ketone), 1587 (C=N stretching), 1053 (C-F), 815 (C-Br), 743 and 714 cm<sup>-1</sup> (monosubstitue benzene deformation) bands.

<sup>1</sup>H-NMR spectrum (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) (δ): 4.068 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 7.229-8.085 (m, 7H, phenyl ring protons), 9.638 (s, 1H, -N=CH-), 12.015 ppm (s, 1H, N<sub>1</sub>-H) peaks.

<sup>13</sup>C-NMR spectrum (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) (δ): 31.03 (CH<sub>2</sub>), 109.37-146.142 (Ar C-H), 151.142 (C=N), 151.198 (C5-triazole), 159.062 (C=O), 161.55 ppm (C-F) peaks.

#### 4. Discussion

In this study, the synthesis of triazole-imine derivative compounds with conventional and ultrasonic radiation was aimed and a compound (Compound **I**) was synthesized in this study.

For this, firstly, starting materials, iminoester hydrochlorides (Compound **1a**) were synthesized according to the Pinner method (Figure 1) (Pinner, 1892). In the second stage, the ethyl carbazate compound and iminoester hydrochlorides were reacted under suitable conditions in ethanol to obtain ester ethoxycarbonyl hydrazones (Compound **2a**) according to the literature (Figure 3) (İkizler et al., 1996). In the third step, the corresponding 4-amino-1,2,4-triazole-5-one derivative compound (Compound **3a**) was obtained from the reaction of the ester ethoxycarbonyl hydrazones with hydrazine hydrate (Figure 4) (Kahveci, 2005).

In the last step, comparisons were made using 2 different methods. While conventional heating method is used in **method 1** (İkizler et al., 1991), ultrasonic radiation method is used in **method 2**. Synthesis of the resulting product triazole imine derivative (Compound **I**) was carried out by both methods.

The physical properties of the compounds and Rf values in the solvent system were determined in thin layer chromatography. The structures of the synthesized compounds were analyzed by spectroscopic methods such as IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and elemental analysis.

The spectral data (IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR) of the compounds are in accordance with the literature (Layer, 1963; Silverstein et al., 1998; Pretsch et al., 1983).

In the reaction by the conventional method (**method 1**), the compounds were mixed for 1,5 hours in the oil bath at the boiling temperature. In **method 2**, in the reaction, the compounds were mixed for 10 minutes in the ultrasonic bath using the ultrasonic radiation heating. The reaction time was reduced from 1,5 hours to 10 minutes in **method 2**.

Looking at the reaction efficiencies, the resulting imine compound was obtained with a yield of 90% with **method 1**, while with a yield of 96% in **method 2**.

When we compare the methods in terms of reaction time, efficiency and energy efficiency, we found that the ultrasonic radiation method is much more advantageous.

#### 5. Conclusion

As a Conclusion, this is the first attempt to synthesize Schiff bases of 4-Amino-triazoles by Ultrasonic radiation method. The most important advantage of this experiment over other methods is short reaction time and economical in terms of energy spent. In terms of efficiency, it shows a competitive feature to other methods. The study promotes later ultrasonic assisted synthesis studies on these heterocyclic aromatic systems.

#### Acknowledgements

Names of the funding organisation(s) should be given. If no The synthesized work was supported by Karadeniz Technical University Research Project (BAP-02-6035).

#### Authors' contributions:

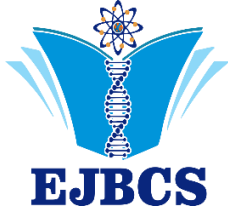
İ.S.D. and B.K. conceived, designed and performed the experiment; İ.S.D. and B.K. wrote the manuscript.

#### Conflict of interest disclosure:

There was no conflict of interest.

#### References

- Alissa SA. 2014. Ultrasound synthesis of five membered heterocycles. *Chem Sci Rev Let.* 3(12):1219-1236.
- Gogate P, Pandit, AB, Tayal RK. 2006. Cavitation: A technology on the horizon. *Current Science.* 91(1):35-46.
- <https://www.slideshare.net/wimbaji/ultrasonic-application-in-chemical-engineering-presentation> [20.02.2020].
- İkizler A, Demirbaş N, Demirbaş A, İkizler AA. 1996. The reaction of Ester Etotoxycarbonyl hydrazones with carboxylic acid hydrazides. *Polish J Chem.* 70:1114-1120.
- İkizler AA, Yıldırım N. 1991. Synthesis of some benzyldenamino compounds. *Monatsch Chem.* 122:557-563.
- Kahveci B, İkizler A. 2000. Convenient synthesis of some 4-(Alkylamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones. *Turk J Chem.* 24:343- 351.
- Kahveci B. 2005. Synthesis of 4-amino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazole-5-ones and their isatin-3-imine derivatives. *Molecules.* 10:376-382.
- Layer RW. 1963. The chemistry of imines. *Chemical Reviews.* 63:489-510.
- Mason TJ, Lorimer JP. 2002. *Applied Sonochemistry: Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing.* By Timothy J Mason and John P Lorimer, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2002, 303 pp, ISBN 3-527-30205-0
- Pinner A. 1892. *Die imidoether und ihne Derivate, 1. Auflaze,* Oppenheim, Berlin.
- Pretsch E, Clerk T, Seibl J, Simon W. 1983. *Tables of spectral data for structure determination of organic compounds.* Berlin: Springer-Verlag.
- Sarpong R. 2003. *Ultrasound Applications in Organic synthesis,* Stoltz Literature Meeting.
- Silverstein RM, Webster FX. 1998. *Spectrometric identification of organic compounds.* New York: John Wiley & Sons Inc.
- Thompson LH, Doraiswamy LK. 1999. *Sonochemistry: Science and Engineering.* *Ind Eng Chem Res.* 38(4):1215-1249.



## Box-Behnken deneysel tasarım metodunun boyalı sulardan kitosan koagülasyonu ile renk giderimine uygulanması

Ezgi Oktav Akdemir<sup>1\*</sup> 

<sup>\*1</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

\*Corresponding author : [ezgi.oktav@deu.edu.tr](mailto:ezgi.oktav@deu.edu.tr)  
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0001-9513-3524>

Received : 19/08/2020  
Accepted : 05/02/2021

**Özet:** Boyalı atıksular önemli çevre kirleticileri arasında yer almaktadır. Bu çalışmada, atık karides kabuklarından elde edilen bir biyolojik polimer olan kitosanın, sulu çözeltideki reaktif boyadan (C.I. reaktif mavi 221) renk giderimi amacıyla kullanılabilirliği araştırılmıştır. Deneysel çalışmalarda Box Behnken deneysel tasarım metodu kullanılmış, kitosan konsantrasyonu, boya konsantrasyonu ve koagülasyon-flokülasyon sonrası çökeltme süresinin renk giderme verimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Kitosan konsantrasyonu 50-200 mg/L, boya konsantrasyonu 50-200 mg/L ve çökeltme süresi 30-120 dakika aralığında seçilmiştir. Yapılan varyans analizi sonunda Model R<sup>2</sup> değeri 0.9923, tahmini ve hesaplanmış R<sup>2</sup> değerleri ise 0.8763 ve 0.9784 olarak hesaplanmıştır. Bu da kullanılan yöntemin istatistiki açıdan yeterince uyumlu olduğunu göstermektedir. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda 125 mg/L kitosan konsantrasyonu, 50 mg/L boya konsantrasyonu ve 30 dakika çökeltme süresi koşullarında % 67 renk giderme veriminin elde edildiği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Box-Behnken deneysel tasarım metodu, boya, kitosan, koagülasyon.

### *Application of Box-Behnken experimental design method to color removal from dyeing wastewaters by chitosan coagulation*

**Abstract:** Dyeing wastewater is among the most important environmental pollutants. In this study, the usability of chitosan, which is a biological polymer obtained from shrimp shells, was used to remove color from reactive dye (C.I. reactive blue 221) in aqueous solution. In experimental studies, Box-Behnken experimental design method was used, and the effects of chitosan concentration, dye concentration and precipitation time after coagulation-flocculation on color removal efficiency were examined. The chitosan concentration was selected between 50-200 mg/L, the dye concentration 50-200 mg/L, and the precipitation time between 30 and 120 minutes. After the analysis of variance, Model R<sup>2</sup> value was calculated as 0.9923, estimated and calculated R<sup>2</sup> values were calculated as 0.8763 and 0.9784. This shows that the method used is statistically sufficiently compatible. As a result of experimental studies, it was observed that 67% color removal efficiency was obtained under 125 mg/L chitosan concentration, 50 mg/L dye concentration and 90 minutes precipitation time.

**Key Words:** Box-Behnken experimental design method, dye, chitosan, coagulation.

## 1. Giriş

Üretim süreçleri sırasında boya kullanan endüstriler, atıksularında yüksek konsantrasyonlarda boya içeriğine sahiptirler. Tekstil endüstrisi, üretimde kullanılan boyanın % 10-15'inin atıksuya karıştığı endüstrilerden biridir. Bu endüstriden kaynaklanan boyalı atıksular alıcı ortamlarda yüksek kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), artan toksisite, biyo-bozunurluğun azalması ve biyotanın büyümesi gibi çeşitli problemlere neden olur. Bu nedenle tekstil endüstrisi

atıksularından boya giderimi gerekmektedir (Mohammed ve ark. 2014, Karthik ve ark. 2014).

Genel olarak boyalı atıksuların arıtımı, ışığa ve oksitleyici maddelere karşı stabil olmaları ve düşük biyo-bozunabilirlikleri nedeniyle güç olmaktadır (Buscio ve ark. 2016). Çoğu tekstil endüstrisi arıtma tesisinde BOİ ve KOİ giderimi için biyolojik arıtma yöntemleri kullanılsa da, genellikle tekstil endüstrisinde kullanılan boyarmaddeden kaynaklanan renk bu yöntemlerle tamamen giderilemez



(Sadhasivam ve ark. 2005). Bu nedenle, atıksudaki rengi gidermek için biyolojik işlemlere kimyasal arıtım, adsorpsiyon veya ileri oksidasyon gibi bazı yöntemler eklenmelidir.

Pıhtılaşma, yumaklaştırma ve çökeltim süreçlerinden oluşan kimyasal arıtma yöntemlerinin, disperse boya gibi çözünmeyen boyaların renklerinin giderilmesinde etkili olduğu bilinmektedir. Tekstil atıksu arıtımında alum, polialüminyum klorür, demir-II-sülfat ( $\text{FeSO}_4$ ), demir-III-klorür ( $\text{FeCl}_3$ ) ve kireç gibi bilinen geleneksel koagülantlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Robinson ve ark. 2001). Bununla birlikte, bu kimyasalların kullanımı ile oluşan toksik çamurlar suda yaşayan organizmaları ve dolaylı olarak insan sağlığını etkileyebilmektedir (Nayef 2006).

Boyalı suların doğrudan  $\text{FeCl}_3$  kullanımı ile arıtımında sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Papic ve ark. (2000), reaktif boya içeren atıksuların koagülasyon-flokülasyon işlemi ile arıtımında koagülant olarak  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  kullanmışlar ve bu işlemle % 99.5 renk giderme verimi elde etmişlerdir. Boyalı suların arıtımı için yapılan bir başka çalışmada,  $\text{FeCl}_3$  ile kimyasal koagülasyon ve Fenton oksidasyonu kombinasyonu ile en yaygın kullanılan dispers ve reaktif boya maddelerinin bazılarının renk giderimi incelenmiştir.  $\text{Fe}^{+3}$  koagülasyonu ile birlikte Fenton oksidasyonunun COD ve boya gideriminde çok etkili olduğu bulunmuş, optimum koşullarda % 90 KOİ ve % 99 renk giderme verimi elde edilmiştir (Kim ve ark. 2004). Yapılan bir başka çalışmada,  $\text{FeCl}_3$ 'ü yeşil, sarı ve kırmızı gibi üç farklı güneş geçirmez boyanın giderimi için koagülant olarak kullanılmıştır. Optimum  $\text{FeCl}_3$  konsantrasyonun 2 g/l olarak bulunduğu bu çalışmada yeşil, sarı ve kırmızı renk boyalar için bulanıklık giderme verimleri sırasıyla % 86.2, % 83.6, % 93.4 iken renk giderme verimleri ise % 82.7, % 61.4 ve % 79.0 olarak bulunmuştur (Tian ve ark. 2013).

Gerçek tekstil atıksuyunun arıtımı için koagülasyon/flokülasyon işlemlerini uygulamanın fizibilitesinin araştırıldığı bir çalışmada koagülant olarak  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  ve  $\text{FeCl}_3$  kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda KOİ, TKM ve renk gideriminde en etkili kimyasal olarak  $\text{FeCl}_3$  bulunmuştur.  $\text{FeCl}_3$  koagülasyonunun optimum deney koşulları; 150 rpm'de 1 dakika hızlı karıştırma, 30 rpm'de 20 dk yavaş karıştırma ve 30 dakika çökeltim süresi olarak belirlenmiştir (Karam ve ark. 2020)

Boyalı suların arıtımında kullanılan bir diğer kimyasal  $\text{FeSO}_4$ 'dür. Rodrigues ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada pamuk, akrilik ve polyester içeren sentetik boyalı sulardan organik bileşiklerin ve rengin giderimi araştırılmıştır. Koagülant olarak  $\text{FeSO}_4$  kullanılmış, her üç madde için farklı giderme verimleri elde edilmiştir. Polyester ve pamuk için optimum  $\text{FeSO}_4$  dozu 200 mg/l iken akrilik için bu doz 3000 mg/l olarak bulunmuştur. Optimum kimyasal dozlarında elde edilen maksimum renk giderme verimleri pamuk, akrilik ve polyester için sırasıyla % 91, % 94 ve % 99 iken çözünmüş organik karbon giderme

verimleri ise sırasıyla % 45, %28 ve % 33 olarak bulunmuştur.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, çevre dostu koagülantların atıksu arıtımında uygulanabilirliği araştırılmış, toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen doğal koagülantlar üzerinde yoğunlaşmıştır. En popüler doğal bazlı koagülantlardan biri karides işleminin bir atık ürünü olarak ortaya çıkan kitosandır. Kitosan genellikle kirletici parçacıklar ile güçlü bir şekilde reaktif olabilecek bir miktar serbest amin ve hidroksil grubu içermektedir (Guibal 2004, Akdemir 2012).

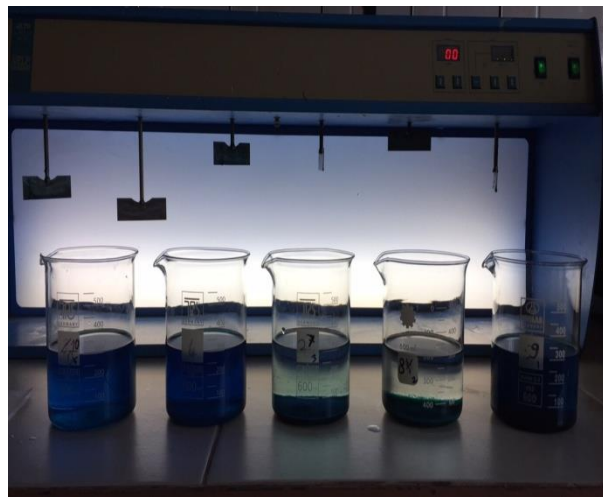
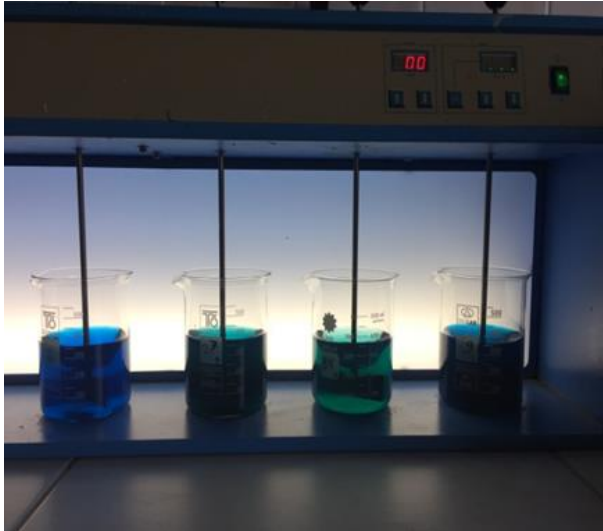
Literatürdeki çalışmalar incelendiği zaman değişik boyaların kitosan ile kimyasal arıtımı araştırılmıştır. Kongo Kırmızı boyasının kitosanla arıtımının incelendiği bir çalışmada optimum doz 25 mg/L olarak bulunmuş, bu durumda elde edilen renk giderme verimli % 75 olmuştur (Patel ve ark. 2012). Bir anyonik boya olan Asit Mavi 92'nin (AB92) kitosan koagülasyonu ile gideriminin araştırıldığı bir çalışmada ise boya konsantrasyonu 25-100 mg/L, kitosan konsantrasyonu ise 20-150 mg/L aralığında alınmış, düşük boya ve kitosan konsantrasyonlarında %99'a varan renk giderme verimleri elde edilmiştir (Szygula ve ark. 2009). Bui ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada kitosan koagülasyonu ile sulu çözeltideki reaktif kırmızı 24 (Suncion Red P-2B) boyasının başarıyla giderildiğini belirtmişlerdir. Nötr koşullar altında 80 mg/L kitosan dozunda 60 rpm çalkalama hızında 30 dakika sonunda % 99.5 renk ve % 72.7 KOİ giderme verimleri elde edilmiştir. Asit kırmızı 95 (AR95) boyasının kitosan koagülasyonu ile gideriminin araştırıldığı bir çalışmada en yüksek renk giderme veriminin (%70) elde edildiği boya konsantrasyonu 50 mg/L, kitosan konsantrasyonu 125 mg/L ve çökeltme süresi 90 dakika olarak belirlenmiştir. KOİ giderimi incelendiğinde ise 200 mg/L boya konsantrasyonu, 200 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 30 dakika çökeltme süresinde en yüksek KOİ giderme verimi (%60) elde edilmiştir (Akdemir 2018).

