



YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

YUZUNCU YIL UNIVERSITY

Journal of the Institute of Natural & Applied Sciences

www.dergipark.gov.tr

ISSN 1300 - 5413

Yıl / Year : 2021

Cilt / Volume : 26

Sayı / Number : 3

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

Yuzuncu Yil University Journal of the Institute of Natural & Applied Sciences

SAHİBİ / OWNER

Prof. Dr. Harun AKKUŞ

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

SORUMLU MÜDÜR / PUBLISHER MANAGER

Doç. Dr. Çeknaz ERDİNÇ

BAŞ EDITÖR / EDITOR-IN-CHIEF

Doç.Dr. Serhat KARACA

YARDIMCI EDITÖRLER / ASSOCIATE EDITORS

Dr. Öğr. Üyesi Boran KARATAŞ

Dr. Öğr. Üyesi Hasan ÇELİKÜREK

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Cemil TUNÇ, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Prof. Dr. Csaba Szabo, Debrecen Üniversitesi

Prof. Dr. Çağdaş Hakan Aladağ, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Fatih Öz, Atatürk Üniversitesi

Prof. Dr. Feyyaz DURAP, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Hüseyin MERDAN, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Prof. Dr. Kenan SÖĞÜT, Mersin Üniversitesi

Prof. Dr. Mahmut ELP, Kastamonu Üniversitesi

Prof. Dr. Mehmet ZAHMAKIRAN, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Prof. Dr. Nilgün KARADENİZ, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Semra DEMİR, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Doç.Dr. Baran YOĞURTÇUOĞLU, Hacettepe Üniversitesi

Doç. Dr. Çeknaz ERDİNÇ, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Doç. Dr. Erdal AĞLAR, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

Doç. Dr. Harun AYDIN, Hacettepe Üniversitesi

Doç. Dr. Hüseyin KARAKUŞ, Dumlupınar Üniversitesi

Doç. Dr. Nergiz Yıldız YORGUN, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Doç. Dr. Sabri GÜL, Mustafa Kemal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Altuğ Atabey, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik

Dr. Öğr. Üyesi Zehra Funda TÜRKMENOĞLU, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Dr. Danielle Rodrigues Magalhaes, Zaragoza Üniversitesi

Dr. Erasmo Velázquez Cigarroa, Chapingo Autonomous Üniversitesi

İSTATİSTİK EDITÖRLERİ

Prof. Dr. Abdullah YEŞİLOVA, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

İNGİLİZCE DİL EDITÖRÜ

Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKMAKÇI, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

KAPAK TASARIMI

Dr. Öğr. Üyesi Hasan ÇELİKYÜREK

YAZI İŞLERİ

Araş. Gör. Ogün Ozan VAROL – Yazım ve Dil Editörü

Araş. Gör. Murat TURAN

Araş. Gör. Bahar KALKAN

Araş. Gör. Muhammed Coşkun IRMAK

Yük. Müh. Mehmet ERZEN

BİLİMSEL DANIŞMA KURULU (ADVISORY BOARD)

Prof. Dr. Berna UNUTMAZ (Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fak., İnşaat Müh.)

Prof. Dr. Cemil TUNÇ (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fak. Matematik)

Prof. Dr. Csaba Szabo, (Debrecen Üniversitesi, Tarım Bilimleri)

Prof. Dr. Çağdaş Hakan Aladağ, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fak.-İstatistik)

Prof. Dr. Fatih Öz (Atatürk Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fak. Gıda Müh.)

Prof. Dr. Feyyaz DURAP (Dicle Üniversitesi, Fen Fak.-Kimya)

Prof. Dr. Harun AKKUŞ (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fak. Fizik)

Prof. Dr. Hüseyin MERDAN (TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Edebiyat Fak.-Matematik)

Prof. Dr. Kenan SÖĞÜT, (Mersin Üniversitesi, Fen Fak.-Fizik)

Prof. Dr. Mahmut ELP (Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri)

Prof. Dr. Mehmet BOZOĞLU (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi)

Prof. Dr. Mehmet ZAHMAKIRAN (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fak.-Kimya)

Prof. Dr. Naci GENÇ (Yalova Üniversitesi Mühendislik Fak. Elektrik-Elektronik Müh.)

Prof. Dr. Nilgün KARADENİZ (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Peyzaj Mimarlığı)

Prof. Dr. Pervin KINAY (Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Bitki Koruma)

Prof. Dr. Sedat YAYLA (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fak. Makine Müh.)

Prof. Dr. Semra DEMİR (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fak. Bitki Koruma)

Prof. Dr. Yusuf UÇAR (Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fak. Tarımsal Yapılar ve Sulama)

Doç.Dr. Ahmet TEĞMEN (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fak. Maden Müh.)

Doç.Dr. Baran YOĞURTÇUOĞLU (Hacettepe Üniversitesi Fen Fak.-Biyoloji)

Doç. Dr. Bihter Çolak ESETLİLİ (Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Toprak)

Doç.Dr. Cenk DÖNMEZ (Çukurova Üniversitesi Mimarlık Fak. Peyzaj Mim.)

Doç. Dr. Çeknas ERDİNÇ (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fak. Tarımsal Biyoteknoloji)

Doç.Dr. Erdal AĞLAR (Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Ziraat Fak.- Bahçe Bitkileri)

Doç.Dr. Gülsüm YILDIZ (Bolu İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fak. Tarla Bitkileri)

Doç. Dr. Harun AYDIN, (Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fak.-Jeoloji Müh.)

Doç.Dr. Halife KODAZ (Konya Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fak. Bilgisayar Müh.)

Doç. Dr. Hüseyin KARAKUŞ, (Dumlupınar Üniversitesi, Mühendislik Fak.- Jeoloji Müh.)

Doç. Dr. Merih Aydınalp KÖKSAL (Hacettepe Üniversitesi, Çevre Müh.)

Doç. Dr. Şebnem KUŞVURAN (Çankırı Karatekin Üniversitesi, Kızılırmak MYO, Bahçe Bitkileri)

Doç. Dr. Sabri GÜL (Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fak.-Zootečni)

Dr. Öğr. Üyesi Altuğ Atabey (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fak. Makine Müh.)
Dr. Öğr. Üyesi Zehra Funda TÜRKMENÖGLU (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik Fak-Maden Müh)
Dr. Danielle Rodrigues Magalhaes, (Zaragoza Üniversitesi- Hayvansal Üretim ve Gıda Bilimi)
Dr. Erasmo Velázquez Cigarroa, (Chapingo Autonomous Üniversitesi-Sürdürülebilir Tarım)
Dr. Sibel Küçük Yıldırım, (Hacettepe Üniversitesi, Fen Fak., Moleküler Biyoloji ve Genetik)

YÖNETİM YERİ VE YAZIŞMA ADRESİ (CORRESPONDENCE ADDRESS)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Fen Bilimleri Enstitüsü Zeve Yerleşkesi 65080

VAN

Telefon :0(432) 225 11 23

Belgegeçer (Faks): 0(432) 225 11 23

e-posta:dergifenbilimleri@yyu.edu.tr

Cilt (Volume): 26

Sayı (Number): 3

Web: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>

Basıldığı Yer ve Tarih: VAN, 2021

ISSN:1300-5413

DERGİ BİLGİLERİ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

ISSN 1300-5413 | e-ISSN 2667-467X | Yayımlanma Aralığı Yılda 3 Sayı | Başlangıç: 1995

Yuzuncu Yil University Journal of the Institute of Natural & Applied Sciences

JINAS

İçindekiler / Contents

Araştırma Makaleleri / Research Articles

- ♦ Germination and Seedling Growth of Some Turfgrass Species Exposed to Smoke Solutions 114-122
Ahmet OZBEK, Ugur BASARAN, Medine COPUR DOGRUSOZ
- ♦ Giyilebilir Minyatür Atalet ve Manyetik Sensörler (MIMU) Vasıtasıyla Alt Ekstremitte Aktivitelerinin Makine Öğrenmesi Algoritmaları İle Sınıflandırılması 123-134
Beyda TAŞAR
- ♦ Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Etkili Cyclo (Phe-Phe) Dipeptidinin Konformasyon Analizi 135-142
Sefa ÇELİK, Sevim AKYÜZ, Ayşen ERBÖLÜKBAŞ ÖZEL
- ♦ Yeşil Nohut Kabuğu Atıklarının Sulu Çözeltilerden Pb (II) Biyosorpsiyonunda Değerlendirilmesi 143-154
Kübra KORKMAZ, Hasan SAYĞILI
- ♦ Taşova (Amasya) Yöresinde Yetiştirilen ‘Ekmek’ Ayva Çeşidinin Fiziksel ve Biyokimyasal Özellikleri 155-162
Mehmet Fikret BALTA, Orhan KARAKAYA, İzzet YAMAN, Serkan UZUN, Hüseyin KIRKAYA
- ♦ Effects of Microwave-Assisted Steam Drying and Freeze-Drying Techniques in the Raw Wheat Germ for the Antioxidant Activity and Microbiological Quality 163-171
Yağmur ERİM KÖSE, Raciye MERAL, İsa CAVİDOĞLU
-



Research Article

Germination and Seedling Growth of Some Turfgrass Species Exposed to Smoke Solutions

Ahmet OZBEK¹, Ugur BASARAN¹, Medine COPUR DOGRUSOZ^{*1}

¹Yozgat Bozok University, Agriculture of Faculty, Field Crops,, 66200, Yozgat, Turkey

Ahmet OZBEK, ORCID No:0000-0002-0875-9973, Ugur BASARAN, ORCID No:0000-0002-6644-5892,
Medine COPUR DOGRUSOZ, ORCID No:0000-0002-9159-1699

*Corresponding author e-mail: medine.copur@bozok.edu.tr

Article Info

Received: 05.05.2021
Accepted: 13.10.2021
Online December 2021
DOI:10.53433/yyufbed.932611

Keywords

Turfgrass species,
Smoke solution,
Germination,
Seedling

Abstract: This study aimed to investigate the effect of priming with plant-derived smoke solutions (SS) on the germination, seedling growth and chemical content of three turfgrass species (*Lolium perenne*, *Festuca arundinacea*, *Poa pratensis*). SS was applied at six concentrations (0, 0.5, 1, 5, 10 and 20%) in petri and pot conditions. In petri condition, SS did not stimulate the germination speed, and the highest concentrations (20%) led to lower values than control. In the pot conditions, seedling growth and chemical content were significantly stimulated by the SS. The effect of the SS varied depending on the species and concentrations. Shoot and root length in grass species were improved by the SS, except in *P. pratensis* for shoot length. Compared to control, higher shoot dry weight in *F. arundinacea* (1%) and higher root dry weight in *L. perenne* (5%) and *F. arundinacea* (0.5%) were determined at certain concentrations. These results showed that priming with SS at appropriate concentrations may lead to healthy and vigorous seedlings. When seedling vigor and visuality are evaluated together, it has been determined that priming with low concentrations of SS such as 0.5 and 1% can produce vigorous seedling.

Duman Solüsyonlarına Maruz Kalan Bazı Çim Türlerinin Çimlenme ve Fide Büyümesi

Makale Bilgileri

Geliş: 05.05.2021
Kabul: 13.10.2021
Online Aralık 2021
DOI: 10.53433/yyufbed.932611

Anahtar Kelimeler

Çim türleri,
Duman solüsyonu,
Çimlenme,
Fide gelişimi

Öz: Bu çalışmada, bitki kaynaklı duman solüsyonları ile priming uygulamasının üç farklı çim türünde (*Lolium perenne*, *Festuca arundinacea* ve *Poa pratensis*) çimlenme, fide büyümesi ve kimyasal içeriği üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Duman solüsyonları petri ve saksı koşullarında altı konsantrasyonda (%0, 0.5, 1, 5, 10 ve 20) uygulanmıştır. Petri koşulunda, duman solüsyonları çimlenme hızını teşvik etmemiş ve en yüksek konsantrasyonlar (%20) kontrolden daha düşük değerlere yol açmıştır. Saksı koşullarında ise fide büyümesi ve kimyasal içerik duman solüsyonları tarafından önemli ölçüde teşvik edilmiştir. Duman solüsyonunun olumlu etkisi türe ve konsantrasyonlara bağlı olarak değişiklik göstermiştir. *P. pratensis*' nin sürgün uzunluğu hariç tüm türlerde sürgün ve kök uzunluğu duman solüsyonları tarafından pozitif yönde etkilenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, belirli konsantrasyonlarda *F. arundinacea*' da daha yüksek sürgün (%1) ve kök kuru ağırlığı (%0.5) ve *L. perenne*' de daha yüksek kök kuru ağırlığı (%5) belirlenmiştir. Bu sonuçlar, uygun konsantrasyonlarda bitkisel kaynaklı duman solüsyonları ile priming uygulamasının çim türlerinde sağlıklı ve kuvvetli fideler oluşturulabileceğini göstermiştir. Fide canlılığı ve görselliği birlikte değerlendirildiğinde %0.5 ve 1 gibi düşük solüsyon konsantrasyonları ile priming işleminin daha güçlü fideler sağlayabileceği tespit edilmiştir.

1. Introduction

Fire and smoke are essential or effective factors for germination in some plants (Crosti et al., 2006). These effects are particularly evident in seeds that respond to the physical (i.e. temperature and light) or chemical (smoke, gas, nutrients) germination cues associated with fire. Seeds of many species germinate in stimulate the embryo directly or in response to physical signals associated with fire, such as fracturing or desiccation of the seed coat by heat (Jeffrey et al., 1998). Many plant species particularly grasses rapidly germinate after the rain that followed the bush fires, indicating that plant-derived smoke contains some bioactive metabolites that are responsible for stimulating seed germination (Gupta et al., 2020). This is may be associated with physical and chemical results of fire. Both smoke and smoke-water include chemical stimulants that are active on germination (Van Staden et al., 2000). High number of the species from different families responded positively to smoke with significantly higher seed germination (Dixon et al., 1995; Baskin & Baskin, 1998). Stimulating effect of smoke on seed germination and seedling growth of some economically important agricultural and horticultural crops (Sparg et al., 2006; Ghebrehiwot et al., 2009; Kulkarni et al., 2011; Basaran et al., 2019) indicated that plant-derived smoke and aqueous extracts could be useful practices in the wide field of agriculture to improve growth and yield (Elsadek & Yousef, 2019).

Turfgrasses are commonly propagated by seeds. In some genera of turfgrasses, the presence of low germination percentage and poor seedling vigor are the main problem in seed propagation (Salehi & Khosh-Khui, 2005; Richardson & Hignight, 2010). A poor seedling emergence leads to a poor turfgrass stand, and weed infestations (Shiade & Boelt, 2020) results waste of time and resources. It is very important, particularly under sub-optimal conditions, to reduce the period between sowing and seedling emergence in turfgrass (Krol et al., 2014).

Plant-derived smoke provided an important germination signal for a number of *Poaceae* species (Ghebrehiwot et al., 2009) widely studied in Australian native grasslands for its effect in seed germination and seedling growth (Dixon et al., 1995; Read & Bellairs, 1999; Clarke & French, 2005), and results showed the effect of smoke on grass species was highly variable. Besides these different results on different grass species, there is little information about smoke solution effects on turfgrass.

The objective of this study was to investigate the effects of smoke solutions on seed germination and seedling growth of widely cultivated turfgrass species such as *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea* and *Poa pratensis*.

2. Materials and Methods

In this study, local commercial seeds of *Lolium perenne* (Lp), *Festuca arundinacea* (Fa) and *Poa pratensis* (Pp) were used as the plant material. Germination and seedling growth parameters were determined under fully controlled climate room conditions at the Agriculture Faculty of Yozgat Bozok University. Smoke-water was produced by burning 5 kg of wheat straw using a special mechanism (furnace, vacuum machine and large jar), and smoke generated was passed through a glass column containing 5000 mL of tap water until the burning is complete (Basaran et al., 2019). The solution was then filtered with filter papers and used as the stock solution. For different concentration, stock solution was diluted with distilled water. Germination tests were performed separately in petri and pot conditions.

2.1. Petri experiment

The seeds of each species were primed in different concentrations (0%, 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 20%) of smoke solution for 18 hours at room conditions (20±2 °C). Then seeds were placed in 90 mm petri dishes on filter paper as 25 seeds for Lp and Fa and 50 seeds for Pp with three replications. After 3 ml distillate water added, petri dishes were isolated with parafilm and incubated at a constant temperature (22 °C) under 16:8 h light/dark photoperiod. Germination characteristics of the species were collected different times due to genetically different germination habits; for Lp, Fa and Pp on day 8, 19 and 26 respectively. Seeds with a radicle length of ≥2 mm were considered germinated.

Germination percentage (1) and speed (2) were determined with the following formulas:

$$\text{Germination percentage (GP)} = \frac{\text{Number of total germinated seeds}}{\text{Total number of seeds tested}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Germination speed (GS)} = \frac{\text{Number of germinated seeds}}{\text{Day of first count}} + \dots + \frac{\text{Number of germinated seeds}}{\text{Day of final count}} \quad (2)$$

2.1. Pot experiment

The pots (30 × 40 × 7 cm) were filled with same soil to 4 cm height. Seed norm for pots were 30 g m⁻² in *Lp* and *Fa*, and 15 g m⁻² in *Pp*. After sowing the seeds were covered with approximately 1 cm of soil and irrigated with the concentrations (0.5%, 1%, 5%, 10% and 20%) of smoke solutions up to field capacity and also with tap water (0%) as control. All the treatments were repeated three times, resulting in a total of fifty-four pots. Then pots were taken into the climate room at 22 °C and 16:8 hour light/dark photoperiod. Subsequent irrigation was done with tap water. In pot experiment, shoot length, root length, shoot dry weight, root dry weight, crude protein and mineral content of shoots were determined. These parameters were collected 21, 28 and 34 days after sowing in *Lp*, *Fa* and *Pp* respectively.

Dry weight was determined separately in shoot and root samples. To determine the dry weight, samples were weighted and then dried to constant weight at 70 °C (Chumpookam et al., 2012). Crude protein and mineral content was determined only in shoot samples by using near infrared reflectance spectroscopy (Foss 6500) (Foss NIRSystems, Inc., Silver Spring, MD, USA) with IC0904FE software.

All the data were subjected to SPSS 20.00 analysis and the differences between the means were determined using Duncan's multiple comparison tests, separately for each species.

3. Results

3.1. Petri experiment

In the petri experiment, the effect of smoke solutions (SS) on germination speed was significant (p≤0.01). The percentage of germination in turfgrass also differed significantly (p≤0.01) amongst the treatments (Figure 1). However, SS treatments did not provide any improvement compared to control both in germination speed and percentage and even resulted with lower values, especially at the highest SS doses (20%).

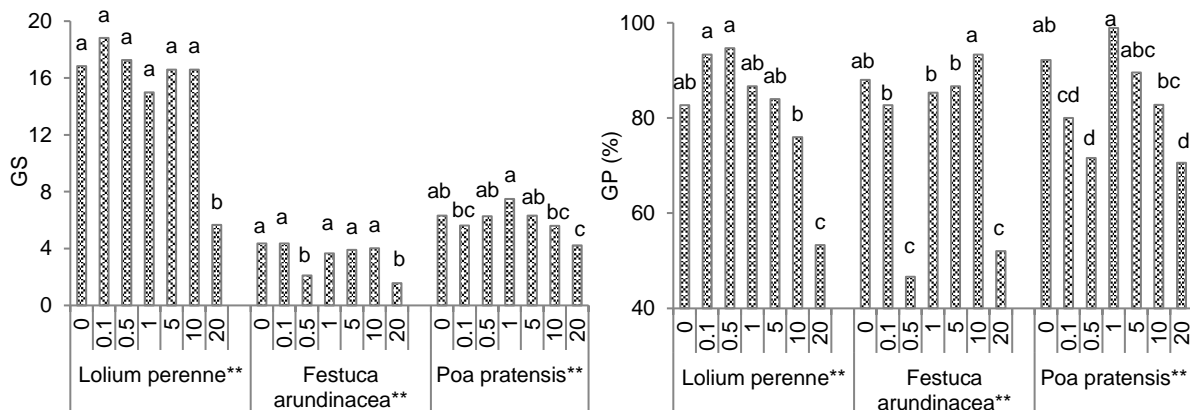


Figure 1. The main effect of priming with smoke solution in different concentrations (%) on germination speed (GS) and germination percentage (GP) in the studied turfgrasses in petri condition (**:p≤0.01).

3.1. Pot experiment

In pot condition, the effect of the concentrations of SS on the shoot and root length of grass species was evaluated (Figure 2). The effect of SS on grass species was different (Figure 3). The shoot length was significantly ($p \leq 0.01$) altered in *Fa* and *Pp* by SS. Shoot length promoted by SS and was higher than control in *Fa* at all the concentrations. Contrarily, shoot length decreased in *Pp* under all the concentrations of SS. The effect of SS on root length was significant ($p \leq 0.01$) and positive in *Lp*. The lowest root length of *Lp* (10.17 cm) was measured in control treatment. Root length of *Fa* and *Pp* were found to be insignificant among the treatments.