Bu çalışma kapsamında, bir deniz ürünü atığı olan kitosanın sulu çözeltilerden C.I. reaktif mavi 221 boyar maddesinin gideriminde koagülant olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Reaktif mavi 221 boyarmaddesinin seçilmesinin nedeni Türk tekstil endüstrisinde sıklıkla kullanılan bir boyar madde olmasıdır. Koagülant olarak seçilen kitosan ise biyolojik bir polimerdir ve uygulanan yöntem sırasında oluşan çamur toksik madde içermemektedir. Deneysel çalışmalarda farklı boyar madde ve kitosan konsantrasyonlarında hızlı karıştırma (koagülasyon), yavaş karıştırma (flokülasyon) ve çökeltim süreçlerinden oluşan jar testi deneyleri yapılmıştır. Literatürdeki çalışmalardan farklı olarak Box-Behnken istatistiksel deney tasarımı yöntemi kullanılmıştır. Çalışma bu yönüyle literatüre katkı sağlayacaktır. Kitosan konsantrasyonu, boyar madde konsantrasyonu ve çökeltim sürelerinin renk giderme verimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Renk giderme verimlerini en iyi hale getiren boya, kitosan konsantrasyonları ile çökeltim süreleri belirlenerek çalışma kapsamında sunulmuştur.

## 2. Materyal ve Metod

### 2.1. Jar testi deneyleri

Deneyel çalışmalarda kullanılan laboratuvar ölçekli jar testi sistemi, VelpScientifica firmasından F105A0109 koduyla JLT 6 modeli olarak temin edilmiştir. Jar testi düzeneği Şekil 1’de gösterilmektedir. Önceden belirlenen dozlarda boya ve kitosan dozları hassas terazide tartılarak 500 ml’lik beherlere alınmış ve üzerlerine saf su eklenmiştir. Önce 200 rpm karıştırma hızında 3 dakika hızlı karıştırma, sonra 40 rpm karıştırma hızında 45 dakika yavaş karıştırma işlemi uygulanmıştır. Karıştırma işlemi bitince numuneler farklı sürelerde çökelme işlemine tabi tutulmuştur. Çökelme işlemi sonunda beherlerin üst kısmından pipet yardımı ile örnekler alınarak renk ölçümleri yapılmıştır. Renk ölçümlerinde HACH Lange marka DR 5000 model spektrofotometre kullanılmış ve ölçümler 456 nanometre dalga boyunda yapılmıştır.

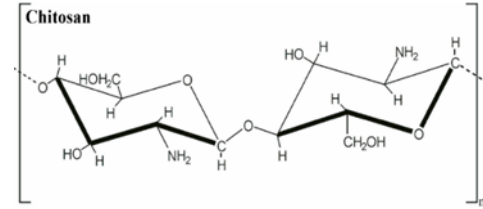


Şekil 1. Jar testi deney düzeneği

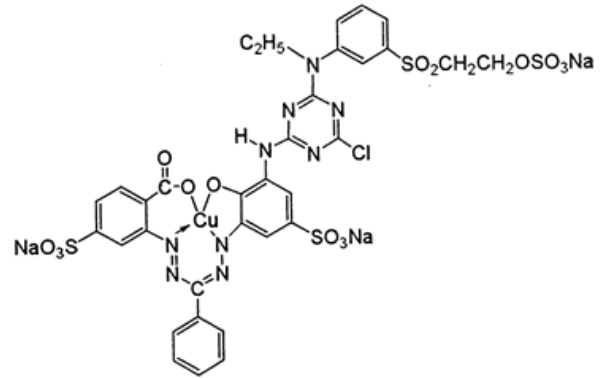
### 2.2. Kitosan ve boya

Kitosan bol miktarda ve yenilenebilir bir kaynaktır. Biyolojik olarak parçalanabilir, petrol bazlı ve toksik

değildir. Bu nedenle en çok tercih edilen katyonik doğal organik polimerdir (Syafalni ve ark. 2012). Deneyel çalışmalarda kullanılan kitosan yüksek molekül ağırlığına sahiptir. Sigma-Aldrich firmasından 419419 ürün koduyla elde edilmiş, genel kimyasal yapısı Şekil 2’de verilmiştir. C.I. reaktif mavi 221 boyası ise tekstil endüstrisinde sıkça kullanılan bir boyadır ve Denizli ili Sarayköy ilçesinde bulunan bir tekstil firmasından temin edilmiştir. Bu boyanın genel kimyasal yapısı Şekil 3’de verilmektedir.



Şekil 2. Kitosanın genel kimyasal yapısı (Syafalni ve ark. 2012)



Şekil 3. C.I. reaktif mavi 221 boyasının genel kimyasal yapısı

### 2.3. Box-Behnken deneyel tasarım metodu

Değişkenlerin objektif veya yanıt fonksiyonları üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla deneyel tasarım yapılırken, klasik yaklaşım olarak bir kerede bir değişken değiştirilmektedir. Ancak bu yaklaşım, özellikle çok değişkenli sistemler için ve ayrıca birden fazla yanıt düşünüldüğünde zaman alıcı bir yöntem olmaktadır. Deneylerin istatistiksel tasarımı ise, gerçekleştirilecek deney sayısını azaltır, değişkenler arasındaki etkileşimleri dikkate alır ve çok değişkenli sistemlerde çalışma parametrelerinin optimizasyonu için kullanılabilir. Box-Behnken tasarımı olarak bilinen modifiye edilmiş merkezi kompozit deneyel tasarım, az sayıda çalışma yaparak (örneğin, üç parametrelili bir deneyel tasarım için 15 çalışma) yanıt fonksiyonunun hesaplanmasını ve incelenen aralıktaki herhangi bir deney noktasında sistem performansının tahmin edilmesini sağlar (Ay ve ark. 2009).

Bu çalışmada üç bağımsız değişkenin yanıt fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştırmak ve renk giderme verimini en üst düzeye çıkaran koşulları belirlemek için Box-Behnken istatistiksel deney tasarımı kullanılmıştır. Bağımsız

değişkenler kitosan konsantrasyonu ( $X_1$ ), boya konsantrasyonu ( $X_2$ ) ve çöktürme süresidir ( $X_3$ ). Bağımlı değişken (veya yanıt fonksiyon) ise renk giderme verimidir ( $Y_1$ ). Her bağımsız değişkenin düşük, orta ve yüksek seviyeleri Tablo 1'de gösterildiği gibi sırasıyla -1, 0 ve +1 olarak belirlenmiştir. Kitosan konsantrasyonu ( $X_1$ ) 50-200 mg/L, boya konsantrasyonu ( $X_2$ ) 50-200 mg/L, çöktürme süresi ( $X_3$ ) 30-120 dakika aralığında seçilmiş ve toplamda 15 adet deney yapılmıştır.

**Tablo 1.** Deney noktalarının belirlenmesi

Bağımsız değişken	Sembolü	Kodlanmış hali		
		-1	0	+1
Kitosan konsantrasyonu, mg/L	$X_1$	50	125	200
Boya konsantrasyonu, mg/L	$X_2$	50	125	200
Çöktürme süresi, dakika	$X_3$	30	75	120

### 3. Bulgular ve Tartışma

Bağımlı ve bağımsız değişkenlerin değerleri ile deneysel veriler her deney için Tablo 2'de sunulmaktadır. Merkez noktası (0, 0, 0) üç kez tekrarlanmış ve verilerin tekrarlanabilirliğini gösteren hemen hemen aynı sonuçlar elde edilmiştir.

#### 3.1. Box–Behnken deneysel tasarım metodu sonuçları

Box–Behnken istatistiksel deney tasarım metodu, yanıt fonksiyonu ile bağımsız değişkenler arasında ampirik bir ilişki sunmaktadır. Yanıt fonksiyonu ( $Y$ ) ve bağımsız değişkenler ( $X$ ) arasındaki matematiksel ilişki, aşağıdaki şekilde ikinci dereceden bir polinom denklemi ile tahmin edilebilir:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 + b_{11} x_{1^2} + b_{22} x_{2^2} + b_{33} x_{3^2} \quad (1)$$

Burada  $Y$ : verim,  $b_0$ : sabit,  $b_1, b_2, b_3$ : doğrusal katsayılar,  $b_{12}, b_{13}, b_{23}$ : çapraz ürün katsayıları,  $b_{11}, b_{22}, b_{33}$ : ikinci dereceden katsayılarıdır.

Design Expert 7.0 regresyon programı kullanılarak bağımlı değişken için yanıt fonksiyonunun katsayıları, deneysel sonuçlar ile cevap fonksiyonları arasındaki korelasyon saptanmıştır. Renk giderme verimi ( $Y_1$ ) için belirlenmiş katsayılarla sahip yanıt fonksiyonu eşitlik (2)'de verilmiştir.

$$Y_1 = 98.26118 - 0.12286 X_1 - 0.00090971 X_2 + 0.7707 X_3 + 0.000598 X_1 X_2 + 0.0057524 X_1 X_3 - 0.0003064 X_2 X_3 - 0.0024686 x_{1^2} + 0.00055797 x_{2^2} + 0.0005262 x_{3^2} \quad (2)$$

Yanıt fonksiyonundaki katsayıların işaretleri ve büyüklükleri bağımsız değişkenlerin yanıt fonksiyonu

üzerindeki etkisini göstermektedir. Eşitlik (2)'ye bakıldığında zaman renk giderme veriminin çöktürme süresi ( $X_3$ ) ile arttığı, kitosan ( $X_1$ ) ve boya konsantrasyonları ( $X_2$ ) ile ise azaldığı görülmektedir. Boya konsantrasyonu katsayısı diğer katsayılardan  $10^3$  kat küçük olduğu için verim üzerinde etkisinin çok düşük olduğu söylenebilir.

Yanıt (renk giderme verimi) için varyans analizi (ANOVA) testleri de yapılmış ve sonuçları Tablo 3'de sunulmuştur. Tablo 3'de görüldüğü gibi, Model F- değeri 71.31 olarak hesaplanmıştır. Bu değer modelin istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir. 0.05'den daha küçük Prob>F değerleri belirlenen değişkenlerinin istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir. Buna dayanarak  $X_1$ ,  $X_3$ ,  $X_1 X_2$ ,  $X_1 X_3$ ,  $X_1^2$  ve  $X_2^2$  terimlerinin önemli model terimleri olduğu söylenebilir. Model  $R^2$  değeri 0.9923 olarak elde edilmiştir. Tahmini ve hesaplanmış  $R^2$  değerleri ise 0.8763 ve 0.9784 olarak hesaplanmış olup bu iki değer birbiri ile istatistiki açıdan yeterince uyumludur. Elde edilen 3 boyutlu model grafiğinin uygunluk hassasiyeti (adeq. Prec.) değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir. Yapılan veri analizi neticesinde bu değer 31.132 olarak belirlenmiştir. Bu nedenle tasarım alanı, sonuçların 3 boyutlu grafiksel gösterimi için uygundur.

#### 3.2. Renk giderme verimi

Yapılan deneysel çalışmalarda farklı dozlarda boya ve kitosan tartılarak 500 ml beherlere alınmış, üzerlerine saf su eklenmiştir. Önce 3 dakika hızlı karıştırma, sonra 45 dakika yavaş karıştırma ve son olarak belirli sürelerde çöktürme uygulanmıştır. Üst sudan numune alınmış, renk ölçümü yapılarak renk giderme veriminin değişimi incelenmiş, sonuçlar Şekil 4'de verilmiştir.

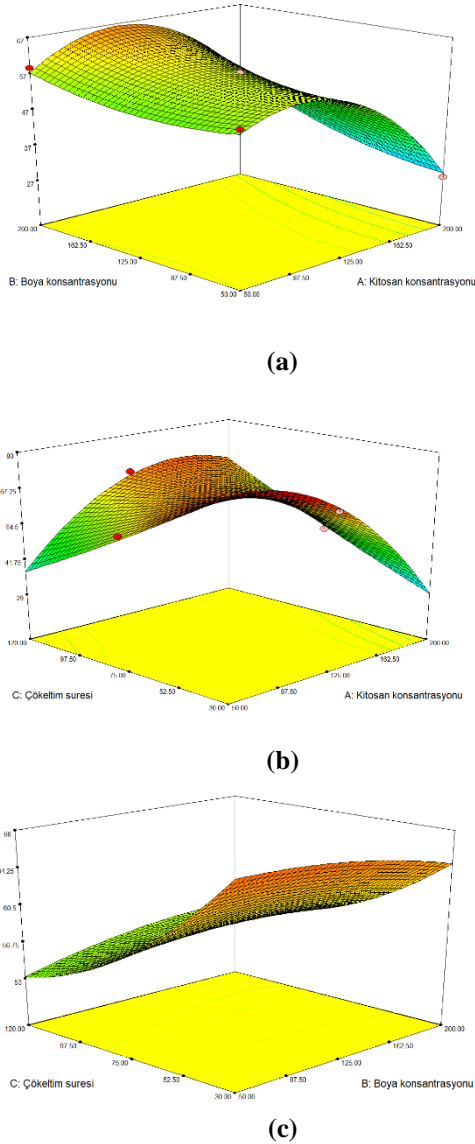
Şekil 4 (a) incelendiğinde, bütün boya konsantrasyonları için renk giderme veriminin belli bir kitosan konsantrasyonuna kadar artarak maksimum değere ulaştığı, daha sonra da sistematik olarak azaldığı görülmektedir. Bu durum yük nötralizasyon mekanizması tarafından kontrol edilen bir koagülasyon-flokülasyon sisteminin tipik eğrisidir. Düşük kitosan konsantrasyonlarında, kitosanın protonlanmış amin grupları sülfonik gruplar taşıyan anyonik boya tarafından elektrostatik olarak çekilir. Bu reaksiyon sayesinde boyaların anyonik yükleri nötralize edilmiş olur. Protonlanmış amin gruplarının miktarı anyonik yükleri tamamen nötralize ettiğinde, boya giderme verimi maksimuma ulaşır. Bu çalışma için 125 mg/L kitosan dozunda maksimum verim elde edilmiştir. Çözeltiye 125 mg/L'den fazla kitosan eklendiği zaman ise aşırı miktardaki protonlanmış amin grupları çözeltide yeniden stabilize hale gelir ve verimi düşürür (Guibal ve ark. 2004, Akdemir 2012). 200 mg/L sabit boya konsantrasyonu için renk giderme verimleri incelenecek olursa, kitosan konsantrasyonu 50 mg/L iken verim % 57.2'dir. Konsantrasyon 125 mg/L'ye çıktığında verim de %66.6'ya çıkmıştır. 200 mg/L kitosan dozunda elde edilen verim ise % 47.1'dir.

**Tablo 2.** Box-Behnken deney tasarımına göre kodlanmış değerler ve cevap değerleri

Deney numarası	X <sub>1</sub> (mg/L)	X <sub>2</sub> (mg/L)	X <sub>3</sub> (dakika)	Y <sub>1</sub> (%)			
1	(-1)	50	(0)	125	(+1)	120	31.2
2	(0)	125	(0)	125	(0)	75	57.5
3	(-1)	50	(-1)	50	(0)	75	55.2
4	(+1)	200	(0)	125	(+1)	120	54.6
5	(-1)	50	(0)	125	(-1)	30	73.6
6	(0)	125	(-1)	50	(+1)	120	58.3
7	(0)	125	(0)	125	(0)	75	57.5
8	(0)	125	(+1)	200	(-1)	30	67.1
9	(+1)	200	(+1)	200	(0)	75	45.0
10	(-1)	50	(+1)	200	(0)	75	58.7
11	(0)	125	(-1)	50	(-1)	30	54.8
12	(0)	125	(0)	125	(0)	75	57.5
13	(+1)	200	(0)	125	(-1)	30	19.2
14	(+1)	200	(-1)	50	(0)	75	28.0
15	(0)	125	(+1)	200	(+1)	120	66.5

**Tablo 3.** Renk giderimi için varyans analizi (ANOVA)

Terimler	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri Prob > F
Model	3208.76	9	356.53	71.31	< 0.0001
X <sub>1</sub>	648.73	1	648.73	129.74	< 0.0001
X <sub>2</sub>	210.59	1	210.59	42.12	0.5548
X <sub>3</sub>	2.00	1	2.00	0.40	0.0013
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	45.27	1	45.27	9.05	0.0298
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	1507.66	1	1507.66	301.53	< 0.0001
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	4.28	1	4.28	0.86	0.3974
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	711.97	1	711.97	142.39	< 0.0001
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	36.37	1	36.37	7.27	0.0429
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	4.18	1	4.18	0.84	0.4023
Residual	25.00	5	5.00		
Cor Toplam	3233.76	14			



**Şekil 4.** Renk giderme veriminin boya konsantrasyonu, kitosan konsantrasyonu ve çöktürme süresi ile değişimi **a)** çöktürme süresi: 75 dakika **b)** boya konsantrasyonu: 200 mg/L **c)** kitosan konsantrasyonu: 125 mg/L.