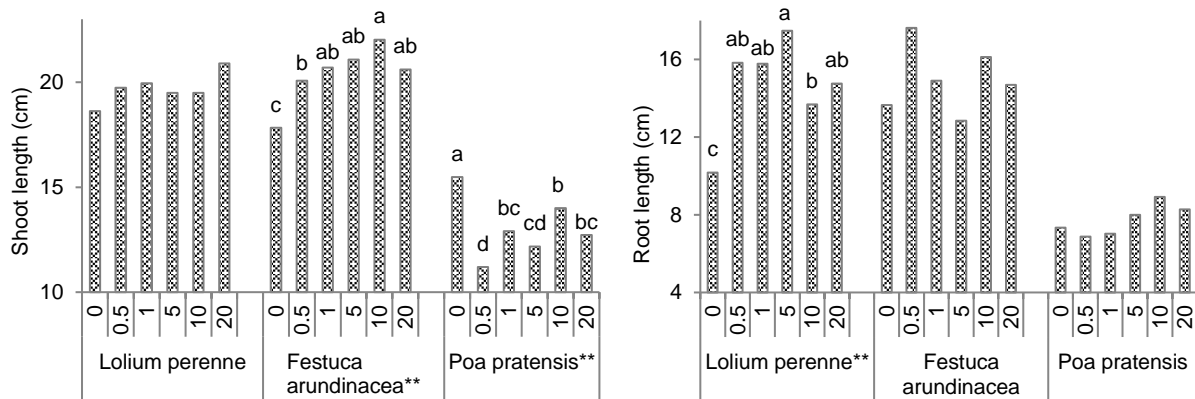


Figure 2. The main effect of smoke solution concentrations (%) on shoot length and root length in the studied turfgrasses in pot condition (**: $p \leq 0.01$).

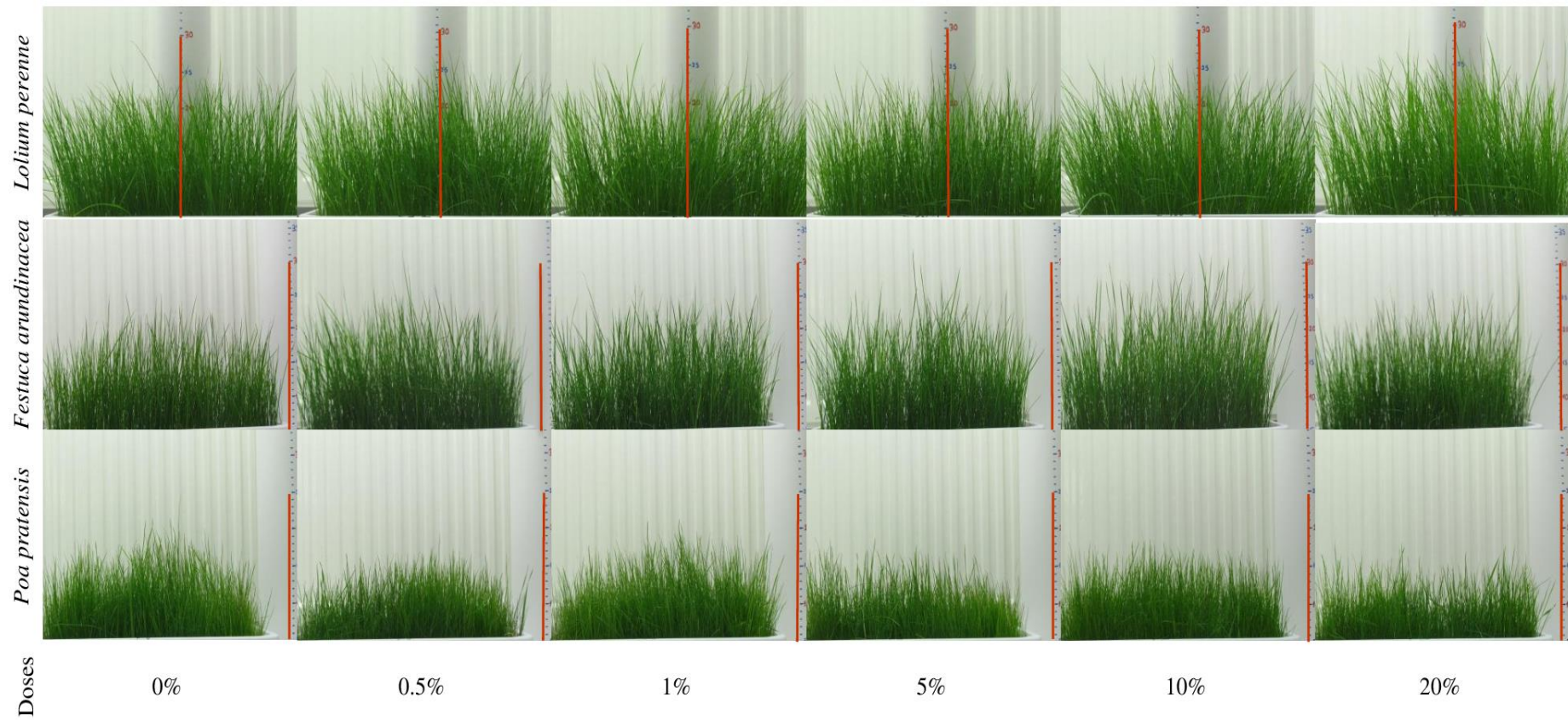


Figure 3. The view of turfgrasses on harvest time at different concentrations of smoke solution. Harvest times: 21 DAS for *Lolium perenne*, 28 DAS for *Festuca arundinacea* and 34 DAS for *Poa pratensis*. (DAS: days after sowing)

The effect of the treatments on shoot dry weight was significant ($p \leq 0.01$) in the *Fa* and *Pp*. (Figure 4). The highest shoot dry weight of *Fa* was determined at 1% of SS. But, shoot dry weight of *Pp* was statistically not above control at any SS dose. The highest concentration (20%) resulted in a significant reduction in shoot dry weight in both *Fa* and *Pp* compared to control. This result indicates that solution concentration is crucial and has a species-specific effect. In terms of root dry weight, significant ($p \leq 0.01$) variation was observed among to treatments in the three turfgrass species (Figure 4). Doses of 5% in *Lp* and of 0.5% in *Fa* showed higher root dry weight than control, but other concentrations were lower than control. Root dry weight in *Pp* was adversely affected by SS, with lower values than control at all concentrations.

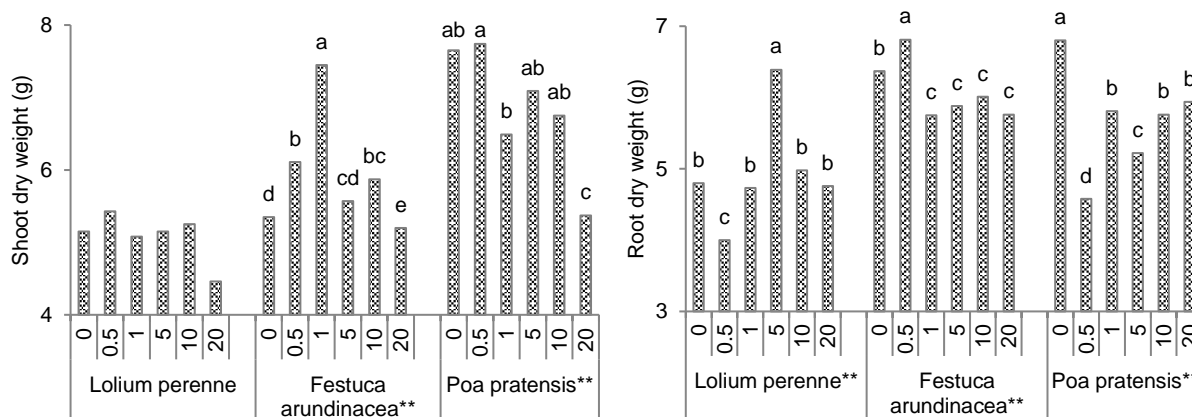


Figure 4. The main effect of smoke solution concentrations (%) on shoot and root dry weight (g) in the studied turfgrasses in pot condition (**: $p \leq 0.01$).

The species-specific effect of SS concentrations was also evident in protein content. In terms of crude protein content in shoot, SS showed no significant change in *Lp*, however, was significant in *Fa* ($p \leq 0.01$) and *Pp* ($p \leq 0.05$). All the treatments in *Fa* and *Pp* were of higher values than control, except for *Pp* at 5% (Figure 5). The maximum protein content was detected at concentrations of 5% (20.28%) and 20% (20.43%) in *Fa* and at 20% (18.86%) in *Pp*.

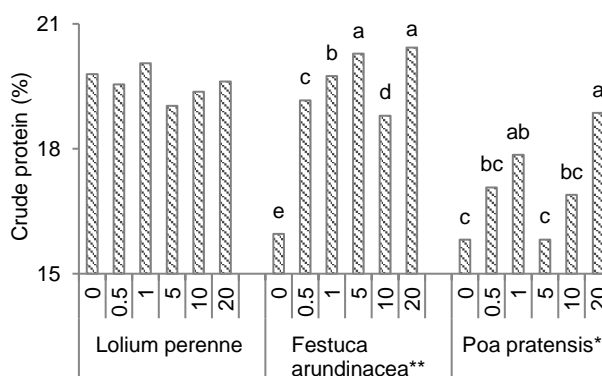


Figure 5. The main effect of smoke solution concentrations (%) on crude protein content (%) of shoot in the studied turfgrasses in pot condition (**: $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$).

The results also showed that SS altered the mineral (Ca, Mg, P and P) uptake of the turfgrasses studied (Figure 6). In terms of P content, the effect of SS was significant in *Lp* ($p \leq 0.05$) and *Fa* ($p \leq 0.01$), but not in *Pp*. It enhanced P uptake in *Lp* only at the highest concentration (20%) and other concentrations were similar to control. With SS treatments, except 1%, P content was higher than control in *Fa*.

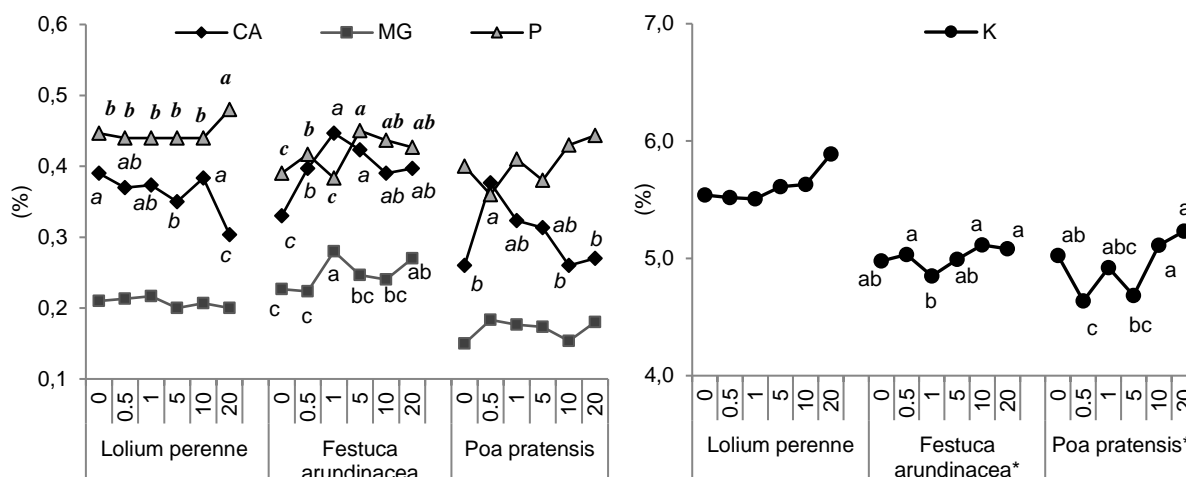


Figure 6. The main effect of smoke solution concentrations (%) on mineral content (%) of shoot in the studied turfgrasses in pot condition.*: $p \leq 0.05$ for P in *Lolium perenne*, Mg in *Festuca arundinacea* and Ca in *Poa pratensis*, K in *Fa* and *Pp* **: $p \leq 0.01$ for Ca in *Lolium perenne* and for Ca and P in *Festuca arundinacea*.

Compared with the control, it did not promote the Ca content in *Lp* and further reduced at the 5% and 20% concentrations. The stimulating effect of SS on Ca content was detected at all concentrations in *Fa* while at medium concentrations (0.5%, 1% and 5%) in *Pp*. The effect of SS on the Mg content was significant ($p \leq 0.05$) only in *Fa*, with the highest value at the 1% and 20% concentrations. In *Fa* and *Pp*, it resulted in a significant change in K content, but not statistically above control. The K content was lower than the control at the 1% doses in *Fa* and 0.5% and 5% in *Pp* (Figure 6).

4. Discussion and Conclusion

Under petri conditions, the effect of SS on the germination speed and percentage of *Lp*, *Fa* and *Pp* was significant but not positive. Different results have been achieved in previous studies depending on the species studied, the plant used in the preparation of the smoke solution and the concentration of the solution (Elsadek & Yousef, 2019). It was reported that smoke solution improved seed germination at low concentrations while it inhibited at high concentrations (Light et al., 2002; Chumpookam et al., 2012; Basaran et al., 2019; Gupta et al., 2020). The negative impact of SS in this study suggests that the concentrations examined may be high.

The results in pot experiment showed that the effect of the SS on the shoot and root length shoot and root dry weight, crude protein and mineral matters (Ca, Mg, K, P) is extremely complex and species-specific. Additionally, these differences can be related to the source of SS (wheat straw) or concentrations. Stimulating effect of SS on germination and seedling growth changed depend on the plant species used to prepare of solution (Elsadek & Yousef, 2019). Ghebrehiwot et al. (2012) reported that SS at 0.02% resulted significantly longer shoots or roots than control in six dominate species grown South African mesic grassland, but the degree of response varied from species to species. Also, Adkins & Peters (2001) found that the optimal concentration of SS were different for promoting the germination of *Avena fatua* and *Malvane glecta*. It is reported that aerosol smoke treatment at different periods (1, 2, 3 and 4 h) significantly improved root length (2.6%), shoot length (7.7%) and leaf area (63.9%) in four wheat cultivars, and this effect was observed in short time exposures (1-2 h) and varied amongst cultivars (Iqbal et al., 2017). In addition, positive effects were determined at low concentrations and toxic effects of high concentrations were reported almost in all the studies on smoke solutions. Promotive effect of SS was also demonstrated on the root length of soybean treated with 2000 ppm within 4 days (Zhong et al., 2020). It has been previously reported that SS (at 1, 5, 10, 20, 40% concentrations) differently effected shoot and root dry weight in grass pea (*Lathyrus sativus*

L.); shoot dry weight was stimulated notably at moderate concentrations (5% and 10%), but root dry weight was lower than control and also decreased in parallel to the concentrations (Basaran et al., 2019). It was also reported by Aslam et al. (2015) that SS obtained from different plants promoted shoot and root mass in wheat at very low concentrations (<0.001%).

The positive effect of SS on shoot protein content was valid even at high concentrations depends on species. Similar findings were declared by Basaran et al. (2019). Proteomic analysis on 4-day-old maize revealed that exposing 2000 ppm of SS lead significant variation in the presence of 69 proteins (Aslam et al., 2019). The increase in protein content with the SS also reported in maize seedling by Waheed et al. (2016) and attributed to the advance in chlorophyll content. The stimulating effect of SS on the mineral-nutrient status has been reported by different authors. Elsadek & Yousef (2019) who investigated the effects of SS derived from five different plants on mineral content in four crops reported that it contributed significantly to N, P, and K uptake depending on the species. Also, the nitrogen and magnesium content in the shoots were significantly improved with SS in papaya seedlings, but other minerals (P, K, Ca, Fe, Zn, Mn, and Cu) were similar to control (Chumpookam et al., 2012). Similarly, priming with SS increased the level of K, Ca, N and protein content in maize seedling while decrease Na content, and also alleviated the negative effect of salt stress (Waheed et al., 2016).

The results revealed that SS has a negative impact on germination in petri dishes but it has stimulated seedling growth in pot conditions in different degrees depending on the species or concentration.

SS have different stimulative effects on root, shoot grow and mineral uptake in each species. High concentrations did not have as much negative impact on protein and mineral content as on other properties, even caused better results. In addition, no visual or physiological problems were observed on plants in pot conditions at high concentrations. This indicates that high concentration increase mineral uptake and protein synthesis but not support vegetative growth too much. In addition, the effect of dense solutions may decrease in soil due to chemical or physical reasons. Therefore, suitable applications of smoke solution may lead to healthy, stress-resistant and vigorous seedlings even under lower fertilization. This is point out exciting economic and ecological advantages in turfgrass culture but that may be possible with new studies that are specific to species or even to characteristics.

References

- Adkins, W., & Peters, N. C. B. (2001). Smoke derived from burnt vegetation stimulates germination of arable weeds, *Seed Science Research*, 11, 213-222. doi: 10.1079/SSR200177.
- Aslam, M. M., Jamil, M., Khatoon, A., El-Hendawy, S.E., AlSuhaybani, N.A., Shakirullah, S.S., Malook, I., & Rehman, S. (2015). Does weeds-derived smoke improve plant growth of wheat, *Journal Bio-Molecular. Science*, 3, 86-96.
- Aslam, M. M., Rehman, S., Khatoon, A., Jamil, M., Yamaguchi, H., Hitachi, K., Tsuchida, K., Li, X., Sunohara, Y., Matsumoto, H., & Komatsu, S. (2019). Molecular Responses of Maize Shoot to a Plant Derived Smoke Solution, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1319. doi:10.3390/ijms20061319.
- Basaran, U., Copur Dogrusoz, M., Gulumser, E., & Mut, H. (2019). Using smoke solutions in grass pea (*Lathyrus sativus* L.) to improve germination and seedling growth and reduce toxic compound ODAP, *Turkish Journal of Agriculture Forest*, 43, 518-526. doi:10.3906/tar-1809-66.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (1998). *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*, Academic Press, San Diego. 273. doi:10.1006/anbo.2000.1238.
- Chumpookam J., Lin, H., & Shiesh, C. (2012). Effect of smoke-water on seed germination and seedling growth of Papaya (*Carica papaya* cv. *tainung* no.2), *Horticultural Science*, 47, 741-744. doi: 10.21273/HORTSCI.47.6.741.
- Clarke, S., & French, K. (2005). Germination response to heat and smoke of 22 Poaceae species from grassy woodlands, *Australian Journal of Botany* 53, 445–454. DOI: 10.1071/BT04017.
- Crosti, R., Ladd, P., Dixon, K., & Piotto, B. (2006). Post-fire germination: the effect of smoke on seeds of selected species from the central Mediterranean basin, *Forage Ecology Management*, 221, 306–312. doi:10.1016/j.foreco.2005.10.005.