200 mg/L boya konsantrasyonu için renk giderme veriminin çöktürme süresi ve kitosan konsantrasyonu ile değişimi Şekil 4 (b)'de görülmektedir. Bu boya konsantrasyonu için renk giderme verimi 30 dakikalık çöktürme süresinde maksimum seviyededir. Sürenin artmasıyla birlikte verimde azalmalar gözlenmiştir. 30 dakikadan itibaren oluşan floklar yeniden stabilize hale geldiği için kitosan ile boya daha az etkileşime girmektedir. Dolayısıyla renk giderme verimi de düşmektedir (Bui ve ark. 2016). 30 dakikalık çöktürme süresinde renk giderme verimi % 67 iken süre 120 dakikaya çıkarıldığında verim % 40'a düşmüştür. Renk giderme veriminin boya konsantrasyonu ile değişimi incelendiği zaman ise, boya konsantrasyonunun verim üzerinde çok etkili olmadığı görülmüştür (Şekil 4 (a) ve (c)). 125 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 30 dakika çöktürme süresi için 50

mg/L ve 200 mg/L boya konsantrasyonlarında % 67 renk giderme verimi elde edilmiştir.

#### 4. Sonuçlar

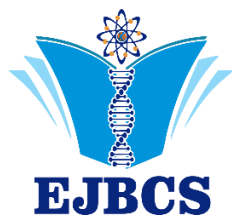
Bu çalışmada, C.I. reaktif mavi 221 boyasını içeren sentetik sudan koagülasyon-flokülasyon işlemi ile renk giderimi amacıyla kitosanın kullanılabilirliği araştırılmıştır. Box-Behnken deneysel tasarım metodunun kitosan koagülasyonu ile renk giderimi için istatistiksel olarak güvenilir sonuçlar verdiği kanıtlanmıştır. Yapılan varyans analizi sonunda Model  $R^2$  değeri 0.9923, tahmini ve hesaplanmış  $R^2$  değerleri ise 0.8763 ve 0.9784 olarak bulunmuştur. Yanıt fonksiyonundan elde edilen tahminler, kullanılan metodolojinin güvenilirliğini gösteren deneysel sonuçlarla iyi bir uyum içindedir. Bu da kullanılan yöntemin istatistiki açıdan uygun olduğunu göstermektedir.

Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda renk giderme veriminin artan kitosan konsantrasyonu ile arttığı, 125 mg/L'nin üzerindeki kitosan konsantrasyonunda ise verimin azalmaya başladığı gözlenmiştir. Boya konsantrasyonundaki değişiklik verimi çok fazla etkilememektedir. Çöktürme süresindeki artış ise renk giderme veriminde azalmaya neden olmaktadır. Sonuç olarak en yüksek renk giderme veriminin (% 67) elde edildiği koşullar 50 mg/L boya konsantrasyonu, 125 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 30 dakika çöktürme süresidir.

#### Kaynaklar

- Akdemir EO. 2012. A statistical experiment design approach for decolorization of textile dyestuff by coagulation with chitosan. *Fres Environ Bul.* 21 (6): 1461-1467
- Akdemir EO. 2018. Boyalı suların çitosan koagülasyonu ile arıtımında box-wilson istatistiksel tasarım yönteminin kullanılması. *Dokuz Eylül Üniversitesi-Mühendislik Fakültesi Fen ve Müh. Der.* 20 (59): 612-627
- Ay F, Catalkaya EC, Kargı F. 2009. A statistical experiment design approach for advanced oxidation of direct red azo-dye by photo-fenton treatment. *J Hazard Mat.* 162: 230-236
- Bui HM, Duong HTG, Nguyen CD. 2016. Applying an artificial neural network to predict coagulation capacity of reactive dyeing wastewater by chitosan. *Polish J Environ Stud.* 25 (2): 545-555
- Buscio V, Crespi M, Gutierrez-Bouzan C. 2016. Application of pvdf ultrafiltration membranes to treat and reuse textile wastewater. *Des Water Treat* 57: 8090-8096
- Guibal E. 2004. Interactions of metal ions with chitosan based sorbents: A review. *Sep Purif Technol.* 38: 43-74
- Karam A, Bakhroum ES; Zaher K. 2020. Coagulation/flocculation process for textile mill effluent treatment: experimental and numerical perspectives. *Int J Sust Eng.* (in press)
- Karthik V, Saravanan K, Bharathi P, Dharanya V, Meiaraj C. 2014. An overview of treatments for the removal of textile dyes. *J Chem Pharma Sci.* 7 (4): 1215-1220

- Kim TH, Park C, Yang J, Kim S. 2004. Comparison of disperse and reactive dye removals by chemical coagulation and Fenton oxidation. *J Hazard Mat.* 112: 95-102
- Mohammed MA, Shitu A, Ibrahim A. 2014. Removal of methylene blue using low cost adsorbent: A review. *Res J Chem. Sci.* 4 (1): 91– 102
- Nayef ZAM. 2006. Coagulant toxicity and effectiveness in a slaughterhouse wastewater treatment plant. *Ecotox Environ Safety.* 65 (1): 74-83
- Papic S, Koprivanac N, Bozic AL. 2000. Removal of reactive dyes from wastewater using Fe (III) coagulant. *Color Technol.* 116: 352-360
- Patel H, Vashi RT. 2012. Removal of congo red dye from its aqueous solution using natural coagulants. *J Saudi Chem Soci.* 16: 131–136
- Robinson T, McMullan G, Marchant R, Nigam P. 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technol.* 77: 247–255
- Rodrigues CSD, Madeira LM, Boaventura RAR. 2013. Treatment of textile dye wastewaters using ferrous sulphate in a chemical coagulation/flocculation process. *Environ Technol* 34(6): 719-729
- Sadhasivam S, Saritha E, Savitha S, Swaminathan K. 2005. Comparison of the efficiency of live and autoclaved mycelium of *Trichoderma harzianum* on the removal of trypan blue. *Bull Environ Contam Toxicol.* 75 (5): 1046-1053
- Syafalni S, Abustan A, Zakaria SNF, Zawawi MH, Rahim RA. 2012. Raw water treatment using bentonite-chitosan as a coagulant. *Water Sup.* 12 (4): 480–488
- Szygula A, Guibal E, Palacin M, Ruiz M, Sastre AM. 2009. Removal of an anionic dye (acid blue 92) by coagulation–flocculation using chitosan. *J Environ Manag.* 90 (10): 2979-2986
- Tian YP, Wang B. 2013. Experimental study of optimal coagulation effect on three kinds of direct sun-proof dyes by FeCl<sub>3</sub>. *Adv Mat Res.* 690: 1504-1510



## Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

Journal homepage: [www.dergipark.org.tr/ejbc](http://www.dergipark.org.tr/ejbc)



### Anatomical Structure and Ecological of *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce and Its on Contribution to the Taxonomy of Orchidaceae

Derviş ÖZTÜRK<sup>1\*</sup>

Eskişehir Osmangazi University, Mahmudiye Equine Vocational School, Department of Plant and Animal Production, Eskişehir, Turkey

\*Corresponding author : dozturk @ogu.edu.tr  
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0001-7189-7407>

Received : 10/04/2020  
Accepted : 01/04/2021

**Abstract:** In this study, in the present study reveals the morphological, anatomical and ecological characteristic of *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce in Turkey. Plant materials of *Cephalanthera* species were collected from one population, between 2018 in Eskişehir/Turkey. *C. damasonium* (Mill.) Druce samples were analyzed for 7 anatomical and soil characters and habitat properties. It was investigated micrometrically in the anatomy of *C. damasonium* (Mill.) Druce. In morphological investigations, the structure of flower, lateral sepal, petal, dorsal sepal, lip, anther cap and column was determined. The findings were compared with those in Flora of Turkey. to habitat definition, *C. damasonium* (Mill.) Druce grew up to 800 m to 1200 m.

**Keywords:** Anatomical, Morphological, *Cephalanthera damasonium*, Eskişehir, Turkey.

© EJBCS. All rights reserved.

#### 1. Introduction

Orchidaceae is the most famous and attractive plant family among all plant families of the world. Turkey is a rich country of terrestrial orchids and represented by 150 taxa (Arditti, 1992; Prigdeon, 1992; Julou et al. 2005). Turkish orchidaceae were introduced in the volume 8 and 11 of Flora of Turkey. In Turkey, Orchidaceae is represented by 26 genus and about 166 species, of which 60 are endemic (Davis et al. 1978; Güner et al. 2000; Ataşlar, 2018; Dreesler, 1983; Pecoraro et al. 2017; Şegota et al. 2012; Stöckel et al. 2011). Terrestrial orchids have creeping, much reduced, fibrous or fleshy rhizomes or tuber like roots. *Orchis* L. taxa are terrestrial orchids and diagnosed by a basal rosette and terminal, unbranched inflorescence that is composed of small to moderately large resupinate flowers. This genus belonged to the Orchidinae tribe of which 30 species demonstrate their main distribution in the Northern regions of Europe and Asia (Renz and Taubenheim, 1984; Dressler, 1993; Kreutz, 2000; Kreutz, 2009; Abadie et al. 2006; Dafni and Ivri 1981). Most cultivars are tropical or sub-tropical. This species is known as salep in Turkey likes many other members of Orchidaceae (Baytop, 1997; Akman et al. 2014).

Orchids are nearly found in all ecosystems around the world except for glaciers, true desert and open water,

although tropical areas especially in Asia, Africa and America are the hot spots of diversity. *Orchis* is a major genus of Orchidaceae family in Flora of Turkey, represented by 22 species (Renz and Taubenheim, 1984; Kreutz, 2000). In the last description study on *Orchis* (Kreutz, 2009), some species were classified under the genus *Anacamptis* and *Neotinea* (Kreutz, 2009). In this study, the nomenclature of *Orchis* is according to the Flora of Turkey (Renz and Taubenheim, 1984).

The charisma of orchids and their biology have attracted botanists and general public as many varieties and hybrids are widely cultivated; this passion has inspired intrepid collecting expeditions and spawned hundreds of orchid societies and clubs around the world, spawning a global cultivation industry worth nine-billion dollars annually (Ziegler, 2007; Çepel N. 1988). Ecology, morphology and anatomy of several Turkish *Orchid* species have been studied earlier (Durmuskahya, 2013; Durmuskahya et al., 2014; Aybeke et al., 2010). Turkey has a rich biodiversity and has got more than 170 taxa (Kreutz, 2009). In high of the above, the aim of the present study was to investigate new ecological, morphological and anatomical information about another orchis taxa and to provide base knowledge for further studies. This species is known as salep in

Turkey likes many other members of Orchidaceae (Baytop, 1997; Tuzlaci, 2006).

The aim of the present study is to describe the morphological and anatomical structure and in addition to investigate the epidermal cell and stomata of leaves of *Cephalanthera damasonium*.

## 2. Materials and Method

*C. damasonium* was collected from Eskişehir: Sarıcakaya-Hekimdağ, below Quercus trees, 1000 m., 19.05.2018 and stored in the Eskişehir Osmangazi University Herbarium as a herbarium specimen (OUFE 12509). Determination of the species was made according to the Davis (1978 & 1988). Morphological descriptions are based on living plants and herbarium specimens.

Anatomical investigations were applied on the leaves of samples fixed in 70% alcohol. The transverse sections discarded from mid-vessels of leaves were stained with safranin and upper and lower surface layers were investigated in the media with 20% gliserin (Vardar, 1987). The well-staining sections were photographed on Leica DFC 295 color camera type, Leica DM 2500 light microscope. In this study, total 5 plant samples were collected for anatomical studies.

The surface layer of soil was removed and soil samples taken from 0-5 and 5-15 cm depth were analysed. The samples were air dried, ground, passed through a 2 mm sieve and subjected to physico-chemical analysis. Total soluble salts, pH, calcium carbonate content and texture were determined by the methods outlined in detail by Ozturk et al. (1997).

## 3. Results

Plant 15-45 cm. Basal leaves usually broadly lanceolate and unspotted. Spike ovoid to conical, with flowers opening from top downwards. Flowers whitish pink, with an upswept hood; lip conspicuous and in shape of a man with body.

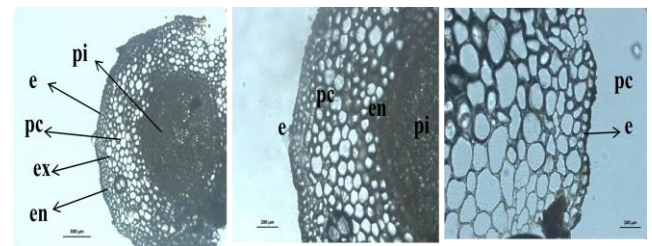


**Fig. 1** *C. damasonium* (Mill.) Druce habitat view.

*C. damasonium* (Mill.) Druce is labellum 15-20 mm, centre whitish-rose, deeply segmented near base into linear lateral lobes, middle lobe ligulate, divided into 2 linear

lobules; all lobules darker purple towards apex. Spur cylindrical. Fl. 4-5. Grassy hillsides, Scrub, on calcareous soils, Quercus scrub, 900-1000 m. (P.H. Davis, 1978) (Fig 1).

Cross section of root showed single layered epidermal cells. The cell length was longer than width ( $30-60 \times 45-100 \mu\text{m}$ ). Cortex consisted of 7-12 layered parenchymatous cells. The shape of cortex cells ranged from oval to globular. These cells were 60-100  $\mu\text{m}$  in diameter and their walls were thin. Parancymatic cells located far from center were smaller than the ones close to center (Fig. 1A). Similar results have been earlier reported by several authors in members of Orchidaceae family (Aykebe et al., 2010; Altundag et al., 2012; Durmuskahya et al., 2014). Endodermal cells ( $35-50 \times 45-100 \mu\text{m}$ ) with thickened wall were seen. Pericycle was single-layered and located under endodermis. (Fig. 2, Tab. 1).



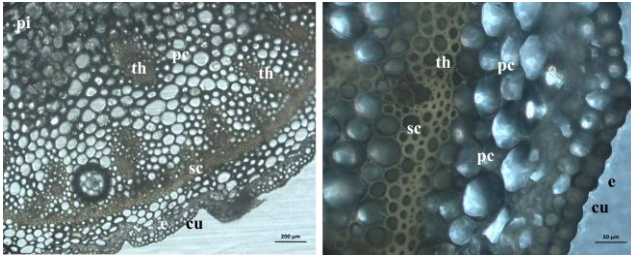
**Fig. 2** Root transverse section of *C. damasonium*. e epidermis, ex exodermis, pc parenchymatic cells, en endodermis, ph phloem, xy xylem, pi pith (Bar 100  $\mu\text{m}$ )

	Width ( $\mu\text{m}$ )		Length ( $\mu\text{m}$ )	
	Min.	Max.	Min.	Max.
<b>Root</b>				
Epidermis	15	25	25	60
Cortex	40	120	70	105
parenchyma				
Endodermis	10	35	20	60

**Table 1** Root anatomy measurement of *C. damasonium* (Figure 2)

The anatomical section of stem showed thick cuticle layer. Under this layer there was a single layered epidermis. Epidermal cells were square or rectangular shaped,  $35-150 \times 30-50 \mu\text{m}$ . 8-16 layers of cortex cells were found under epidermis with 20-30  $\mu\text{m}$  diameter. Few collenchyma cells with thick and lignified cell walls were found in cortex layer. 10-24 layered collenchyma cells gave durability to the stem. (Fig. 3). Vascular bundles were collateral and located in one ring. The bundle sheath consisted of sclerenchymatic cells, at the phloem pole of vascular bundles. Pith had many lacunas in the centre of stem due to the breakup of pith into pieces (Fig. 3, Tab. 2).



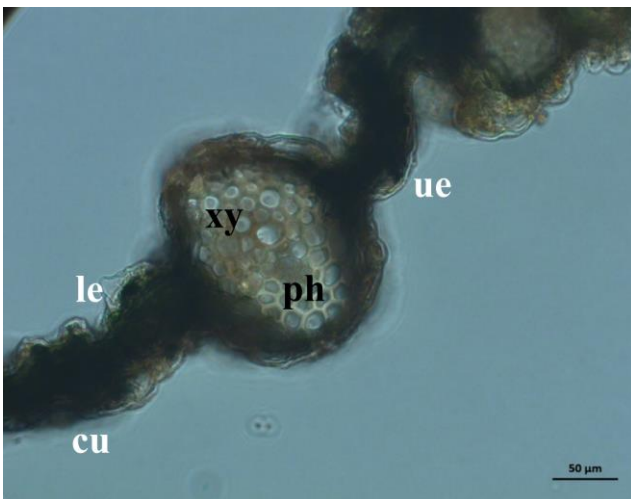


**Fig. 3** Stem transverse section of *C. damasonium* (Mill.) Druce, cu cuticle, e epidermis, pc parenchymatic cells, th trachea, pi pith (Bar 100 µm)

**Table 2** Stem anatomy measurement of *C. damasonium* (Mill.) Druce . (Figure 3)

	Width (µm)		Length (µm)	
	Min.	Max.	Min.	Max.
Stem				
Epidermis	20	40	30	50
Cortex parenchyma	30	60	50	110
Trachea (diameter)	125	240	200	350

In leaves, adaxial epidermis consisted of a single layer of rectangular cells 25-80 × 30-60 µm with smooth cuticle. Abaxial epidermis was 55-80 × 35-50 µm. Adaxial epidermis cells were bigger than abaxial epidermis cells and adaxial cuticle thicker than adaxial. These features were observed in *O. laxiflora* Lam and *O. purpurea* Hudson by Aybeke et al. (2010). But Sevgi et al. (2012) observed that these species had thicker cuticle on abaxial side and they had similar thickness on both adaxial and abaxial surface. Mesophyll layer was homogenous, without any differentiation in to palisade and sponge parenchyma tissues (Fig. 4, Tab. 3).

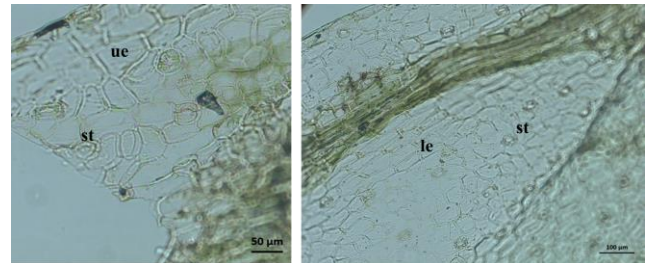


**Fig. 4** Leaf transverse section of *C. damasonium* (Mill.) Druce, c cuticle, ue upper epidermis, p parenchyma, ph phloem, xy xylem, le lower epidermis (Bar 100 µm)

**Table 3** Leaf anatomy measurement of *C. damasonium* (Figure 4)

	Width(µm)		Length (µm)	
	Min.	Max.	Min.	Max.
Leaves				
Adaxial epidermis	5	10	10	15
Mesophyll cells	15	20	30	50
Abaxial epidermis	5	15	5	20
Trachea (diameter)	40	70	45	90

Leaves surface of investigated species was glabrous like many other orchid species. In leaves, adaxial epidermis consisted of a single layer of rectangular cells 50-110 × 80-85 µm with smooth cuticle. Abaxial epidermis was 45-100 × 55-155 µm. Adaxial epidermis cells were bigger than abaxial epidermis cells and adaxial cuticle thicker than adaxial. (Fig. 5, Tab. 4).



**Fig. 5** Leaf epidermal peeling of *C. damasonium* (Mill.) Druce, ue upper epidermis, le lower epidermis, st stomata (Bar 100 µm)

**Table 4** Leaf anatomy measurement of *C. damasonium* (Figure 5)

	Width(µm)		Length(µm)	
	Min.	Max.	Min.	Max.
Leaves				
Adaxial epidermis	20	50	60	150
Abaxial epidermis	30	60	30	60

#### 4. Discussion

In this study *C. damasonium* (Mill.) Druce was investigated ecology, morphologically and anatomically. Morphological drawings of flower, lateral sepal, dorsal sepal, petal, lip, anther cap and column were made. The results obtained from morphological studies were

generally consistent with the description given in the Flora of Turkey (Davis 1978 & 1988). As a whole this study increase the knowledge of the morphology and anatomy in *Orchis* reporting data about the *C.damasonium* (Mill.) Druce.

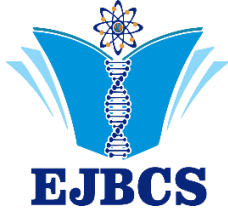
## 5. Conclusion

Cross section of root showed single layered epidermal cells. The cell length was longer than width (15-25 × 25-60 µm). Cortex consisted of 10-16 layered parenchymatous cells. The shape of cortex cells ranged from oval to globular. Parancymatic cells located far from center were smaller than the ones close to center (Fig. 2). Endodermal cells (10-35 × 20-60 µm) with thickened wall were seen clearly. Pericycle was single-layered and located under endodermis. (Fig. 2). The anatomical section of stem showed thick cuticle layer. Under this layer there was a single layered epidermis. Epidermal cells were square or rectangular shaped, 20-40 × 30- 50 µm. 20-30 layers of cortex cells were found under epidermis with 40-80 µm diameter. Few collenchyma cells with thick and lignified cell walls were found in cortex layer. Vascular bundles were collateral and located in one ring. The bundle sheath consisted of sclerenchymatic cells, at the phloem pole of vascular bundles. Pith had many lacunas in the centre of stem due to the breakup of pith into pieces (Fig. 3).

Leaves surface of investigated species was glabrous like many other orchidaceae species. In leaves, adaxial epidermis consisted of a single layer of rectangular cells (5-10 × 10-15 µm) with smooth cuticle. Abaxial epidermis was 5-15 × 5-20 µm. Adaxial epidermis cells were bigger than abaxial epidermis cells and adaxial cuticle thicker than abaxial. Mesophyll layer was homogenous, without any differentiation in to palisade and sponge parenchyma tissues (Fig. 4).

## References

- Abadie JC, Püttsepp Ü, Gebauer G, Faccio A, Bonfante P, & Selosse MA. 2006. *Cephalanthera longifolia* (Neottieae, Orchidaceae) is mixotrophic: a comparative study between green and nonphotosynthetic individuals. *Botany*. 84(9): 1462-1477.
- Akman Y, Ketenoglu O, Kurt L, & Vural M. 2014. The steppe vegetation of Inner Anatolia.
- Altundag E, Sevgi E, Kara O, Sevgi O, Tecimen HB, Bolat I. (2012). Comparative morphological, anatomical and habitat studies on *Dactylorhiza romana* (Seb.) Soó subsp. *romana* and *Dactylorhiza romana* (Seb.) Soó subsp. *georgica* (Klinge) Soó ex Renz & Taub.(Orchidaceae) in Turkey. *Pak J Bot*, 44, 143-152.
- Arditti J. 1992. *Fundamentals of orchid biology*. John Wiley & Sons.
- Ataşlar E. 2018. Morpho-anatomical structure of *Orchis mascula* (L.) L. and its contribution to the taxonomy of Orchidaceae. *EIJST*. 7(6).
- Aybeke M, Sezik E, Olgun G. 2010. Vegetative anatomy of some *Ophrys*, *Orchis* and *Dactylorhiza* (Orchidaceae) taxa in Trakya region of Turkey. *Flora*. 205(2): 73-89.
- Baytop, T. *Turkish Plant Name Dictionary*, Atatürk Culture, Linguistic and History Association Publishing No: 578, p: 521, Ankara, (1997).
- Dafni A, Ivri Y. 1981. The flower biology of *Cephalanthera longifolia* (Orchidaceae) pollen imitation and facultative floral mimicry. *Plant Syst Evol*. 137(4): 229-240.
- Çepel N. 1988. *Toprak İlimi Ders Kitabı; Orman Topraklarının Karakteristikleri, Toprakların Oluşumu, Özellikleri ve Ekolojik Bakımdan Değerlendirilmesi*. İÜ Orman Fakültesi Yayınları, Yayın, (3416-389).
- Davis PH. 1978. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* 8, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Davis, P. H., Mill, R. R. & Tan, K. (Eds.) (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Volume 10, 289. Edinburgh University Press.
- Dreesler RL. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Dioscorides Press, p. 314.
- Durmuşkahya, C.: *Orchids of Mugla T.C. Forest and Water Ministry Publishing*, Mugla, Turkey, p:60, (2013).
- Durmuskahya, C., C. Ozdemir, B. Bozdog and M. Ozturk: *Studies on the Morphology, Anatomy and Ecology of Ophrys lutea Cav. Subsp. Minor (Guss.) O. Danesch & E. Danesch ex Golz & H.R. Reinhard (Orchidaceae) in Turkey*. *Paki. J. Bot.*, 46, 81-88, (2014).
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC. 2000. *Flora of Turkey and the east Aegean Islands*. Supplement 2: 28.
- Julou T, Burghardt B, Gebauer G, Berveiller D, Damesin C, Selosse MA. 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. *New Phytologist*, 166(2): 639-653.
- Kreutz CAJ. 2000. *Orchidaceae*. In *Flora of Turkey and the East Aegean islands* (Eds.: A Guner, N Ozhatay, T Ekim, KHC Baser). Edinburgh University Press, Edinburgh, 11: 274 – 303.
- Kreutz CAJ. 2009. *Orchids of Turkey, Botanical Properties, Ecological Requirements, Natural Spreading Sites, Vital Threats, Precautions for Protection* (Trans & Cont. A Colak), Rota Publications, pp 55-848.
- Ozturk, M., M. Pirdal and F. Ozdemir. 1997. *Applications in Plant Ecology*. Ege University, Science Faculty Book Series No: 157, Ege Un, iversity Press, İzmir, Turkey.
- Pecoraro L, Huang L, Caruso T, Perotto S., Girlandam M, Cai L., & Liu ZJ. 2017. Fungal diversity and specificity in *Cephalanthera damasonium* and *C. longifolia* (Orchidaceae) mycorrhizas. *JSE*. 55(2): 158-169.
- Renz J, Taubenheim G. 1984. *Dactylorhiza Necker ex Nevski*. *Flora of Turkey and the east Aegean islands*, 8:535-551.
- Renz J, and G Taubenheim. 1984. *Orchis L. (Orchidaceae)*, In: *Flora of Turkey and the East Aegean islands* (Eds.: P.H. Davis). Edinburgh, University Press, Edinburgh. 8: 451-600.
- Šegota V, Hršak V, Alegro A. 2012. *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce in Mediterranean evergreen vegetation. *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*. 21(1): 247-254.
- Sevgi E, Altundag E, Kara O, Sevgi O, Tecimen HB, Bolat I. 2012. Morphological, anatomical and ecological studies on some *Orchis* (Orchidaceae) taxa of Mediterranean region, Turkey. *JEB*. 33(2): 343.
- Stöckel, M, Meyer C, Gebauer G. 2011. The degree of mycoheterotrophic carbon gain in green, variegated and vegetative albino individuals of *Cephalanthera damasonium* is related to leaf chlorophyll concentrations. *New Phytologist*, 189(3): 790-796.
- Tuzlaci, E. *A Dictionary of Turkish Plants*, Alfa Publishing, pp: 353, Istanbul (2006).
- Vardar Y. 1987. *Botanikte preparasyon tekniği*. Ege Üniversitesi, İzmir.
- Ziegler, C. *Favored Flowers: Culture and Economy in a Global System*, Duke University Press, USA.(2007)



## Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

Journal homepage: [www.dergipark.org.tr/ejbc](http://www.dergipark.org.tr/ejbc)



### Ti/RuO<sub>2</sub> karışık metaloksit elektrot kullanılarak elektrokimyasal oksidasyon ile boyarmadde giderimine NaCl destek elektrolitinin etkisi ve toksik etkilerin değerlendirilmesi

Elif Deliktaş\*<sup>1</sup>, Yusuf Yavuz

<sup>1</sup>Eskişehir Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü,, Eskişehir, Türkiye.

\*Corresponding author : [elifdeliktas@eskisehir.edu.tr](mailto:elifdeliktas@eskisehir.edu.tr)  
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0002-5289-1285>

Received : 04/05/2020  
Accepted : 01/04/2021

**Özet:** Endüstriyel kirlenmede önemli bir paya sahip olan tekstil endüstrisi yalnız gelişmiş ülkelerde değil gelişmekte olan ülkelerde de ekonomik açıdan önemli rol almaktadır. Sanayi su ihtiyacının önemli bir kısmı tekstil endüstrisinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte tekstil atıksuları geleneksel arıtma yöntemleri ile giderimi güç zehirli kimyasal bileşikler içermektedir. Ayrıca renkli boyahane atıksuları alıcı ortamda organik kirliliğin yanı sıra güneş ışığı geçirimini engellemesi sebebi ile canlı yaşamını da engellemektedir. Tekstil atıksularının arıtılarak proses suyu olarak kullanılması gerek akademik gerekse de sektör bazında büyük ilgi çekmektedir.

Bu çalışmada Ti/RuO<sub>2</sub> karışık metaloksit elektrot ile Reaktif Orange 16 (RO16) boyarmaddesinin elektrokimyasal oksidasyon yöntemi ile renk giderimine NaCl destek elektrolitinin katkısı araştırılmış ve analiz sonuçlarında toksik etkiler değerlendirilmiştir. NaCl destek elektroliti ile yapılan optimizasyon çalışmalarında akım yoğunluğu, akış hızı, pH, başlangıç kirlilik derişimleri gibi parametreler çalışılmıştır. Elde edilen optimum koşullar farklı kirlilik derişimlerine uygulanmış, renk ve toksisite değerlendirilerek çalışma sonlandırılmıştır.

Başlangıç kirlilik derişiminin 30 mg/L olduğu model çalışma çözeltisinin NaCl elektroliti ile elektrokimyasal oksidasyonunda 50 A/m<sup>2</sup> akım yoğunluğu, 155,84 mL/dk akış hızı, pH<sub>0</sub> (6,12) ve 0,06 M elektrolit varlığında 25 dk'lık bir arıtım süresi sonunda ~%100 renk giderimi ve 0,8008 kWh/m<sup>3</sup> enerji tüketimi elde edilmiştir. Başlangıç kirlilik derişiminin 125 mg/L olduğu model çalışma çözeltisinin NaCl elektroliti ile elektrokimyasal oksidasyonunda 50 A/m<sup>2</sup> akım yoğunluğu, 155,84 mL/dk akış hızı, pH<sub>0</sub> (6,03) ve 0,06 M elektrolit varlığında 40 dk'lık bir arıtım süresi sonunda ~%100 renk giderimi ve 0,9240 kWh/m<sup>3</sup> enerji tüketimi elde edilmiştir. Elde edilen optimum koşullarda başlangıç kirlilik derişiminin 125 mg/L olduğu deneysel çalışmada %80 toksisite giderimi elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Elektrokimyasal oksidasyon, boyarmadde, destek elektrolit, Ti/RuO<sub>2</sub> elektrot, toksisite

### *Effect of NaCl support electrolyte on dyestuff removal with electrochemical oxidation method using Ti/RuO<sub>2</sub> mixed metaloxide electrode and investigation of toxic effects*

**Abstract:** Textile industry, which has an important share in industrial pollution, plays an important role economically not only in developed countries but also in developing countries. A significant part of the industry water need arises from the textile industry. However, textile wastewater contains toxic chemical compounds that are difficult to remove by traditional treatment methods. In addition, colored dyehouse wastewater prevents organic living as well as organic pollution in the receiving environment, as it prevents the transmission of sunlight. The treatment of textile wastewater and its use as process water attracts great interest both academically and industry.

In this study, the contribution of NaCl support electrolyte to the color removal with the electrochemical oxidation method of Reactive Orange 16 (RO16) dyestuff by Ti/RuO<sub>2</sub> mixed metaloxide coated electrode was investigated and toxic effects were evaluated in the analysis results. In optimization studies with NaCl support electrolyte, parameters such as current density, flow rate, pH and initial pollution concentrations were studied. The study was terminated by applying the optimum conditions obtained to different pollution concentrations, evaluating the color and toxicity.

In the presence of 50 A/m<sup>2</sup> current density, 155.84 mL/min flow rate, pH<sub>0</sub> and 0.06 M NaCl electrolyte in the electrochemical oxidation of the model working solution with the initial pollution concentration of 30 mg/L after a 25 minute treatment period, ~100% color and 0,8008 kWh/m<sup>3</sup> energy consumption was obtained. In the presence of 50 A/m<sup>2</sup> current density, 155.84 mL/min flow rate, pH<sub>0</sub> and 0.06 M NaCl electrolyte in the electrochemical oxidation of the model working solution with the initial pollution concentration of 125 mg/L after a 40 minute treatment period, ~100% color and 0,9240 kWh/m<sup>3</sup> energy consumption was obtained. In the experimental study where the initial pollution concentration was 125 mg/L in the optimum conditions obtained, 80% toxicity removal was obtained.

**Keywords:** Electrochemical oxidation, dyestuff, support electrolyte, Ti/RuO<sub>2</sub> electrode, toxicity

## 1. Giriş

Artan nüfus ve gelişen teknoloji ile her geçen gün yeni endüstri dalları ortaya çıkmış ve mevcut endüstri dalları da kapasitelerini arttırmıştır. Bu durum mevcut doğal kaynakların en başta da suyun kullanımında artışa neden olmuştur. Endüstriyel kirlenmede önemli paya sahip olan kaynaklarından birisi de tekstildir. Tekstil endüstrisi yalnız gelişmiş ülkelerde değil gelişmekte olan ülkelerde de ekonomik açıdan önemli rol almaktadır.

Sanayi su ihtiyacının önemli bir kısmı tekstil endüstrisinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte tekstil atıksuları geleneksel arıtma yöntemleri ile giderimi güç zehirli kimyasal bileşikler içermektedir. Ayrıca renkli boyahane atıksuları alıcı ortamda organik kirliliğin yansırı güneş ışığı geçirimini engellemesi sebebi ile canlı yaşamını da engellemektedir. Tekstil atıksuların arıtılarak proses suyu olarak kullanılması gerek akademik gerekse de sektör bazında büyük ilgi çekmektedir.

Adsorpsiyon, kimyasal ve biyolojik arıtma gibi geleneksel yöntemlerin avantajları yanında arıtım ve enerji verimliliklerinin yetersiz olması ve su geri kazanımında tek başlarına kullanılamamaları bilim dünyasını yeni arıtma teknolojilerinin araştırılmasına yöneltmektedir. Geleneksel arıtma tekniklerinin başında gelen biyolojik arıtma ve adsorpsiyon süreçlerinin neticesinde oluşan arıtma çamurlarının tehlikeli atık sınıfında yer alması ve bertarafı için ilave işlemler gerektirmesi diğer bir önemli dezavantajdır (Kaygusuz 2013).