- Dixon, K. W., Roche, S., & Pate, J. S. (1995). The promotive effect of smoke derived from burnt native vegetation on seed germination of Western Australian plants, *Oecologia*, 101, 185–192. doi:10.1007/BF00317282.
- Elsadek, A. M., & Yousef, E. A. A. (2019). Smoke-Water Enhances Germination and Seedling Growth of Four, *Horticultural Crops*, 8, 104; doi:10.3390/plants8040104.
- Ghebrehiwot, H. M., Kulkarni, G. M., Kirkman, K. P., & Van Staden, J. (2009). Smoke solutions and temperature influence the germination and seedling growth of South African mesic grassland species, *Rangeland Ecol Management.*, 62, 572-578. doi:10.2111/08-246.1.
- Ghebrehiwot, H. M., Kulkarni, G. M., Kirkman, K. P., & Van Staden, J. (2012). Smoke and heat: influence on seedling emergence from the germinable soil seed bank of mesic grassland in South Africa, *Plant Growth Regulation*, 66,119-127. doi: 10.1007/s10725-011-9635-5.
- Gupta, S., Hrdlicka, J., Ngoroyemoto, N., Nemahunguni, N. K., Gucky, T., Novak, O., Kulkarni, M. J., Dolezal, K. & Van Staden, J., (2020). Preparation and Standardisation of Smoke-Water for Seed Germination and Plant Growth Stimulation, *Journal Plant Growth Regulation*, 39, 338–345. doi:10.1007/s00344-019-09985-y.
- Iqbal, M., Asif, S., Ilyas, N., Fayyaz-Ul-Hassan., Raja, N. I., Hussain, M., Ejaz, M., & Saira, H. (2017). Smoke produced from plants waste material elicits growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving morphological, physiological and biochemical activity, *Biotechnology reports*, 17, 35–44. doi: 10.1016/j.btre.2017.12.001.
- Jeffrey, D. J., Holmes, P.M., & Rebelo, A.G. (1988). Effects of dry heat on seed germination in selected indigenous and alien legume species in South Africa, *South African Journal of Botanic*, 54, 28-34. doi:10.1016/S0254-6299(16)31358-8.
- Krol, P., Adamska, J., & Kępczyńska, E. (2014). Enhancement of *Festucarubra* L. germination and seedling growth by seed treatment with pathogenic *Agrobacterium rhizogenes*, *ActaPhysiol Plant*, 36, 3263–3274. doi:10.1007/s11738-014-1692-8.
- Kulkarni, M. G., Light, M. E., & Van Staden, J. (2011). Plant-derived smoke: old technology with possibilities for economic applications in agriculture and horticulture, *South African Journal of Botanic*. 77, 972–979, doi: 10.1016/j.sajb.2011.08.006.
- Light, M. E., Gardner, M. J., Jager, A. K., & Van Staden, J. (2002). Dual regulation of seed germination by smoke solutions, *Plant Growth Regulation.*, 37, 135-141. doi:10.1023/A:1020536711989.
- Read, T. R., & Bellairs, S. M. (1999). Smoke affects the Germination of Native Grasses of New South Wales, *Australian Journal of Botany*, 47, 563-576. doi: 10.1071/BT97124.
- Richardson, M. D. & Hignight, K.W. (2010). Seedling emergence of tall fescue and kentucky bluegrass, as affected by two seed coating techniques, *Hort Technology*, 20, 415 417. doi:10.21273/HORTTECH.20.2.415.
- Salehi, H., & Khosh-Khui, M. (2005). Effects of genotype and plant growth regulator on callus induction and plant regeneration in four important turfgrass genera: a comparative study, *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 41, 157-161. doi:10.1079/IVP2004614.
- Shiade, S. R. G., & Boelt, B. (2020). Seed germination and seedling growth parameters in nine tall fescue varieties under salinity stress, *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B Soil & Plant Science*, 70 (6), 485-494. doi:10.1080/09064710.2020.1779338.
- Sparg, S.G., Kulkarni, M.G., & Van Staden, J. (2006). Aerosol smoke and smoke-water stimulation of seedling vigor of a commercial maize cultivar. *Crop Science*, 46, 1336-1340. doi:10.2135/cropsci2005.07-0324.
- Van Staden, J., Brown, N. A. C., Jäger, A. K., & Johnson, T. A. (2000). Smoke as a germination cue, *Plant Species Biology*, 15, 167-178. doi:10.1046/j.1442-1984.2000.00037.x.
- Waheed, M. A., Muhammad, J., Muhammad, D. K., Shakirullah, K. S., & UrRehman, S. (2016). Effect of plant-derived smoke solutions on physiological and biochemical attributes of maize (*Zea mays* L.) under salt stress, *Pak Journal Botanica.*, 48, 1763-1774.
- Zhong, Z., Kobayashi T., Zhu, W., Imai H., Rongyi, Z., Ohno, T., Shafiq ur Rehman, Uemura M., Tian J., & Komatsu, S. (2020). Plant-derived smoke enhances plant growth through ornithine-synthesis pathway and ubiquitin-proteasome pathway in soybean, *Journal of Proteomics*. 221-103781. doi: 10.1016/j.jprot.2020.103781.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<http://dergipark.gov.tr/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Giyilebilir Minyatür Atalet ve Manyetik Sensörler (MIMU) Vasıtasıyla Alt Ekstremité Aktivitelerinin Makine Öğrenmesi Algoritmaları İle Sınıflandırılması

Beyda TAŞAR*¹

¹Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Mekatronik Bölümü, 23119, Elazığ, Türkiye

Beyda TAŞAR, ORCID No: 0000-0002-4689-8579

*Sorumlu yazar e-posta: btasar@firat.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 02.05.2021
Kabul: 05.11.2021
Online Aralık 2021
DOI: 10.53433/yyufbed.931553

Anahtar Kelimeler

MIMU,
Alt ekstremité aktivitelerinin
sınıflandırılması,
Makina öğrenmesi

Öz: Bu çalışmada, giyilebilir minyatür atalet sensör kullanılarak insan alt ekstremité aktivitelerinin sınıflandırılması çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan atalet sensörü dokuz serbestlik dereceli olup bünyesinde üç eksenli bir jiroskop, üç eksenli bir ivmeölçer ve üç eksenli bir manyetometre barındırmaktadır. Gönüllü kişinin sağ ayak bileğine giydiği takılan bir adet atalet sensör vasıtasıyla kişinin yürüme, koşma, merdiven çıkma, oturma hareketleri esnasında hareket verileri toplanmış ve kaydedilmiştir. İlk olarak kaydedilen bu üç sensör verisi sentezlenerek bacağın hareket esnasındaki kinematik yönelim açıları (yunuslama, yuvarlama, yalpa) hesaplanmıştır. Sonrasında bu yönelim açılarına ait iki adet özellik (enerji ve maksimum değer) matrisi hesaplanmıştır. Hesaplanan bu özellik matrisleri hareket sınıflandırma algoritmalarına girdi olarak verilmiştir. Çalışma kapsamında dört adet hareket sınıflandırma algoritması kullanılmıştır. Bunlar karar ağacı, k-en yakın komşu, destek vektör makinası ve rastgele orman sınıflandırma algoritmalarıdır. Tüm alt ekstremité hareket tiplerinde en yüksek sınıflandırma başarısı en yakın komşu sınıflandırıcısı ile elde edilmiş olup yürüme, koşma, oturma, merdiven çıkma hareketleri için sırası ile hareket sınıflandırma doğruluğu %83.3, %100, % 83.3 ve %91.6'dır.

Classification of Lower Extremity Activities by Machine Learning Algorithms by Wearable Miniature Inertia and Magnetic Sensors (MIMU)

Article Info

Received: 02.05.2021
Accepted: 05.11.2021
Online December 2021
DOI: 10.53433/yyufbed.931553

Keywords

MIMU,
Classification of lower
extremity activities,
Machine Learning

Abstract: In this study, a classification study of human lower extremity activities was carried out using a wearable miniature inertial sensor. The inertial sensor used in the study has nine degrees of freedom and includes a three-axis gyroscope, a three-axis accelerometer and a three-axis magnetometer. Movement data were collected and recorded during the walking, running, climbing stairs and sitting movements of the volunteer by means of an inertial sensor worn on the right ankle of the volunteer. Firstly, these three recorded sensor data were synthesized and the kinematic orientation angles (pitch, roll, yaw) of the leg during the movement were calculated. Then, two property (energy and maximum value) matrices of these orientation angles were calculated. These calculated feature matrices are given as input to motion classification algorithms. Within the scope of the study, four motion classification algorithms were used. These are decision tree, k-nearest neighbor, support vector machine and random forest classification algorithms. The highest classification success in all lower extremity motion types was obtained with the nearest neighbor classifier, and the motion classification accuracy was 83.3%, 100%, 83.3%, and 91.6% for walking, running, sitting, and climbing stairs, respectively.

1. Giriş

Dünya Sağlık Örgütü dünyada bir milyardan fazla kişinin fiziksel engelli veya hareket yeteneğini kısıtlayıcı hastalıklara sahip olduğunu rapor etmiştir. Artan yaşlı nüfusu ile birlikte toplumun azımsanamayacak kadar büyük bir bölümü alt ekstremiten motor fonksiyonlarının azalmasından şikâyetçidir (Chen ve ark. 2021; Wei ve ark. 2021; Lariviere ve ark. 2018). İnsan alt ekstremiten hareketlerinin izlenmesi ve takip edilmesine yönelik yöntemlerin geliştirilmesi rehabilitasyon alanında oldukça popüler araştırma konuları arasında yer almaktadır. Bu çalışmalar hem kişilerin fonksiyon yeteneklerinin uzmanlar tarafından doğru tespiti ve takibini sağlamak açısından hem de robotik rehabilitasyon cihazlarının tasarımına yönelik alt yapı oluşturması açısından son derece önemlidir. Kişilerin alt ekstremiten hareketlerini tespit etmek amacı ile kullanılan iki temel yaklaşım söz konusudur. Bunlar bilgisayarlı görme tabanlı yöntemler ve giyilebilir sensörler tabanlı yöntemlerdir (Barshan & Yurthan, 2020).

Bilgisayarlı görme tabanlı yöntemde bir veya birkaç kameradan alınan görüntüler üzerinden video işleme yöntemleri kullanarak insan alt ekstremiten aktivitelerinin tespiti yapılır. Bazı araştırmacılar uzunların konumlarını belirlemede işaretçi tabanlı sistemler (Aristidou & Lasenby, 2013) ve derinlik ölçüm kameralarının (LaBelle, 2011; Hondori & Khademi, 2014) kullanımı veya çoklu kamera kullanımını önermişlerdir (Moeslund & Granum, 2001; Moeslund ve ark., 2006; Wang ve ark., 2003; Aggarwal & Cai, 1999). Ancak pek çok dezavantaja sahiptirler. Kamera sistemlerinin kurulumu ve kullanımı faaliyetlerin bir ev, laboratuvar veya ofis ortamı içinde oluşturulmasını gerektirmektedir ve çalışma alanını sınırlamaktadır. Ayrıca kamera verisinin kalitesini aydınlatma, ışık, titreşim, çevre koşullarına vs. gibi faktörlerden etkilenmektedir. Bir diğer dezavantajı ise kayıt esnasında tek bir kamera kullanıldığında, 3 boyutlu sahneye ait önemli bilgilerin kayıpla görüntünün 2 boyuta indirgenmesi ile sonuçlanmaktadır. İnsan hareketlerini izlemek için kameraların kullanımı yönteminde ise insan uzuvlarına ışıklı veya reflektörlü marker (işaretçi) yerleştirilerek ilgi noktalarının konumlarındaki değişimin görüntü temelli izlenmesi, hesaplanması ve hareketin takip edilmesi prensibine dayanır. İnsan vücudunun parçaları veya çevrelerindeki nesnelere tarafından markerlerin (işaretçilerin) kapanması görünürlüğünün engellenmesi veya gölgelemesi gibi durumlar söz konusudur ve hareketin takibini zorlaştırır. Sınırsız bir 3B alanda invaziv olmayan sensörlerle hareketi doğru bir şekilde tahmin etmek büyük bir zorluktur (Chen ve ark. 2021).