Biyolojik arıtma sistemleri avantajlı gibi gözükse de bununla birlikte prosesi etkileyecek olan tekstil atıksuyu içerisindeki zor ayrışabilir ya da toksik bileşikler prosesi kısmen ya da tamamen bozabilmektedir. Bununla birlikte artan çevre bilinci ve sıkılaştırılan yasal düzenlemeler tekstil atıksularının arıtımı için ileri oksidasyon süreçlerinin (İOS) kullanılmasını ön plana çıkarmaktadır. İOS kirlenici bileşiklerin karbondioksit ve su gibi zararsız inorganik bileşiklere kadar parçalanmasını sağlamaktadır. Ayrıca süreç toksik ve biyolojik olarak ayrışamayan bileşikler ayrışabilir ve daha zararsız kirlenici formlarına dönüştürmektedir. İOS fotokimyasal oksidasyon (UV-O<sub>3</sub>, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>/UV, photo-Fenton) ve elektrokimyasal oksidasyon (EKO) gibi arıtım tekniklerinden oluşmaktadır. Bu süreçlerin tamamında yüksek oksitleme kapasitesine sahip hidroksil (OH•), klor, süperoksit gibi radikaller üretilir. Reaksiyon sürecinde oluşan bu oksidantlar kirlenici bileşikler bertaraf ederler (Tran ve ark. 2009, Canizares ve ark. 2009).

Elektrokimyasal oksidasyon yönteminin (EKO) enerji verimliliği, otomasyon imkânı ve arıtım neticesinde çamur oluşmaması son yıllarda özellikle tekstil endüstrisinde ilgi görmektedir. EKO süreçleri arıtım için herhangi bir ilave kimyasal madde ihtiyacı duymamaktadır ve bu nedenle de ikincil bir atık ürün oluşturmamaktadır. Böylece ikincil bir çevre kirliliğinin önüne geçilmesi ve etkin bir atıksu arıtımı da mümkün olmaktadır. Bu arıtım sisteminde elektrolit içerisinde bulunan mevcut oksijen kirlenici bileşiklere aktarılır. Tepkimeler doğrudan anodik yükseltme ve

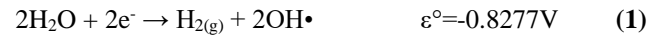
dolaylı redoks tepkimelerinden oluşur (Rajeshwar ve ark. 1995, Fernandes ve ark. 2004).

Deney sistemine elektrolit eklenmesinin amacı sistemin iletkenliğini artırarak sistemden daha fazla akımın geçmesini sağlamak ve kullanılan elektrolite bağlı olarak dolaylı yükseltgenmeyi desteklemektir. Elektrokimyasal parçalanmayı dolayısıyla da KOI giderimini etkilediği için elektrolit miktarı sistemi etkileyen parametrelerden biridir (Uğurlu 2004). Sisteme çeşitli elektrolitler (sülfat, hidrojen peroksit ve demir iyonu gibi) eklenebilir. İletken olmayan kimyasalların elektrokimyasal olarak parçalanması için ortama iletkenliği sağlayan tuzlar eklenmesi gerekmektedir (Özdemir 2005).

Elektrolit olarak NaCl kullanılması sonucunda; sodyum klorür suda çözüldüğünde, iyonlara ayrılır. Metal elektrotlar kullanılarak, yalın bir pilde (anot, katot ve elektrolit düzeni) tuzlu su elektroliz edilirse, klor (Cl<sup>-</sup>) iyonları anotta toplanır ve elektronlarını yitirerek, klor gazına dönüşürler. Klor gazı, çözücülerin, ağartıcıların ve bazı plastiklerin yapımında kullanılan değerli bir hammaddedir. Buna karşılık katottaki elektrik akımları, Na<sup>+</sup> (Sodyum) iyonlarının yüklerini boşaltamaz; çünkü su moleküllerinin elektron çekme gücü, sodyum iyonununkinden büyüktür. Su molekülü (H<sub>2</sub>O) bir elektron alıp bölünerek, hidrojen (H) atomları oluşturur. Bunlar da çözeltide hidroksil (OH•) anyonlarını yalnız bırakarak H<sub>2</sub> gazını oluştururlar. Giderek çözeltide, sodyum hidroksit ya da kostik soda (NaOH) yoğunluğu yükselir (Kaygusuz 2013).

Genel olarak kullanılan NaCl elektrolitinin varlığında katot ve anotta gerçekleşen temel elektrolit reaksiyonları aşağıda gösterilmiştir.

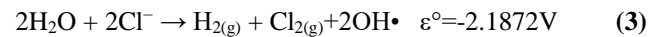
### Katot:



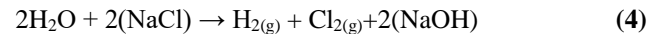
### Anot:



### Toplam:



Eşitlik 1 ve 2'deki tepkimeler katot ve anotta gerçekleşen temel elektrolit tepkimeleridir. Katotta öncelikle su molekülleri indirgenir, su moleküllerinin elektron alma eğilimlerinin daha yüksek olması nedeniyle sodyum iyonu çözeltide herhangi bir değişime uğramaz ve Eşitlik 4'teki tepkime gerçekleşir;



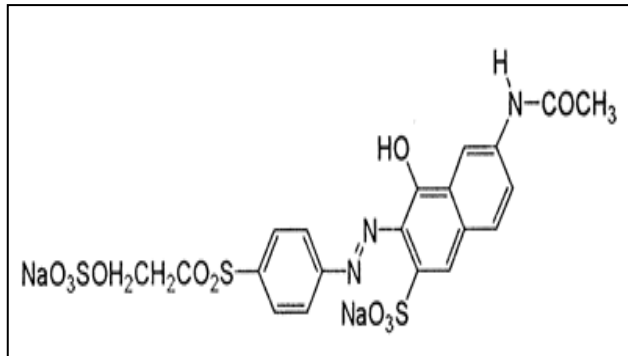
Elektrokimyasal yükseltme sistemine klor iyonu ilavesi yapıldığında ise genellikle daha yüksek klor/hipoklorit üretimi sayesinde sistemin verimi artsa da çıkışta klorlu organik madde oluşumu tehlikelere neden olabilmektedir (Deng ve Englehardt 2006). Naumczyk ve ark. (1996), yüksek derişimde Cl<sup>-</sup> içeren tekstil atıksuyunun elektro yükseltgenmesi esnasında yüksek derişimlerde klorlu organiklerin varlığını tespit etmişlerdir. Chiang ve ark. (1995), da koka bitkisi atıksuyunun elektrolizi sırasında büyük miktarda klorlu yan ürünün oluştuğunu bildirmiştir.

Parametre	Değer
<b>Başlangıç Kirlilik Derişimi</b>	20 – 30– 125 mg/L
<b>Elektrot</b>	Ti /RuO <sub>2</sub>
<b>Akış hızları (mL/dk)</b>	155,84/ 175,7/ 234,2/ 324,3
<b>Akım Yoğunluğu (A/m<sup>2</sup>)</b>	1,6/5/8/10/15/20/25/30/40/50 /75/100/150/200/300
<b>pH</b>	pH <sub>0</sub> /pH <sub>3</sub> /pH <sub>11</sub>
<b>Elektrolitler</b>	NaCl
<b>Arıtım Süresi</b>	1-40 dk
<b>Analiz Parametreleri</b>	Renk, Toksikite, Enerji Tüketimi

Bu nedenle yapılan çalışma ile toksik etkiler değerlendirilmiştir.

## 2. Materyal ve Metod

Bu çalışmada Reaktif Orange 16 (RO16) boyar maddesi kullanılarak model çalışma çözeltisi hazırlanmıştır. Aşağıda kullanılan boyar maddenin özellikleri ve kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 1. RO16 boyarmaddesinin kimyasal yapısı

Tablo 1. Kullanılan boyarmaddenin özellikleri

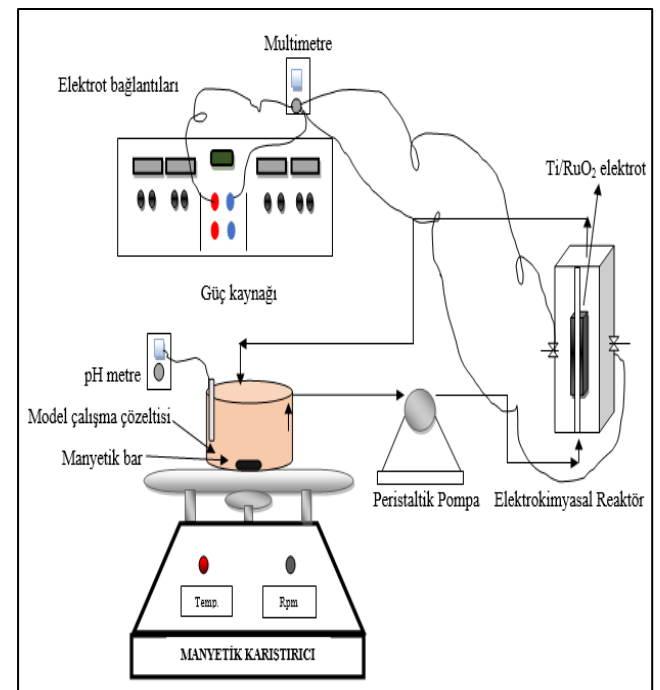
<b>Moleküler Formül</b>	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>11</sub> S <sub>3</sub>
<b>Molekül ağırlığı (g/mol)</b>	617,54
<b>Kompozisyon</b>	Boya içeriği, ≥70%
<b>Absorpsiyon</b>	(1.) λ <sub>max</sub> 388 nm (2.) λ <sub>max</sub> 494 nm

Çalışmamızda elektrokimyasal arıtım işlemi, Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilmiş, sistemin verimliliği ve sürdürülebilirliği araştırılmıştır. Akım yoğunluğu, akış hızları, pH, başlangıç kirlilik derişimleri gibi parametrelerin optimizasyonu yapılarak renk ve toksisite giderimine NaCl elektrolitinin katkısı değerlendirilmiştir.

İncelenen parametreler Tablo 2’de gösterilmektedir.

Tablo 2. Model çalışma çözeltisinin optimizasyonunda kullanılan parametreler

- Elektrot boyutları 12,5cmx5cmx0,2 cm’dir. Elektrotlar arası mesafe 4 mm’dir.
- Çalışma çözeltisinin iletkenliği 20(±5) µs/cm ve pH’ı 6-7 aralığında değişiklik göstermektedir.
- Model çalışma çözeltilerini hazırlamak için deiyonize su, ters ozmos ve iyon değişimini birleştiren ultra saf su hazırlama ünitesi kullanılmıştır.
- 1000 mg/L’lik stok çözelti hazırlanarak, 500 mL hacimdeki standart çalışma çözeltisi ile deneyler yürütülmüştür. UV aralıklarında özel spektroskopik çalışmalar için UV/vis. spektrofotometrik cihazlar kullanılarak analizler yapılmış 10 mm ışın yollu kuvars küvetler kullanılmıştır. Renk giderimine bakılmıştır.
- İletkenlik ve pH iletken ölçer ve pH metre cihazı kullanılarak ölçülmüştür.
- Toksikite değerleri mikrotoksosite (Azur Environmental) cihazı ile analiz edilmiştir.



Şekil 2. Deneyler için kullanılan reaktör düzeneği

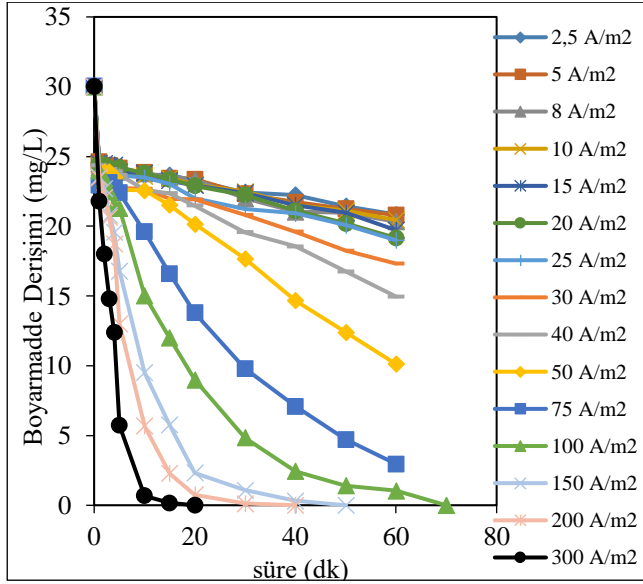
## 3. Bulgular ve Tartışma

Başlangıç kirlilik derişimi 30 mg/L olan çalışma çözeltisi ile optimizasyon çalışmaları yürütülmüş ve elde edilen optimum koşullar 20 ve 125 mg/L’lik kirlilik derişimlerine uygulanarak arıtım verimleri elde edilmiştir.

### 3.1. Akım yoğunluğunun etkisi

Başlangıç kirlilik derişiminin 30 mg/L olduğu model çalışma çözeltisi ile kesikli geri döngülü bir paralel plaka reaktörde elektrokimyasal oksidasyon yöntemi ile çalışmalar yürütülmüştür. Akım yoğunluğu değerleri olarak

2,5/5/8/10/15/20/25/30/40/50/75/100/150/200/300 A/m<sup>2</sup> seçilmiş ve optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

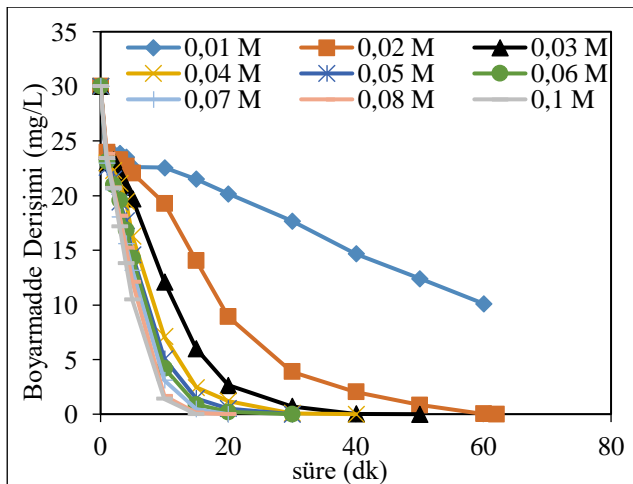


Şekil 3. Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlarla elde edilen arıtım verimleri ( $C_0=30$  mg/L,  $Q=155,84$  mL/dk, D.E.=0,01 M NaCl,  $pH_0= 5,13-6,51$ )

Yapılan çalışmada en iyi arıtım verimine 300 A/m<sup>2</sup> akım yoğunluğunda 20 dk gibi kısa bir sürede ulaşılmıştır. Akım yoğunluğunu arttırmak sistem içerisindeki aktif klor bileşiklerinin artmasına önemli miktarda katkı sağlamaktadır. Arıtım verimleri daha yüksek akım yoğunlukları ile daha yüksek elektrokimyasal kapasite ve muhtemelen yükseltgenmiş oksidanların (örneğin, klorür-oksiklorür radikalleri) oluşumuna bağlıdır (Chiang ve ark. 1995, Deng ve Englehardt 2007). Ancak, elektrik sarfiyatları göz önüne alındığında NaCl elektroliti için biraz daha destek elektrolitle arıtım verimlerinin artacağı göz önüne alındığında sonraki deneyler için 50 A/m<sup>2</sup> akım yoğunluğunda çalışılmaya karar verilmiştir.

### 3.2. Elektrolit miktarının etkisi

0,01/0,02/0,03/0,04/0,05/0,06/0,07/0,08/0,1 mol/L (M) NaCl,  $pH_0$ 'da optimizasyon çalışmaları yürütülmüştür.

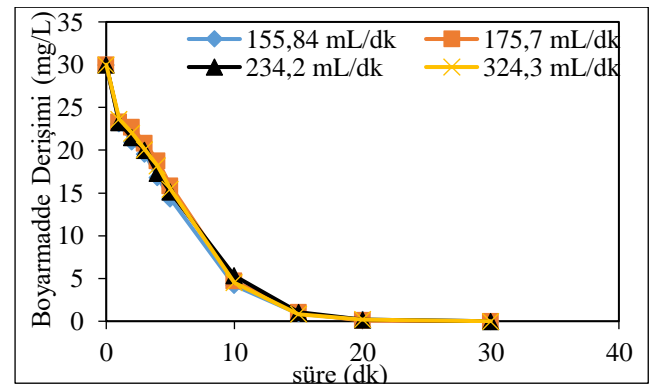


Şekil 4. Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlarla elde edilen arıtım verimleri ( $C_0=30$  mg/L,  $I=50$  A/m<sup>2</sup>,  $Q=155,84$  mL/dk,  $pH_0= 6-6,28$ )

50 A/m<sup>2</sup> akım yoğunluğunda, başlangıç kirlilik derişiminin 30 mg/L olduğu durumda 0,06 M NaCl elektrolit varlığında, doğal  $pH_0$ 'da 25. dakika da rengin tamamı giderilmiştir. NaCl içeren çözeltilerde, anot yüzeyi üzerinde klor, hipoklorik asit veya hipoklorit iyonu gibi aktif kloro-türler üretilebilir ve sonuç olarak organik maddeler oksitlenebilir (De Paiva Barreto ve ark. 2014, Rajkumar ve ark. 2005, Ramalho ve ark. 2010). Elektrolit miktarını arttırmak arıtım verimlerini arttırmaktadır. Yalnız, sistem içerisindeki fazla miktarda klor klorlu organik bileşiklerin oluşumuna da katkı sağladığından dolayı optimum miktarı belirlemek çok önemlidir.

### 3.3. Akış hızının etkisi

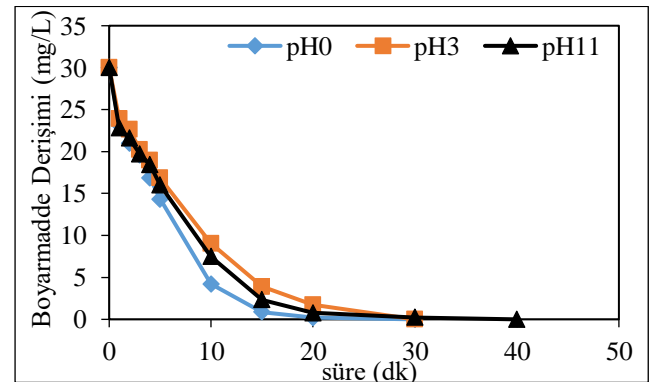
155,84, 175,7, 234,2 ve 324,3 mL/dk'lık debiler çalışılmıştır.



Şekil 5. Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlarla elde edilen arıtım verimleri ( $C_0=30$  mg/L,  $I=50$  A/m<sup>2</sup>, D.E.=0,06 M NaCl,  $pH_0= 6-6,27$ )

En iyi arıtım verimlerine 155,84 mL/dk akış hızında ulaşılmıştır. Akış hızını arttırmak arıtım verimlerini etkilememiştir. Akış hızını arttırmak çalışma çözeltilisinin elektrotlarla olan temasını azalttığından dolayı arıtım verimlerini arttırmamıştır sonucuna varılabilir.

### 3.4. pH'in etkisi

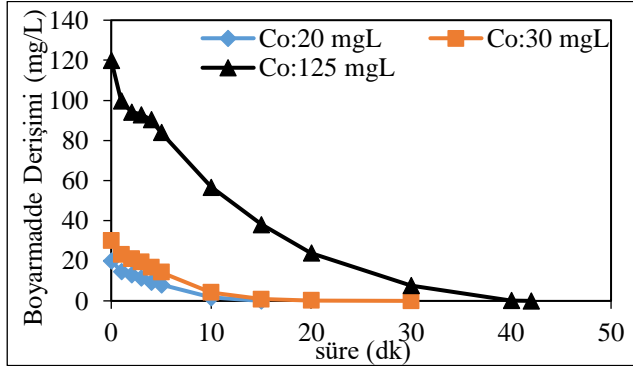


Şekil 6. Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlarla elde edilen arıtım verimleri ( $C_0=30$  mg/L,  $I=50$  A/m<sup>2</sup>,  $Q=155,84$  mL/dk, D.E.=0,06 M NaCl derişimlerinde,  $pH_0$  (6,12),  $pH_3$  ve  $pH_{11}$ )

En iyi arıtım verimlerine doğal pH'ta ulaşılmıştır. pH arıtım verimlerini etkileyen bir faktör olmamıştır. Ancak, çözeltide, hipokloritten daha yüksek oksidasyon potansiyeline sahip olan hipoklorik asit düşük pH'larda bulunur (Parsa ve ark. 2007). Bu nedenle, asidik koşullarda arıtım süreleri kısalarak enerji tüketimlerine katkıda

bulunmuştur. Aynı zamanda pH ayarlaması yapılmayarak ek kimyasal kullanımına gerek kalmamış ve sistem daha uygun maliyetli hale gelmiştir.

### 3.5. Başlangıç kirlilik derişiminin etkisi



Şekil 7. Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlarla elde edilen arıtım verimleri (I=50 A/m<sup>2</sup>, Q=155,84 mL/dk, D.E.=0,06 M NaCl, pH<sub>0</sub>=6-6,20)

Her üç başlangıç kirlilik derişimi için de rengin tamamı giderilmiştir. 125 mg/L başlangıç kirlilik derişimine sahip çalışma çözeltilisinin optimum koşullarda arıtımı 40 dk gibi nispeten kısa sürelerde gerçekleşmiştir. Sistem yüksek konsantrasyonlarda kirliliğe sahip çalışma çözeltilerinin arıtımında etkindir sonucuna varılabilir.

### 3.6. Toksikite

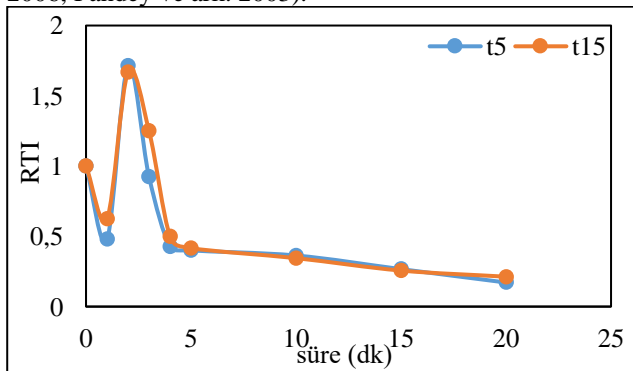
Başlangıç kirlilik derişiminin 30 mg/L olduğu çalışma çözeltilisi toksik etki göstermediğinden dolayı başlangıç kirlilik derişiminin 125 mg/L olduğu çalışma çözeltilisi ile optimum koşullarda elde edilen numunelerin toksisite değerlendirmesi yapılmıştır

Çalışmada toksisite değerleri relatif toksisite indeksi (RTI) olarak verilmiştir (Yavuz ve ark. 2006, Yavuz ve ark. 2011).

$$RTI = \frac{EC_{50} \% (t=0)}{EC_{50} \% (t=t)} \quad (5)$$

Burada; EC<sub>50</sub> % (t = 0) ve EC<sub>50</sub> % (t = t) 5. dakika ve 15. dakika numunelerin 0 ve t zamanlarındaki mikrotoks toksisite değerlerini göstermektedir.

Analizler sonucunda EC<sub>50</sub> ≤ 25= son derece toksik; 25-50= orta derecede toksik; 51-75= toksik; >75 hafif toksik ve >100= toksik değil sonucunu vermektedir (Yavuz ve ark. 2006, Pandey ve ark. 2003).



Şekil 8. Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlarla NaCl kullanılan deneylerde toksisitenin zamanla derişimi (Co=125 mg/L)

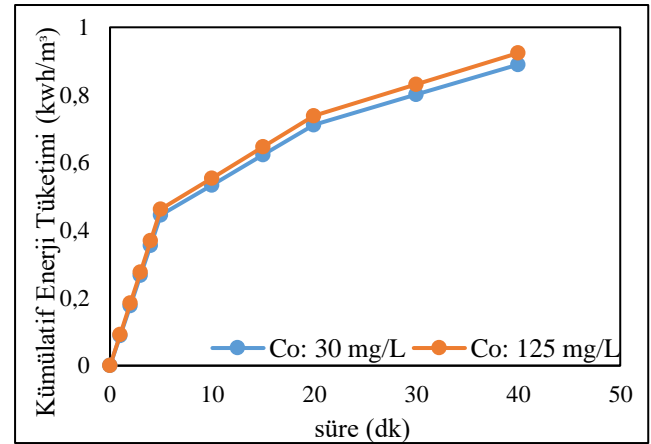
Toksosite sonuçları incelendiğinde başlangıç kirlilik derişiminin 125 mg/L olduğu çalışma çözeltilisi ile yapılan testlerde optimizasyon çalışmaları sonucunda %80'lik bir toksisite giderimi elde edilmiştir.

### 3.7. Enerji Tüketimi

Tablo 3. Kümülatif enerji tüketim değerleri

süre (dk)	Kümülatif Enerji Tüketimi (kwh/m <sup>3</sup> )	
	Co: 30 mg/L	Co: 125 mg/L
0	0	0
1	0,0890	0,0924
2	0,1780	0,1848
3	0,2669	0,2772
4	0,3559	0,3696
5	0,4449	0,4620
10	0,5339	0,5544
15	0,6229	0,6468
20	0,7118	0,7392
30	0,8008	0,8316
40	0,8898	0,9240

I: 50 A/m<sup>2</sup>, Q: 155,84 mL/dk, D.E.:0,06 M NaCl, pH<sub>0</sub> (6,12-6,03)



Şekil 9. Ti/RuO<sub>2</sub> elektrotlarla, NaCl elektroliti ile optimum koşullarda kümülatif enerji tüketimi

Ülkemiz için tek terimli tek zamanlı ticarethane (Orta Gerilim) için kwh başına elektrik birim fiyatı 0,896979 TL/kwh+KDV (±10krş.)'dir (http-2). Buna göre NaCl elektrolitinin kullanıldığı optimum koşullarda 30 mg/L başlangıç kirlilik derişimi için 40 dk'lık arıtım süresi sonunda 0,8 TL/m<sup>3</sup>, ve optimum koşullarda 125 mg/L başlangıç kirlilik derişimi için 40 dk'lık arıtım süresi sonunda 0,83 TL/m<sup>3</sup> enerji tüketim maliyetleri oluşmuştur. Grafikten de anlaşılacağı üzere enerji tüketim değerleri ve enerji maliyetleri değerlendirildiğinde çok büyük farklılıklar göstermemiştir.

### 4. Sonuç

NaCl destek elektrolitinin arıtım verimlerine olan katkılarının miktar ve içerik olarak değerlendirildiği

optimizasyon çalışmalarında NaCl elektroliti hem renk hem de toksisite giderimi açısından yüksek arıtım verimleri elde etmemizi sağlamıştır. Başlangıç kirlilik derişiminin 30 mg/L olduğu durumda 20 dk'lık arıtım süresi sonunda ~%100 renk giderimi elde edilmiştir. Başlangıç kirlilik derişiminin 125 mg/L olduğu durumda 40 dk'lık arıtım süresi sonunda ~%100 renk giderimi elde edilmiştir. Relatif toksisite indeksi olarak değerlendirilen toksik etkilere göre %80 oranında toksisite giderimi elde edilmiştir. Kümülatif enerji tüketimleri de gözönüne alındığında çok düşük miktarlarda elektrik tüketimi ve m<sup>3</sup> başına çok düşük enerji maliyetleri söz konusudur. Bütün sonuçlar değerlendirildiğinde sistemimiz yüksek kirlilik derişimlerinde bile yüksek arıtım verimleri elde etmek ve toksik etkileri azaltma yönünde verdiği sonuçlar ile oldukça başarılıdır kanaatini vermiştir.

### Teşekkür

Toksisite analizlerindeki katkıları nedeniyle Öğr.Gör.Dr. Fadime Karaer Özmen'e en içten teşekkürlerimizi sunarız. Bu çalışma ESTÜ BAP Komisyonu 1708F474 no'lu proje ile desteklenmiştir.

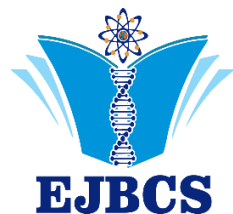
### Kaynaklar

- Canizares P, Paz R, Saez C, Rodrigo MA. 2009. Costs of the electrochemical oxidation of wastewaters a comparison with ozonation and fenton oxidation processes. *J Environ Manage.* 90:410-420.
- Chiang L.C, Chang JE, Wen TC. 1995. Indirect oxidation effect in electrochemical oxidation treatment of landfill leachate. *Water Res.* 29:671-678.
- De Paiva Barreto JP, Viera dos Santos E, Medeiros Oliveira M, Ribeiro da Silva D, Fernandes de Souza J, Martinez-Huitle CA. 2014. Electrochemical mediated oxidation of phenol using Ti/IrO<sub>2</sub> and Ti/Pt-SnO<sub>2</sub>-Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> electrodes. *J Electrochem Sci Eng.* 4:259-270.
- Deng Y, Englehardt JD. 2006. Treatment of landfill leachate by the fenton process. *Water Resear.* 40:3683-3694.
- Deng Y, Englehardt JD. 2007. Electrochemical oxidation for landfill leachate treatment. *Waste Manag.* 27:380-388.
- Fernandes A, Magrinho M, Lopes A, Goncalves I. 2004. Electrochemical degradation of C.I. acid orange 7. *Dyes and pigments.* 61:287-296.
- Kaygusuz T. 2013. Elektrokimyasal oksidasyon yönteminin tekstil atıksularının arıtılabilirliğine etkilerinin tam ölçekli araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Tekirdağ: Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Naumczyk J, Szpyrkowicz L, Zilio-Grandi F. 1996. Electrochemical treatment of textile wastewater. *Water Scien and Technol.* 34(17):17-24.
- Özdemir K. 2005. Meyve suyu fabrikası atıksularının elektrokimyasal olarak arıtılması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Pandey AK, Pandey SD, Misra V, Srimal A. 2003. Removal of chromium and reduction of toxicity to

Microtox system from tannery effluent by the use of calcium alginate beads containing humic acid. *Chemosphere.* 51:329-333.

- Parsa JB, Abbasib M. 2007. Decolorization of synthetic and real wastewater by indirect electrochemical oxidation process. *Acta Chim Slov.* 54:792-796.
- Rajeshwar K, Zhou M, Myung N, Chen X. 1995. Electrochemical deposition and stripping of copper, nickel and copper nickel alloy thin films at a polycrystalline gold surface: a combined voltammetry coulometry electrochemical quartz crystal micro gravimetry study. *Journ of Electroanalyt Chem.* 398(1-2):5-12.
- Rajkumar D, Kim JG, Palanivelu K. 2005. Indirect electrochemical oxidation of phenol in the presence of chloride for wastewater treatment. *Chem Eng Technol.* 28:98-105.
- Ramalho AMZ, Martínez-Huitle CA, Silva DR. 2010. Application of electrochemical technology for removing petroleum hydrocarbons from produced water using a DSA-type anode at different flow rates. *Fuel.* 89:531-534.
- Tran LH, Drogui P, Mercier G. 2009. Electrochemical degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in creosote solution using ruthenium oxide on titanium expanded mesh anode. *J Hazard Mater.* 164:1118-1129.
- Uğurlu M. 2004. The Removal of some inorganic compounds from paper mill effluents by the electrocoagulation method. *G.U. Journ of Scien.* 17(3):85-99.
- Yavuz Y, Koparal AS. 2006. Electrochemical oxidation of phenol in a parallel plate reactor using ruthenium mix metal oxide electrode. *Journ of Hazard Materials.* 136:296-302.
- Yavuz Y, Koparal AS, Öğütveren ÜB. 2011. Electrochemical oxidation of basic blue 3 dye using a diamond anode: evaluation of colour, COD and toxicity removal. *J Chem Technol Biotechnol.* 86:261-265.
- [http1:www.sigmaaldrich.com/meetings/past/200/abstracts/symposia/fl/0841.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/meetings/past/200/abstracts/symposia/fl/0841.pdf). Erişim tarihi 2 Ara. 2019.
- [http2: https://www.epdk.org.tr/](http2:https://www.epdk.org.tr/). Erişim tarihi 30 Nis. 2020.





Phytochemical screening and anthelmintic activity of leaf and seed extract of  
*Cassia occidentalis* L.

Faiza Shafi<sup>1</sup>, Muhammad Ajaib<sup>1</sup>, Khizar Hayat Bhatti<sup>2</sup>, Muhammad Faheem Siddiqui<sup>3</sup>  
and Afsheen Khan\*<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Department of Botany, Mirpur University of Science and Technology (MUST), Mirpur-10250, Pakistan

<sup>2</sup>Botany Department, Hafiz Hayat Campus, University of Gujrat, Gujrat-50700, Pakistan

<sup>3</sup>Department of Botany, University of Karachi, Karachi 75270, Pakistan

<sup>4</sup>Dr. Moinuddin Laboratory of Plant Ecology and Dendrochronology, Department of Botany, Federal Urdu University of Arts, Science and Technology, Gulshan e Iqbal, Karachi

\*Corresponding author : [khanafsheen913@gmail.com](mailto:khanafsheen913@gmail.com)  
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0001-7557-5210>

Received : 18/01/2021  
Accepted : 11/05/2021

**Abstract:** In present study the ethanolic extracts of leaf and seed of *Cassia occidentalis* were investigated for their phytochemical properties and anthelmintic activity against *Haemonchus contortus* at different concentrations (100, 150, 200 mg/ml). Alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, phenols, steroids and carbohydrates are present in both leaf and seeds crude extracts. The study is mainly concerned with the determination of time of paralysis and time of death of the worms. When there was a gradual increase in the dose, a gradual increase in the anthelmintic activity was observed. The least time for the death and paralysis was recorded at concentration of 50 mg/mL and maximum time for death and paralysis was recorded at 10mg/mL concentration. The ethanolic extract of the leaf and seed showed a significant anthelmintic activity at highest concentration of 50 mg/ml. So the *C. occidentalis* plant can be used as anthelmintic drug for the treatment of gastrointestinal helminthic infections after clinical trials, toxicological effects and isolation of chemical compounds.

**Keywords:** Phytochemicals, Anthelmintic activity, Medicinal plants

© EJBACS. All rights reserved.

## 1. Introduction

Medicinal plants have significant importance because they produce a variety of chemical constituents with valuable selectivity (Uddin et al., 2012). According to the World Health Organization, the 80% population of the world are unable to afford the synthetic drugs (WHO, 1993). There is a different variety of medicinal plants in Pakistan that have therapeutic value.

Traditional people depends upon the herbal medicine to cure diseases because that are less harmful and have no side effects. Hence they serve as one of the most efficient source for a healthy life because they contain many components that have great therapeutic potential (Ajaib et al., 2011).

Phytochemicals are natural bioactive compounds present in different parts (flowers, leaves and shoots) of plant which act as defense system to protect from diseases. Some of the important bioactive phytochemical constituents include flavonoids, tannins, terpenoids, saponins and phenolic compounds (Krishnaiah et al., 2009).