Giyilebilir sensörler, bilgisayarlı görme temelli yöntemler ile karşılaştırıldığında ışık ve ses gibi çevresel faktörlerden etkilenmezler. Ayrıca görme temelli sistemlere nazaran daha yüksek yüksek hareket tanıma doğruluğuna sahiptirler. Hareket takibinde en yaygın kullanılan sensör tipi atalet sensörleridir (Wei ve ark. 2021). Atalet Sensörleri (MIMU) temel olarak üç sensör grubunun birleşimidir. Bunlar ivmeölçer, jiroskop ve manyetometreyi bünyesinde barındırır. Jiroskop, bir hassasiyet eksenini etrafında açısal oran bilgisini, ivmeölçerler doğrusal veya açısal hız oranını ve manyetometreler ise manyetik alan yoğunluğunu verirler (Hyeon-Kyu & Kim, 1999; Junker ve ark., 2008; Lementec & Bajcsy, 2004). Mevcut atalet sensörlerinin boyutu, ağırlığı ve maliyeti de mikroeletromekanik sistemlerin (MEMS) hızlı gelişimi ile önemli ölçüde azalmış ve giyilebilir sensör yapısına ulaşılmıştır. Böylece vücudun istenilen ön ve arka uzuv yüzeyine konumlandırılabilirler. (Titterton & Weston, 2004). Atalet ölçüm birimleri (IMU'lar) sensörlerinin, bir öznenin hareketini izlerken ve ölçerken küçük, hafif ve giyilebilir olacak şekilde tasarlanmaları ve özellikle düşük maliyet ve düşük güç tüketimi ile veri kaydetme yeteneğine sahip olmaları büyük avantajdır (Chen ve ark., 2021). Giyilebilir MEMS atalet sensörler ile insan hareket aktivitesini izleme, tanıma ve sınıflandırma alanında pek çok yeni çalışma mevcuttur (Roetenberg ve ark., 2009; Struzik ve ark., 2015; Yu ve ark., 2016; Zijlstra & Aminian, 2007; Mathie ve ark., 2004; Wong ve ark., 2007; Tunçel ve ark., 2009; Sabatini, 2006). Araştırmacılar biyomekanik (Sabatini, 2006; Audigie' ve ark., 2002), ergonomi (Parkka ve ark., 2006), fiziksel ya da zihinsel engellilerin, yaşlıların ve çocukların uzaktan izlenmesi (Mathie, 2004), düşmelerin tespiti ve sınıflandırılması (Hauer ve ark., 2006; Noury ve ark., 2007; Kangas ve ark., 2008) tıbbi tanı ve tedavi (Wu ve ark., 2007), ev-temelli iyileştirme yani fizik tedavi (Jovanov ve ark., 2005), spor bilimi (Ermes ve ark., 2008), bale ve diğer danslarda hareket takibinde (Aylward v& Paradiso, 2007), animasyon ve film yapımı, bilgisayar oyunları (Lee ve Ha, 2001; Shiratori ve Hodgins, 2008), profesyonel simülasyonlar tasarımı, sanal gerçeklik ve hareket dengeleme yoluyla ekipmanın stabilizasyonudur.

Yönelim hesaplaması için Jiroskopun tek başına kullanımı mümkün olsa da uzun vadedeki kayma yani drift hataları oluşmakta ve doğruluk azalmaktadır. Araştırmacılar bu problemi çözmek için

atalet sensör ve manyometre sensör verilerinin birlikte değerlendirilmesi yöntemini önermişlerdir. Ve pek çok çalışmalar yapmışlardır (Roetenberg ve ark., 2007; Bao ve Intille, 2004; Zhu ve Zhou, 2004; Yun ve ark., 2007).

Bu makalenin de konusunu oluşturan alt ekstremitte hareketlerinin tanımlanması alanındaki çalışmalar analiz edilecek olursa pek çok araştırmacı temel günlük hareketlere oturma, kalkma ve yürüme, merdiven inme ve çıkma odaklanmıştır. (Mathie ve ark., 2004; Bao & Intille, 2004; Veltink ve ark., 1996; Kiani ve ark., 1997; Foerster ve ark., 1999). Araştırmacıların çalışmalarında kullandıkları sinyal işleme ve hareket algılama teknikleri ve sensör konfigürasyonu, sensör sayısı ve serbestlik derecesi (DoF) bilgileri çalışmadan çalışmaya farklılık göstermektedir (Mathie ve ark., 2004; Karantonis ve ark., 2006; Allen ve ark., 2006). Bu konuda genel kabul görmüş bir protokol mevcut değildir (Bao & Intille, 2004). Bu alandaki en ayrıntılı çalışma 19 adet günlük vücut ve spor aktivitelerinin X-sens firmasının ürettiği MIMU sensörler vasıtası ile sınıflandırılmasına ilişkin Barshan & Altun'un gerçekleştirdiği laboratuvar çalışmalarının sonuçlarını sundukları yayın dizisidir (Kern ve ark., 2003; Altun ve ark., 2010; Barshan ve Yüksek, 2014; Altun ve Barshan, 2010). Altun ve Barshan, 2010 çalışmalarında yürüme, koşma, merdiven inme, sandalyeye oturma kalkma hareketlerini sınıflandırmaya çalışmışlardır. Gönüllü kişiler sağ veya sol ayak bileklerine bir adet 9 serbestlik dereceli IMU sensör (jiroskop, ivmeölçer ve manyometre) giymiş ve hareket verileri toplanmıştır. Bu veriler geliştirdikleri hareket tespit algoritmasında değerlendirilmiş ve kişinin hareket türünün tespiti gerçekleştirilmiştir. Xia ve ark, 2021; yalnızca tek bir atalet ölçüm birimi (IMU) sensörü ile doğru ve sağlam hareket tipi sınıflandırması için derin öğrenme yöntemi önermiş maksimum %87.16 minimum %73.80 başarı elde etmişlerdir. En spesifik hareket tanıma çalışmaları ise spor alanında gerçekleştirilmektedir (Hoppe ve ark., 2018; Serpiello ve ark., 2018). Örneğin masa tenisi (Blank ve ark, 2015), beyzbol (Punchihewa ve ark., 2019), basketbol (Ma ve ark., 2018), voleybol (Kautz ve ark, 2017) ve yüzme (Zhang ve ark, 2017) spor hareketlerinin tanınmasına yönelik çalışmaları mevcuttur. Vleugels ve ark. 2021; buz hokeyi sporundaki altı hareketi sınıflandırmak için CNN algoritması geliştirmiş ve ortalama %76 başarı ile sınıflandırmışlardır.

Bu çalışma kapsamında tek bir atalet sensörü kullanılarak gömülü sistem kartı üzerinde gerçek zamanlı olarak çalışan düşük maliyetli ve yüksek sınıflandırma doğruluğuna sahip bir alt ekstremitte hareket tespit uygulaması gerçekleştirilmiştir. Makalenin organizasyonu ise, Bölüm 2'de metod bölümünde atalet verisinin toplama protokolü, sentez algoritması ile euler açılarının hesaplanması, sınıflandırma algoritmaları ve hiper parametrelerinin seçimine ait ayrıntılar yer almaktadır. Bölüm 3'de deneysel bulgular ve grafiklere yer verilmiş, Bölüm 4'de ise elde edilen sonuçlar tablo ile özetlenip yorumlanmıştır.

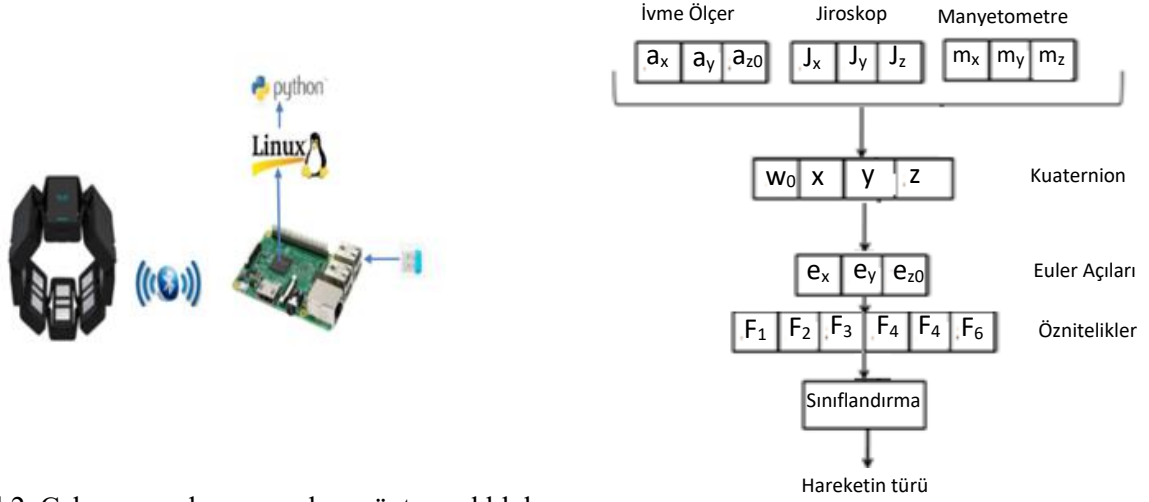
2. Materyal ve Yöntem

Alt ekstremitte aktivitelerinin sınıflandırılması amacı yapılan deneysel çalışmaya 18-25 yaş aralığında iki erkek gönüllü katılmıştır. Katılımcılar sağ ayak bileğine yakın bir noktaya Thalmic firmasının ürettiği bir adet giyilebilir IMU sensörü giymişlerdir (Şekil 1). IMU sensör üzerinde bir adet 3 eksenli ivmeölçer (a_x, a_y, a_z), jiroskop (j_x, j_y, j_z) ve manyometre (m_x, m_y, m_z) bulunmaktadır. Sensör üzerinde yer alan bluetooth verici modülü (2.402-2.480 GHz frekans aralığında) sayesinde toplanan ivmelenme, jiroskop ve manyometre verileri hareket esnasında Raspberry Pi 3 gömülü sistem kartına iletilmiştir (Şekil 2). Raspberry Pi 3 gömülü sistem kartı, dört çekirdek 64-bit 1.4GHz A53/ARMv8 işlemciye, 1GB RAM'a, 40 giriş çıkış portuna, 4 USB girişine ve harici veri depolama ünitesine sahip bir işlemci kartıdır. Ayrıca dahili bluetooth modülü modülü bulunmaktadır.