Helminthiasis is the animal diseases which results in production losses whereas the helminths is the most common infectious human's disease in the developing countries of the world which produce different diseases like eosinophilia, and pneumonia (Dhar et al., 1982). This disease is extremely widespread due to poor managing practices (Ajaib et al., 2018). People depend upon the herbal medicine to treat this disease because

they are more effective and less toxic than the synthetic medicine available in the market are not effective (Ajaib et al., 2019).

*Cassia occidentalis* is commonly known in Ghana as 'mmofraborodee' and 'Devidevikpelimumu' in Ghana. It is a pantropical plant that can grow about 5-8cm on roadsides and fertile places of the villages and towns. It comprises the species of tree, herbs, shrubs and vines. It belongs to the family leguminaceae and botanically classified as both *Cassia Occidentalis*, and *Senna occidentalis*. The plant has been used by the traditional healers all over the world for treating different diseases (Mitsuyama et al., 1987).

## 1. Material and Method

### Plant Materials:

The different parts (leaf and seeds) of *Cassia occidentalis* were collected from geographical regions of District Bimber Azad Jammu & Kashmir (AJK). The collected parts of plants were dried and mounted on herbarium sheets and deposited to the herbarium, Department of Botany, MUST with correct identification.

### 2.1. Maceration of plant material

The leaf and seeds of *Cassia occidentalis* were cleaned and air dried in shade. The dried parts were grinded to coarse powder and then 250g of dried powder into Methanol solvents through soxhlet extraction apparatus. Then the obtained extracts were concentrated, dried and stored in air tight container. The yield of extract as calculated.

### 2.2. Phytochemical screening

The evaluation of qualitative phytochemical analysis of leaf and seed extracts of *Cassia Occidentalis* were performed through specific methods. The Phytochemicals were identify by using the procedure described by Akinjogunla et al., (2011). Bello et al., (2011); Sofowara (1993); Trease and Evans (1989) and Harborne (2001).

## 2.3. Anthelmintic Activity

### 2.3.1. Test Organism

For the investigation of anthelmintic activity of the leaf and seed extract of *Cassia Occidentalis*, the worm (*Heamonchus contortus*) were used which obtained from the stomach of goat and then wash it with the 0.9% solution of NaCl. The worms were store in solution of 0.9% NaCl for further examination.

### 2.3.2. Anthelmintic activity screening

The anthelmintic activity leaf and seed extract of *Cassia Occidentalis*, were carried at different concentrations (10, 20, and 50 mg/mL) by following the method of Bhinge et al., (2015) with minor variations. Before starting the procedure all the solutions were freshly prepared. The albendazole (10 mg/ml) was used as standard drug whereas saline water (0.9%) kept as a control. The worms of almost equal size were dipped in to 10mL of test solution and after four hours of test period, the time was observed and recorded

## 3. Results and Discussion

Medicinal plants are the rich source of phytochemicals constituents which have therapeutic importance to cure different diseases. The qualitative phytochemical screening of leaf and seed extracts of *cassia occidentalis* were evaluated to identify the alkaloids, flavonoids, saponnins, terpenoids, phenols, tannins, steroids, carbohydrates and proteins. The results revealed that the strongly appearance of alkaloids and flavonoids in both leaf and seed extracts whereas the terpenoids, saponnins and steroids were absent in leaf extract of plant (Table: 1).The results of the study were similar to the work of Amari et al., (2014) while evaluating the phytochemical screening of the aerial parts of *Thymelaea hirsuta* L.

The Anthelmintic activity of leaf and seed extracts of *Cassia occidentalis* was conducted at different concentrations included (10, 20, 50mg/mL). The time recorded for loss of motility and mortality in minutes. The least time for the death and paralysis was recorded at concentration of 50mg/mL and maximum time for death and paralysis was recorded at 10mg/mL concentration. In the methanolic leaf extract the minimum time for paralysis and death ranged from 3.5 to 9.2 minutes at 50mg/mL whereas the maximum time were recorded at 10mg/mL, ranged from 15.2 to 27.5 minutes (Table. 2, Fig. 1). The methanolic seed extract of *C. occidentalis* showed that the least time were taken for the paralysis and death of *Heamonchus contortus* at 10mg/mL ranged from 2.0 to 10.2 minutes and maximum time ranged from 8.5 to 25.3 minutes at 10mg/mL. The results indicate that the seed extracts were more effective for paralysis and death of worms than the leaf extract. The result of the study revealed that the anthelmintic activity is due to the active chemical compound present in the leaf and seed of plants. (Table. 2, Fig. 2). All the results obtained from the anthelmintic activity of leaf and seed extracts of *C. occidentalis* show close resemblance to the findings of Krishnaiah et al., (2009) evaluating the anthelmintic activity of the flowers of *Sesbania grandiflora* Pers and Ajaib et al., (2020) during evaluation of anthelmintic activity in *Dyspania ambrusioides*.

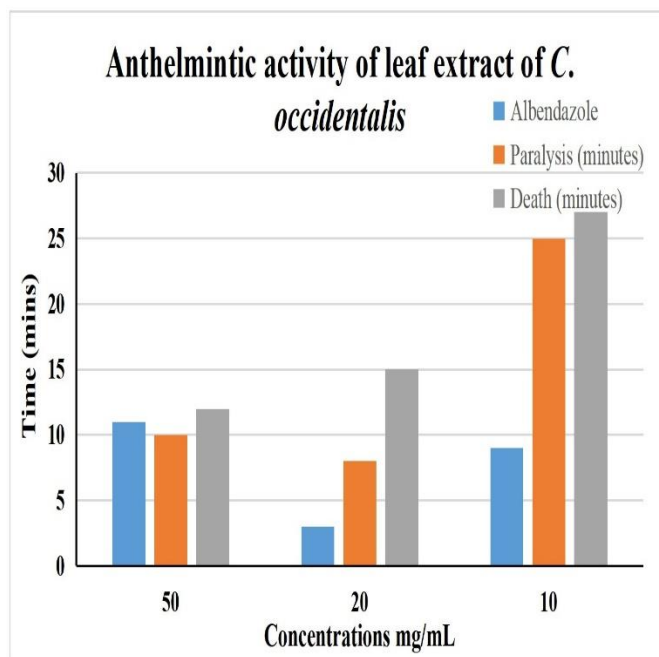
**Table 1:** Phytochemical analysis of leaf and seed extract of *Cassia Occidentalis*

Phytochemicals	Extracts	Plant parts	
		Leaf	Seed
Alkaloids	Methanol	++	++
Carbohydrates		+	+
Flavonoids		++	++
Proteins			+
Phenol and tannins		++	+
Terpenoids		-	+
Steroids		-	+
Saponins		-	++

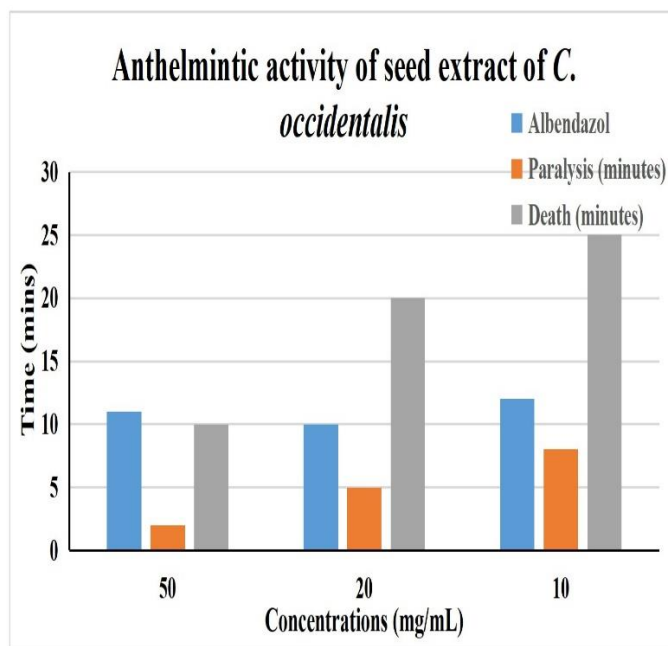
+ = present, ++ = strongly present, - = absent

**Table 2:** Anthelmintic activity of methanolic extract of leaf and seed of *C. occidentalis* (Values are mean ± S.E.M.)

Extracts	Conc. (mg/mL)	Paralysis (minutes)	Death (minutes)
NaCl	----	Non-toxic	Non-toxic
Albendazole	50ml	11.42 ± 0.4	16.43 ± 0.3
	20ml	10.00 ± 0.4	13.40 ± 0.3
	10ml	12.22 ± 0.2	17.20 ± 0.4
Leaf	50ml	3.5 ± 0.22	9.2 ± 2.15
	20ml	8.3 ± 1.5	25 ± 2.12
	10ml	15.2 ± 2.25	27.5 ± 2.5
Seed	50ml	2.0 ± 1.5	10.2 ± 1.28
	20ml	5.5 ± 1.25	20.1 ± 2.07
	10ml	8.5 ± 1.65	25.3 ± 2.78



**Figure 1:** Anthelmintic activities of leaf extract of *C. occidentalis*



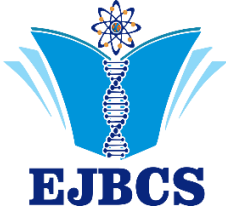
**Figure 2:** Anthelmintic activities of seeds extract of *C. occidentalis*

#### 4. Conclusion

The use of leaf and seed of *Cassia occidentalis* as an Anthelmintic activity have been confirmed that the both parts of extracts displayed activity against the worms used in the study. In the comparative study the ethanolic extract of *Cassia occidentalis* shows more anthelmintic activity than Albedazole. Further, in future it is necessary to identify and isolate the possible active phytoconstituents responsible for the anthelmintic activity and study its pharmacological actions.

#### References

- Ajaib M, Farooq S, Abid S, Shafi F, Qamar MF, Zahid MT. 2020. Assessment of in vitro anthelmintic activity of crude extracts of *Dysphania ambrosioides* against *Haemonchus contortus* a sheep pathogenic parasite. *Bioscience Res.* 17(4): 2760-2769.
- Ajaib M, Farooq S, Khan KM, Perveen S, Shah S. 2019. Phytochemical Analysis and Anthelmintic Activity of *Salsola imbricata*. *J. Chem. Soc. Pak.* 41(1): 198-202.
- Ajaib M, Khan Z, Khan N, Abbasi MA, Shahwar D, Wahab M, Siddiqui FM. 2011. Antibacterial and antioxidant activities of an ethnobotanically important plant *Sauromatum venosum* (Ait.) Schott of District Kotli, Azad Jammu & Kashmir. *Pak. J. Bot.* 43(1): 579-585.
- Ajaib M, Wahla SQ, Wahla UG, Khan KM, Perveen S, Shah S. 2018. Phytochemical Screening and Anthelmintic Activity of *Flueggea virosa*. *J. Chem. Soc. Pak.* 40(4): 702-706.
- Akinjogunla OJ, Yah SC, Eghafona NO, Ogbemudia FO. 2010. *Ann. Biol. Res.*, 1: 174.
- Amari NO, Bouzouina M, Berkani A, Lotmani B. 2014. Phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of *Thymelaea hirsuta* L. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 4(2): 104-109.
- Bello G, Ndukwe I, Audu OT, Habila JD. 2011. A Bioactive Flavonoid from *Pavetta crassipes* K.Schum, *Org. Med. Chem. Lett.* 1(1).
- Bhinge DS, Desai P, Magdum SC. 2015. In vitro Anthelmintic Activity of Leaf Extracts of *Adhatoda vasica* Nees (Acanthaceae) Against *Eudrilus eugeniae*. *J. Pharm. Sci.* 14(2): 153-155.
- Dhar DN, Sharma RL, & Bansal GC. 1982. Gastrointestinal nematodes in sheep in Kashmir. *Vet. Parasitol.* 11: 271-7.
- Harborn K. 2001. Preliminary phytochemical screening, practical pharmacognosy-Techniques and Experiments, 8th edition: pp-149-156.
- Krishnaiah D, Devi T, Bono A, Sarbatly R. 2009. Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. *J Med. Plants Res.* 3(2): 67-72.
- Mitsuyama J, Hiruma R, Yamaguchi A, Sawai T. 1987. Antimicrobial Agents. *J. Chem.* 31: 379-384.
- Rajagopal PL, Premaletha K. & Sreejith KR. 2016. Anthelmintic activity of the flowers of *Sesbania grandiflora* Pers. *JIAPS.* 1(2): 8-11.
- Sofowara A. 1993. Medicinal Plants and Traditional Medicinal in Africa. 2nd Ed. Screening plants for bioactive agents. 134-156.
- Uddin G, Rauf A. 2012. Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Aerial Parts of *Quercus robur* L. *Middle-East. J. Med. Pl. Res.* 1(1): 01-04.
- WHO. (1993). World Health Organization Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. *Gram* 28: 13-14.



## Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

Journal homepage: [www.dergipark.org.tr/ejbc](http://www.dergipark.org.tr/ejbc)



### Tilmikosin Zehirliliği: Mini Derleme

Rahmi Canbar<sup>ID</sup>, Enver Yazar<sup>\*ID</sup>

\*Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Selçuklu, Konya, Türkiye,

\*Corresponding author : [enveryazar@hotmail.com](mailto:enveryazar@hotmail.com)  
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0002-6508-7245>

Received : 18/08/2020  
Accepted : 11/05/2021

**Özet:** Tilmikosin sadece veteriner hekimlik için geliştirilmiş makrolid grubu antibiyotiktir. Ürünün kullanımı sığır, koyun, domuz, hindi ve tavuklarda onaylanmıştır. Etkili olduğu mikroorganizmalarda protein sentezini engelleyerek bakteriostatik etki gösterir. Bu hayvanlarda özellikle solunum sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Makrolid grubu antibiyotiklerin yan etkileri arasında tanımlanan kardiyotoksisite ise tilmikosinde oldukça belirgindir. Etiket dışı kullanımda veya kullanım önerilen hayvanlarda deri altı dışı uygulamalarda ölüme kadar gidebilen kardiyotoksisiteye neden olabilmektedir. İnsanlar ise genellikle tilmikosine kazara maruz kalırlar ve ölümler gözlenebilmektedir. Veteriner ilaçlar arasında en fazla yan etki bildirilen ilaçlardan birisidir. Bu derlemede tilmikosinin insan ve hayvanlarda neden olduğu toksisitesi, mekanizması ve tedavi seçenekleri hakkında bilgi verilmeğe çalışılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Tilmikosin, kardiyotoksisite, zehirlilik

### *Tilmicosin Toxication: Mini Review*

**Abstract:** Tilmicosin is a macrolide group antibiotic developed only for veterinary medicine. The use of the product is approved in cattle, sheep, pigs, turkeys and chickens. It shows bacteriostatic effect by inhibiting protein synthesis in microorganisms. They are especially used in the treatment of respiratory system infections in these animals. Cardiotoxicity, which is defined among the side effects of macrolide group antibiotics, is quite prominent in tilmicosin. It can cause cardiotoxicity and death, when non-subcutaneous applications in recommended animals or extra-label use. Humans can often be accidentally exposed to tilmicosin, and deaths can be observed. Tilmicosin is one of the most reported side effects among veterinary drugs. In this review, it could be tried to give information about the toxicity, mechanism and treatment options of tilmicosin in humans and animals.

**Keywords:** Tilmicosin, cardiotoxicity, toxicity

© EJBCS. All rights reserved.

#### 1. Giriş

Makrolid grubu antibiyotikler veteriner hekimlikte en fazla kullanılan antibiyotiklerdendir. Hedef tür hayvanlarda solunum sistemi enfeksiyonları, anaerob enfeksiyonlar ve ayak enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılırlar. Etkili oldukları mikroorganizmalarda protein sentezini engelleyerek bakteriostatik etki gösterirler. Makrolid grubu antibiyotiklerden eritromisin, tilosin, tilvalosin, spiramisin, tilmikosin, tulatromisin, gamitromisin ve tildipirosin veteriner hekimlikte kullanım alanı bulur (Yazar, 2018; Yazar, 2020; Coskun ve Yazar, 2020). Tilmikosin kullanımında hedef tür olarak sığır, koyun, domuz, hindi ve tavuklar tanımlanmıştır. Bu hayvanlarda özellikle *Pasteurella multocida* ve *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* kaynaklı solunum sistemi enfeksiyonları

tedavisinde kullanılır. Sığır ve koyunlarda önerilen tek dozda (10 mg/kg, deri altı) etkinliğini yaklaşık olarak üç gün koruduğu, gerek duyulduğunda üç gün sonra tekrar uygulama yapılabileceği ifade edilmektedir (Yazar, 2018; EMA, 2020a; EMA, 2020b).

Deneyisel araştırmada makrolid grubu antibiyotiklerin kardiyotoksik etkiler gösterebileceği belirlenmiştir (Yan ve ark., 2019). Tilmikosin veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılsa da ölümlerle sonuçlanabilen ciddi kardiyotoksik yan etkiler gösterebilmektedir. Enjektabl ticari formülasyon sadece deri altı yolla uygulanır. Türe bağlı olarak değişmekle birlikte 7.5-30 mg/kg (IM, IV) dozlarında ölümlere neden olabildiği belirtilmiştir (Yazar, 2020; EMA, 2020a).

## 2. Tilmikosin Zehirliliği

Yapılan araştırmalarda tilmikosinin apoptozis (Oda ve Derbalah, 2018) veya oksidatif strese (Aboubakr ve ark., 2020) neden olarak kardiyotoksositeye neden olabileceği ifade edilse de, kardiyotoksik etkilerini pozitif kronotropi ve negatif inotropiye neden olarak gösterir (Yazar, 2020; EMA, 2020a). Tilmikosinin kardiyotoksik etkileri hayvanlarda rapor edilmekle (Arunvikram ve ark., 2014; Yazar, 2020) birlikte, insanlarda da ölümlere kadar gidebilen zehirlenme vakaları bildirilmiştir (Oakes ve Seifert, 2008). Tilmikosin kaynaklı zehirlenme vakaları insanlarda kazara, mesleki maruziyet ve intihar kaynaklı olarak gözlenebilmektedir. Tilmikosin ve taşıt maddesi olan propilen glikolün insanlar için özellikle intravenöz uygulamada oldukça zehirli olabileceği ifade edilmiştir. Kardiyotoksik etkisini ise kalsiyum kanallarını bloke ederek gösterebileceği belirlenmiştir. Dermal kontaminasyonda emilimin azaltılması için deriye buz uygulaması önerilmektedir. Sistemik maruz kalmalarda ise damar içi kalsiyum, dopamin veya doputamin uygulamaları yapılabileceği ifade edilmiştir. Beta blokörler, adrenalin veya noradrenalin uygulaması yapılmamalıdır (Lust ve ark., 2011). Amerika Birleşik Devletlerinde 2001-2005 yılları arasında 1.291 insanın tilmikosine maruz kaldığı ifade edilmiştir. Parenteral yolla maruz kalmayan insanlarda ciddi yan etkiler veya ölüm gözlenmezken, parenteral yolla maruz kalanlarda ciddi yan etkiler ve ölümler gözlemlendiği bildirilmiştir. Parenteral 0.5 mL dozunda maruziyette ciddi yan etkiler gözlenebileceği ifade edilmiştir (Oakes ve Seifert, 2008). Tilmikosin zehirliliği ile ilgili farmakovijilans raporuna göre ilaca maruz kalan 3.168 insanın yaklaşık yarısında klinik belirti görülmediği ve enjeksiyonların büyük kısmının kazara yapıldığı bildirilmiştir. Klinik belirtilerin ilk bir saat içinde geliştiği, yaygın klinik belirti olarak enjeksiyon yerinde ağrı, kanama, şişme, bulantı, taşikardi, anksiyete, baş dönmesi ve göğüs ağrısı gözlemlendiği bildirilmiştir. İlaça maruz kalan 156 kişide ciddi yan etkiler gözlemlendiği ve 13 vakada ölüm geliştiği ifade edilmiştir. Ölümün 11 tanesinin intihardan, 2 tanesinin ise kazara enjeksiyondan kaynaklandığı rapor edilmiştir (Veenhuizen ve ark., 2006). Ayrıca 1998-2003 yılları arasında tilmikosine maruz kalan 46 insanda ölüm gözlenmediği ifade edilmiştir (Forrester, 2005). Kazara tilmikosin enjeksiyonuna maruz kalan bir insan ile ilgili yayınlanan vaka raporunda ciddi göğüs ağrısı, EKG'de değişim, kalp enzimlerinde yükselmeler gözlemlendiği ve tilmikosin uygulamasının eğitimli personelce yapılması gerektiği ifade edilmiştir (Von Essen ve ark., 2003). Kazara maruziyete kalan başka bir vakada solunum güçlüğü, taşikardi ve hipotansiyon geliştiği bildirilmiştir. Tedavide parenteral kalsiyum, insülin, dektroz ve intravenöz lipid emülsiyonu uygulamalarının faydalı olabileceği ifade edilmiştir (Besserer ve ark., 2016).

İnsanların yanında hayvanlarda da toksisite raporları bildirilmiştir. Sunulan vaka raporlarında tilmikosine bağlı keçi (Coskun ve ark., 2012) ve kuzu (Christodoulopoulos, 2009) ölümleri rapor edilmiştir. Özellikle keçilerde çok zehirli olmasına rağmen, primatlar dahil diğer türlerde toksik etkiler gösterebilmektedir. Maymunlarda ölüm

dozunun yaklaşık 30 mg/kg olduğu, satılan ticari ürünlerden (300 mg/mL) 6 mL'sinin ölümüne neden olabileceği bildirilmiştir (Yazar, 2020). Merkeplere deneysel amaçlı tilmikosin uygulaması sonrasında ekokardiyografide kısa süreli değişimlere neden olduğu ifade edilmiştir (Youssef ve ark., 2016). Köpeklerde yapılan araştırma tilmikosinin negatif inotropi ve taşikardiye neden olduğu, beta blokör uygulamasının olumlu etkisinin olmadığı, ancak doputamin uygulamasının kısmen olumlu etkileri olduğu ifade edilmiştir (Main ve ark., 1996). Deneysel olarak *Mycoplasma* spp ile enfekte domuzlara farklı dozlarda oral tilmikosin uygulamasının biyokimyasal ve fizyolojik parametrelere olumsuz etkilerinin olmadığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2018).

Yapılan araştırmalarda tilmikosin uygulamasının tavşanlarda alyuvar ve akyuvar sayısında geçici düşme dışında, hemogram ile serum biyokimyasal parametreleri etkilemediği (Altunok ve ark., 2002), karaciğer ve böbrek fonksiyon parametreleri üzerine belirgin olumsuz etkileri olmadığı (Said ve ark., 2016), ancak kalp hasarı belirteçleri olan kreatin kinaz, kreatin kinaz-MB ve troponin I düzeylerinde artışa neden olduğu ifade edilmiştir. Tilmikosinin kardiyotoksik etkilerinin net olarak tanımlanması için histopatolojik değerlendirme de yapılması gerektiği belirtilmiştir (Yazar ve ark., 2002b).

Ratlarda yapılan araştırmalarda letal doz tilmikosin (360 mg/kg, SC) uygulamasından 8 dakika sonra amiodaron (25 mg/kg, IV) uygulamasının, tek başına tilmikosin uygulanan gruba göre hayatta kalma oranını %0'dan %40 yükselttiği ve tilmikosin zehirlenmesinde kullanılabilirliği (Er ve ark., 2014), tilmikosinin neden olduğu myokardial oksidatif stres (Cetin ve ark., 2011), laktat dehidrogenaz, kreatin kinaz, kreatin kinaz-MB düzeylerinde artışlar ve sol ventriküler sistolik disfonksiyona (Cetin, 2019) ghrelin uygulamasının olumlu etkiler gösterebileceği ifade edilmiştir. Yüksek doz tilmikosin uygulaması sonrasında kalp hasarı belirteçleri ile malondialdehid düzeyinin yükseldiği, antioksidan parametrelerde düşmeler ve histopatolojide yoğun yangı hücre infiltrasyonu ve nekrozlar gözlemlendiği belirtilmiştir. Tilmikosinin neden olduğu kardiyotoksitede karnitin ve/veya vitamin E uygulamalarının olumlu etkileri olabileceği ifade edilmiştir (Aboubakr ve ark., 2020). Gebe ratlara yüksek dozlarda tilmikosin uygulamasının fetal defekt ile anormalliklere neden olduğu ve gebelikte kullanımının riskli olabileceği belirtilmiştir (Abo-Kora ve ark., 2016).

Farelerde yapılan araştırmalarda tilmikosin uygulamasının hemogram parametrelerini değiştirmediği, kalpte lipid peroksidasyonuna neden olmadığı, ancak yüksek dozlarda karaciğer malondialdehid (Yazar ve ark., 2004), serum kreatin kinaz, kreatin kinaz-MB, malondialdehid (Yapar ve ark., 2006), kardiyak kreatin kinaz (Yazar ve ark., 2001), karaciğer, böbrek ve kalp hasarı parametrelerini yükselttiği (Gheith ve ark., 2015), hemogram parametreleri (Gheith ve ark., 2015), kardiyak süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir (Yazar ve ark., 2002a). Tilmikosinin neden olduğu kardiyotoksosite ve lipid peroksidasyonunun düzeltilmesi üzerine *Spirulina platensis* (İbrahim ve Abdel-Daim, 2015) veya L-karnitin (Kart ve

ark., 2007a; Kart ve ark., 2007b) uygulamalarının olumlu etkileri olduğu ifade edilmiştir.

Tilmikosinin kanatlılarda histolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine belirgin etkisinin bulunmadığı (Rasheed ve ark., 2018), oksidatif stres (Eraslan, 2007), hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde geçici değişimlere neden olabileceği ifade edilmiştir (Elsayed ve ark., 2014).

### 3. Sonuç ve Öneriler

Tilmikosin veteriner hekimlikte özellikle sığırlarda çok sık kullanılmaktadır. Solunum sistemi enfeksiyonlarında tedavi maliyeti olarak uygun olsa da ölümlerle sonuçlanabilen kardiyotoksik yan etkiler gelişebilmektedir. İlaç uygulayacak eğitimli personel bulunmadığı durumlarda, tedavide diğer alternatif antibiyotikler değerlendirilebilir. Literatür taramasından anlaşılacağı gibi ilaç hayvanlar kadar insanlarda da ciddi yan etkilere neden olabilmektedir. Gelişen kardiyotoksiste kalsiyum kanalları inhibisyonu yanında oksidatif stres ve apoptozis ile ilişkilendirilse de literatürde fikir birliği bulunmamaktadır. Gelişen ölüm hızı dikkate alındığında sadece oksidatif stresle açıklamak yeterli değildir. Tedavide ise zehirlenme vakalarında genel refleks olarak ilk uygulaması düşünülen atropin, beta blokör, adrenalin (epinefrin) veya noradrenalin (norepinefrin) bu vakalarda uygulanmamalıdır. Tedavide damar içi kalsiyum, amiodoran ve dopamin veya doputamin uygulamaları yanında yüksek doz insülin ve dekstroz uygulamaları önerilebilir.

### Kaynaklar

- Abo-Kora S, El-Meleh A, Aboubakr, M 2016. Effect of tilmicosin on fetal developments in pregnant female albino rats. *Pharmacol Pharm*, 7:147-152.
- Aboubakr M, Elsayd F, Soliman A, Fadl SE, El-Shafey A, Abdelhice E.Y 2020. L-Carnitine and vitamin E ameliorate cardiotoxicity induced by tilmicosin in rats. *Environ Sci Pollut Res Int*, 27:23026-23034.
- Altunok V, Yazar E, Elmas M, Tras B, Bas AL, Col R 2002. Investigation of haematological and biochemical side effects of tilmicosin in healthy New Zealand rabbits. *J Vet Med B*, 49:68-70.
- Arunvikram K, Mohanty I, Sardar KK, Palai S, Sahoo G, Patra RC 2014. Adverse drug reaction and toxicity caused by commonly used antimicrobials in canine practice. *Vet World*, 7:299-305.
- Besserer F, Chuang R, Mink M, Massey L, Clod B 2016. Tilmicosin toxicity: a case of accidental human tilmicosin injection managed with calcium, high-dose insulin and intravenous lipid emulsion therapy. *Clin Toxicol*, 54:812-813.
- Cetin E 2019. Protective effect of ghrelin against tilmicosin-induced left ventricular dysfunction in rats. *Can J Physiol Pharm*, 97:407-412.
- Cetin N, Boyraz U, Cetin E 2011. Ghrelin alleviates tilmicosin induced myocardial oxidative stress in rats. *JAVA*, 10:2038-2042

- Christodoulouopoulos G 2019. Adverse outcome of using tilmicosin in a lamb with multiple ventricular septal defects. *Can Vet J*, 50:61-63.
- Coskun D, Yazar E 2020. Use of tildipirosin in ruminants. *Eurasian J Bio Chem Sci*, 3:70-73.
- Coskun Y, Golen I, Ondes S, Erdogdu T 2012. Poisoning case caused by tilmicosin in goats. *Bornova Vet Bil Derg*, 34:39-42.
- Elsayed M, Elkomy A, Aboubakr M, Morad M 2014. Tissue residues, hematological and biochemical effects of tilmicosin in broiler chicken. *Vet Med Int*, 502872.
- EMA 2020a. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/tilmicosin-extension-turkeya-summary-report-6-committee-veterinary-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/tilmicosin-extension-turkeya-summary-report-6-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf), erişim tarihi:07.08.2020
- EMA 2020b. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/tilmicosin-pigs-sheep-tissues-summary-report-2-committee-veterinary-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/tilmicosin-pigs-sheep-tissues-summary-report-2-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf), erişim tarihi:07.08.2020
- Er A, Tras B, Cetin G, Dik B 2014. Amiodarone may prevent the tilmicosin-caused lethal toxicity. *Acta Sci Vet*, 42:1187.
- Eraslan G 2007. Effects of different doses of tilmicosin on erythrocyte catalase activity and plasma malondialdehyde levels in chicks. *Bull Vet Inst Pulawy*, 51:145-147.
- Forrester MB 2005. Human exposures to tilmicosin reported to poison centres, Texas, 1998-2003. *Hum Exp Toxicol*, 24:275-278.
- Gheith I, El-Mahmoudy A, Elmajdoub A, Awidat S 2015. Pharmacovigilance of tilmicosin in mice. *Acta Sci Vet*, 43:1318.
- Ibrahim A, Abdel-Daim MM 2015. Modulating effects of *Spirulina platensis* against tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. *Cell J*, 17:137-144.
- Kart A, Yapar K, Karapehlivan M, Citil M 2007a. The possible protective effect of l-carnitine on tilmicosin-induced cardiotoxicity in mice. *J Vet Med A*, 54:144-146.
- Kart A, Karapehlivan M, Yapar K, Citil M, Akpinar A 2007b. Protection through l-carnitine on tissue oxidant status and sialic acid content in tilmicosin-induced alterations in Balb/C mice. *Acta Vet Brno*, 76:203-207.
- Lust EB, Barthold C, Malesker MA, Wichman TO 2011. Human health hazards of veterinary medications: Information for emergency departments. *J Emerg Med*, 40:198-207.
- Main BW, Means JR, Rinkema LE, Smith WC, Sarazan RD 1996. Cardiovascular effects of the macrolide antibiotic tilmicosin, administered alone and in combination with propranolol or dobutamine, in conscious unrestrained dogs. *J Vet Pharmacol Therap*, 19:225-232.
- Oakes JA, Seifert SA 2008. American association of poison control centers database characterization of human tilmicosin exposures, 2001-2005. *J Med Toxicol*, 4:225-231.

- Oda SS, Derbalah AE 2018. Impact of diclofenac sodium on tilmicosin-induced acute cardiotoxicity in rats (tilmicosin and diclofenac cardiotoxicity). *Cardiovasc Toxicol*, 18:63-75.
- Rasheed MA, Ashraf M, Javeed A, Anjum AA 2018. Toxicological evaluation of tilmicosin after intramuscular injection in broiler chicken. *J Anim Plant Sci*, 28:1678-1686.
- Said, A.A., Abdel-Alim, F., El-Nabtity, S.M., Eldin, M.B., Fadel, M.A. 2016. Immunological and biochemical profiles of tilmicosin in rabbits. *Zagazig Vet. J.*, 44, 48-55.
- Veenhuizen MF, Wright TJ, McManus RF, Owens JG 2006. Analysis of reports of human exposure to Micotil 300 (tilmicosin injection). *JAVMA*, 229:1737-1742.
- Von Essen S, Spencer J, Hass B, List P, Seifert SA, 2003. Unintentional human exposure to tilmicosin (Micotilw300). *J Toxicol*, 41:229-233.
- Yan Z, Huang X, Xie Y, Song M, Zhu K, Ding S 2019. Macrolides induce severe cardiotoxicity and developmental toxicity in zebrafish embryos. *Sci Total Environ*, 649:1414-1421.
- Yapar K, Kart A, Karapehlivan M 2006. Effects of different doses of tilmicosin on some biochemical parameters and antioxidant status in serum and cardiac tissues in mice. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50:605-608
- Yazar E 2018. Veteriner İlaç ve Aşı A'dan Z'ye, Nobel tıp yayınevi, İstanbul, Türkiye.
- Yazar E 2020. Kemoterapötikler, in: Veteriner İlaç Rehberi ve Tedavi El Kitabı, Ed: Yazar E, Nobel tıp kitabevi, İstanbul, Türkiye
- Yazar E, Altunok V, Elmas M, Tras B, Bas AL, Ozdemir V 2001. Effect of tilmicosin on cardiac muscle and serum creatine kinases activities and serum total protein level in healthy male Balb/C mice. *Revue Med Vet*, 152:881-883.
- Yazar E, Altunok V, Elmas M, Tras B, Bas AL, Ozdemir V 2002a. The effect of tilmicosin on cardiac superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities. *J Vet Med B*, 49:209-210.
- Yazar E, Birdane YO, Elmas M, Tras B, Bas AL 2002b. Effect of tilmicosin on serum creatine kinase, creatine kinase-MB and troponin I levels in New Zealand White rabbits. *Arch Geflugelk*, 66:237-239.
- Yazar E, Oztekin E, Sivrikaya A, Col R, Elmas M, Bas AL 2004. Effects of different doses of tilmicosin on malondialdehyde and glutathione concentrations in mice. *Acta Vet Brno*, 73:69-72.
- Youssef MA, Ibrahim HM, Farag EM, El-Khodery SA 2016. Effects of tilmicosin phosphate administration on echocardiographic parameters in healthy donkeys (*Equus asinus*): an experimental study. *J Equine Vet Sci*, 38:24-29.
- Zhang X, Pan J, Wu N, Tang S, Lei X, Sun Y, Hartung J, Bao E 2018. Investigation of the efficiency and safety of tilmicosin phosphate in treating experimental mycoplasmal infections in pigs. *Turk J Vet Anim Sci*, 42:571-580.





**EJBCS**