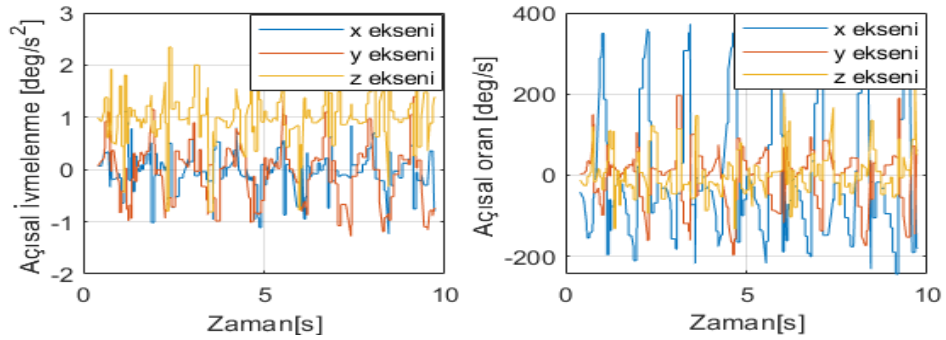
Şekil 1. Thalmic MIMU Sensör ve kullanıcı üzerindeki fotoğrafı.

Deneye katılan kişilerden sırası ile yürüme, koşma, ayakta iken sandalyeye oturma, merdiven çıkma aktivitelerini 15 tekrarlı olarak gerçekleştirmeleri istenmiş bu esnada hareket verileri kaydedilmiştir. Dört hareket için iki kişiden 15 tekrarlı olarak 20'şer saniyelik hareket veri seti toplanmıştır. Bu veriler Bluetooth protokolü ile Raspberry Pi 3gömülü sistem kartına iletilmiş ve 50 Hz'lik örnekleme frekansı ile örneklenecek kaydedilmiştir. Çalışmanın yöntemsel akış şeması Şekil 2'de yer almaktadır. Kaydedilen ivme ölçer, jiroskop ve manyetometre verileri sentezlenerek kuaternion ve euler hareket oryantasyon vektörleri hesaplanmıştır. Euler açıları kullanılarak özellik matrisi hesaplanmış ve sınıflandırma algoritmalarına girdi olarak verilmiştir. Sınıflandırma algoritmaları sonucunda da hareket türü bilgisi üretilmiştir.

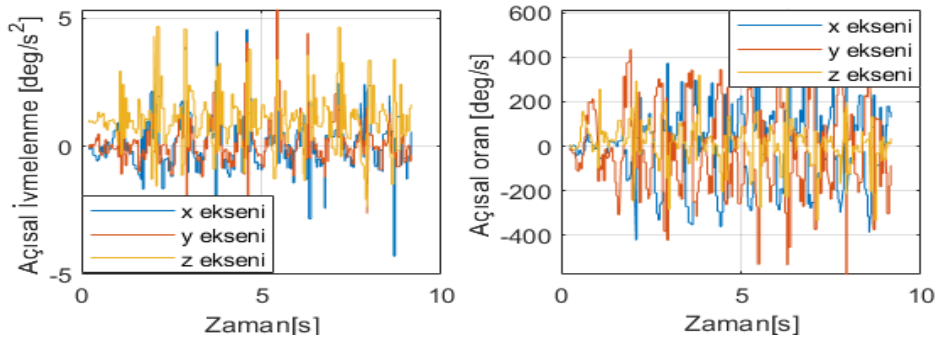


Şekil 2. Çalışmanın donanımsal ve yöntemsel blok şeması.

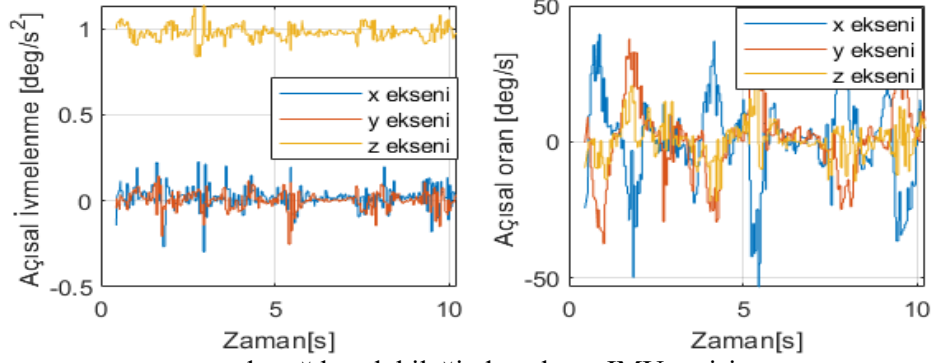
Yürüme, koşma, oturma ve merdiven çıkma aktiviteleri esnada kaydedilen örnek hareket verileri Şekil (3-6) da sunulmuştur.



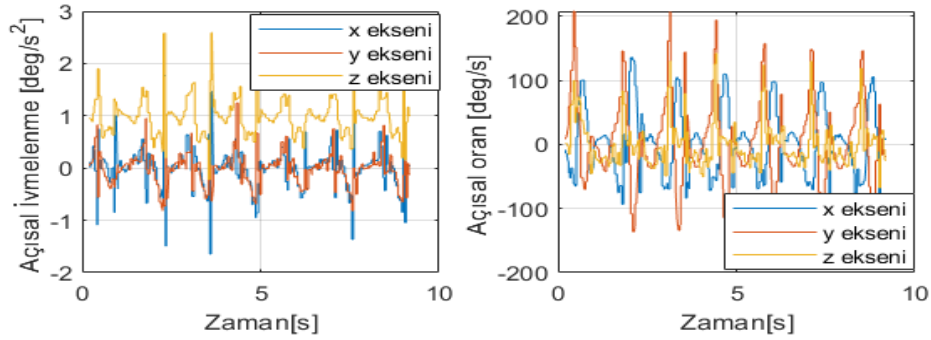
Şekil 3. Yürüme hareketi esnasında sağ bacak bileğinden alınan IMU verisi.



Şekil 4. Koşma hareketi esnasında sağ bacak bileğinden alınan IMU verisi.



Şekil 5. Sandalyeye oturma esnasında sağ bacak bileğinden alınan IMU verisi.



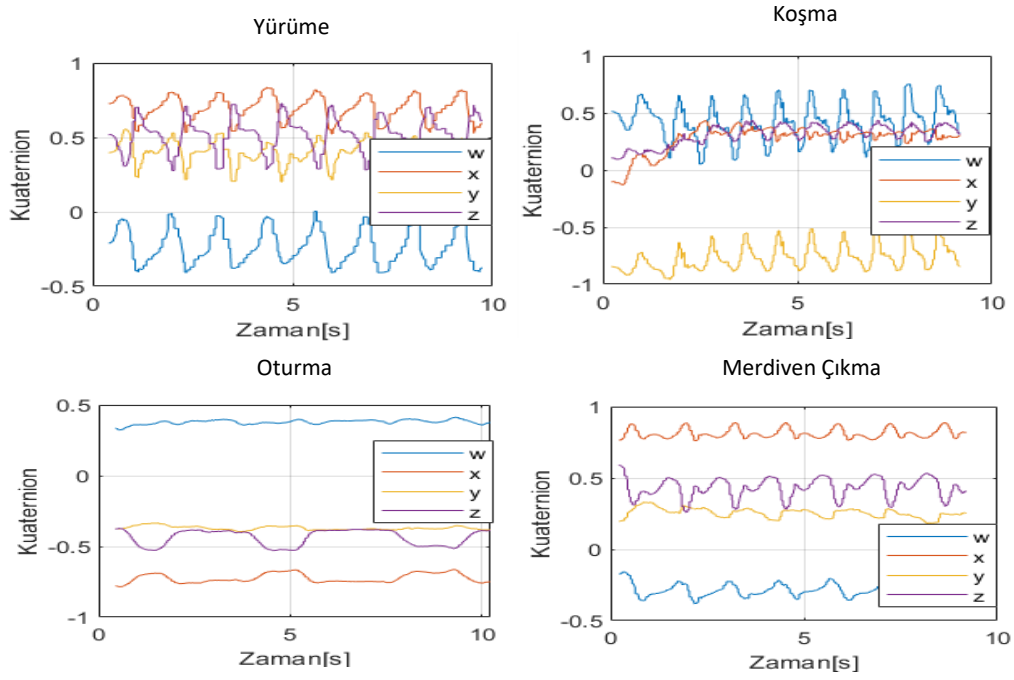
Şekil 6. Merdiven çıkma esnasında sağ bacak bileğinden alınan IMU verisi.

2.1. Atalet sensör verilerinin sentezi ve Euler hareket oryantasyon açılarının hesaplanması

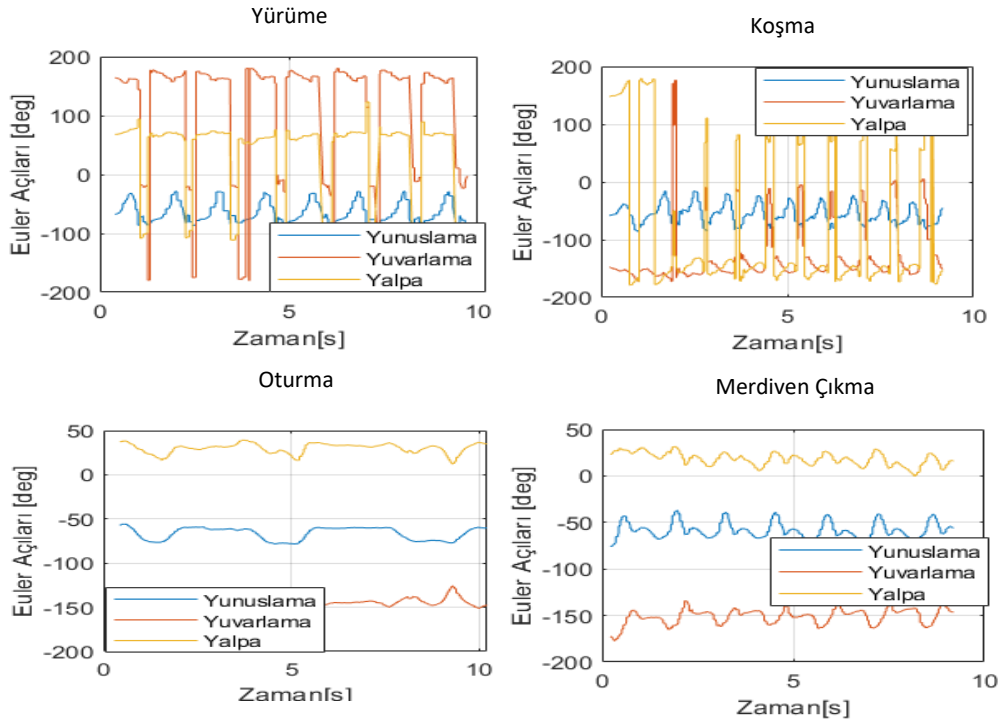
Yönelim bilgisini elde etmek için jiroskoplardan, ivmeölçerlerden ve manyetometrelerden gelen bilgiyi en uygun şekilde sentezlemek gereklidir. Sentezleme algoritmaları kavramsal olarak iki ayrı bloktan oluşmaktadır. Bunlar 1) jiroskoplardan hesaplanan yönelim değeri ve 2) ivmeölçer ve manyetometrelerden hesaplanan yönelim değeri. Oryantasyon sentez algoritmaları bu iki bağımsız bir yönelim tahminini kullanarak her iki yaklaşımdan elde edilen sonuçları kaynaştırmakta ve tek bir çözüme entegre etmektedir. Jiroskop ile tek başına yönelim bilgisini hesaplamak mümkün olsa da uzun vadede oluşan kayma yani drift hatası önemli bir problemdir. Bu nedenle manyetometre ile kalibrasyonunun yapılması yani sonuçların sentezlenmesi gereklidir. Bu sentezleme yaklaşımı hareket yönelim açılarının yani Euler açılarının (yunuslama, yuvarlama ve yalpa açıları) doğru hesaplanması için etkin bir yöntemdir. Bu çalışmada Magdwick sentez algoritması kullanılmıştır. Bu algoritma, gradyan iniş optimizasyonuna dayanır. Her üç sensörün (ivme ölçer, jireskop ve manyetometre) katkısını en uygun şekilde ağırlıklandırarak oryantasyon tahmin formülasyonuna birer parametre olarak ekler. Bu algoritma ile oryantasyon verilerinin kuarternion gösterimi hesaplanır. Kuarternionlar, dört elemanlı matematiksel bir notasyondur. Kuarternion'lar, rotasyon için kullanıldıklarında dört elemandan ilki dönüşümün miktarını kalan üçü dönüşümün çevresinde gerçekleştiği vektörü verir. Euler açıları ise 3 boyutlu uzayda nesnelerin rotasyon hareketini tanımlamak için kullanılan üç açıya (yunuslama, sapma ve yuvarlanam) verilen toplu isimdir. Bir nesnenin üç boyutlu uzayda rotasyonunu ifade etmek için bu üç açıyı birlikte kullanırız. Ancak bazı açı değerleri için gimbal yönelim halkalarında kilitlenme problemi ortaya çıkmaktadır. Bazı açılar için gerçekleşen bu kilitlenmeden başka bir rotasyona geçilmek istendiğinde bu geçiş direkt olarak ifade edilemez ve ancak başka geçişlerin toplamı olarak ifade edilebilerek gerçekleştirilir. Bu sebepten ötürü üç boyutlu uzayda rotasyon göstermek için kilitlenme/çakışma durumlarına mahal vermeyen Kuarternion sisteminin kullanımı tercih edilmektedir. Kuarternion matrisinden euler açılarına dönüşüm ise Eşitlik (1) yardımı ile çok kolay bir şekilde gerçekleştirilir.

$$\begin{bmatrix} \phi \\ \theta \\ \psi \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \arctan \frac{2(q_0q_1 + q_2q_3)}{1 - 2(q_1^2 + q_2^2)} \\ \arctan (2(q_0q_2 - q_3q_1)) \\ \arctan \frac{2(q_0q_3 + q_1q_2)}{1 - 2(q_2^2 + q_3^2)} \end{bmatrix} \quad (1)$$

Bu çalışma kapsamında atalet sensör verilerinin sentez algoritması ve euler açılarına dönüşüm hesaplamaları Raspberry pi 3 gömülü sistem kartı üzerinde python dilinde yazılmış kodlar ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 7 ve Şekil 8’de her bir harekete ilişkin hesaplanmış kuaternion matrislerinin ve euler açılarının değişim grafikleri görülmektedir.



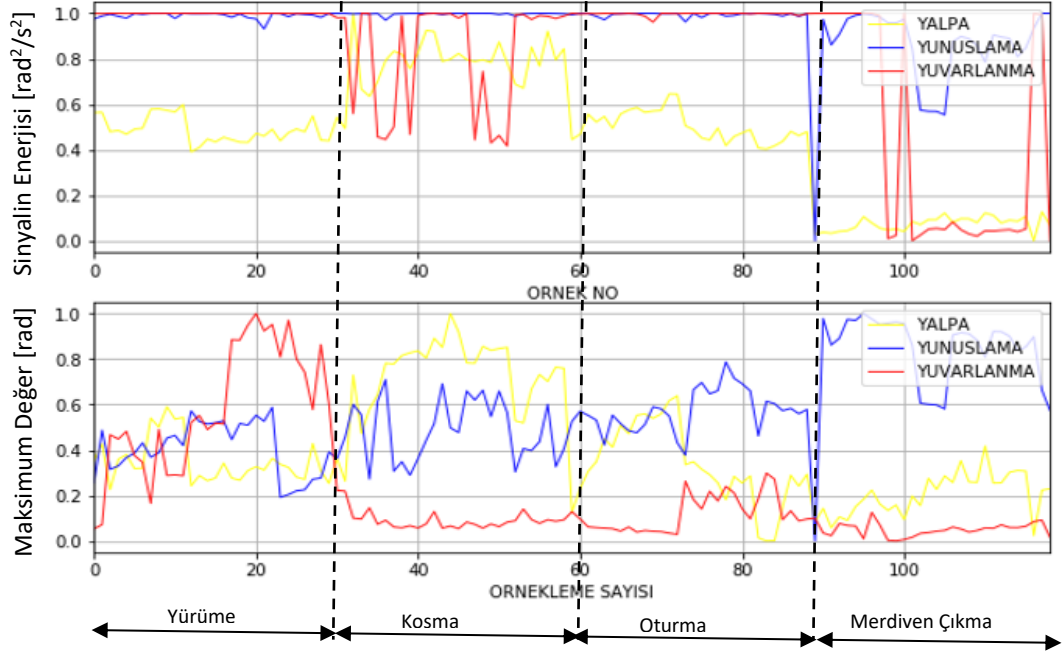
Şekil 7. Hareket türüne göre hesaplanan kuaternion matrisi.



Şekil 8. Euler açılarının hareket türüne göre değişim grafiği.

3. Bulgular

Hareket sınıflandırma algoritmasının başarısını arttırmak için ham sinyallerin kullanımı yerine sinyallerin öznitelikleri çıkarılmış ve sınıflandırma algoritmalarına bu özellikler girdi olarak verilmiştir. Özellikler kümesi olarak hesaplanan değerler yunuslama, yuvarlama, yalpa açılarının enerjileri ve maksimum değerleridir. Bu özelliklerin seçilme nedeni bir sinyalin enerji ve maksimum değerinin bir sinyali diğer sinyalden ayıran en önemli nicelikler olmasıdır. Şekil 9’da hesaplanan özniteliklerin hareket türüne göre değişim grafiği görülmektedir.



Şekil 9. Hareket türüne göre hesaplanan sinyal öznitelikleri.

Hesaplanan hareket öznitelik veri setinin sayıca %70’i makine öğrenmesi temelli sınıflandırma algoritmalarının eğitimi için kullanılmıştır. Verilerin geri kalan %30’u ise algoritmaların başarısını analiz etmek için test verisi olarak kullanılmıştır. Hareket sınıflandırması için dört tip makine öğrenme algoritması kullanılmıştır. Bunlar sırası ile en yakın komşu algoritması (KNN), karar ağacı algoritması (DT), rastgele orman algoritması (RF) ve destek vektör makinası algoritmasıdır (SVM). Kullanılan algoritmalar için seçilen hiper parametreler Çizelge 1’de yer almaktadır. Kullanılan algoritmaların test başarıları Eşitlik (2) yardımı ile hesaplanmış ve algoritmaların performansları karşılaştırmalı olarak yorumlanmıştır.

$$CACC = \frac{TP_c + TN_c}{TP_c + TN_c + FP_c + FN_c}, c = \{1, 2, \dots, NC\} \quad (2)$$

Çizelge 1. Sınıflandırma yöntemleri ve seçilen hiper parametreler

En yakın Komşu Algoritması		Karar Ağacı Algoritması		Rastgele Orman Algoritması		Destek Vektör Makinası Algoritması	
Komşu sayısı	4	Komşu sayısı	5	Orman Yöntemi	AdaBoost	Metot fonksiyonu	Lineer
Bölüntüleme Kriteri	Gini çeşitlilik endeksi	Mesafe hesap yöntemi	Öklit	Bölüntüleme Sayısı	20	Manuel metot skalası	1
		Mesafe ağırlığı	Eşit	Öğrenici sayısı	30	Çok sınıf metodu	One-vs-one

4. Tartışma ve Sonuçlar

Giyilebilir ataletsel sensör vasıtası ile alt ekstremitte hareketlerinin (yürüme, koşma, oturma, merdiven çıkma) sınıflandırması çalışmasında hareket türlerine göre % sınıflandırma başarısı Çizelge 2’de sunulmuştur. En yüksek sınıflandırma başarısının tüm sınıflandırıcılar için koşma hareketinde, en düşük başarının ise oturma hareketini sınıflandırmada gerçekleşmiş olduğu görülmektedir. Bunun nedeni kişinin ayak bileğine yakın olarak konumlandırılan IMU sensörde, merdiven çıkma ve koşma aktiviteleri esnasında x,y ve z eksenlerinin üçünde de yüksek oryantasyon değişimi oluşmakta ve ölçülmektedir. Oturma hareketi esnasında ise ayak bileğinin hareketi ve yer değişim miktarı sınırlı olup IMU sensörün algıladığı ölçülen euler açıların enerjisi ve maksimum değeri küçüktür. Bu da hareketin sınıflandırma başarısını düşürmektedir.

Çizelge 2. Hareket türüne göre sınıflandırma başarısı

Hareket Tipi	Sınıflandırma Algoritması Türü			
	En yakın Komşu Algoritması	Karar Ağacı Algoritması	Rastgele Orman Algoritması	Destek Vektör Makinası Algoritması
Yürüme	83.3	86.1	91.6	80.5
Koşma	100	95.8	100	100
Oturma	83.3	75.0	70.8	66.6
Merdiven Çıkma	91.6	87.5	91.6	75.0

Çizelge 3’de ise tüm hareket türleri için sınıflandırıcıların ortalama başarı değerleri yer almaktadır. Ortalama sınıflandırma başarısı en yüksek algoritma %89.555 ile en yakın komşu algoritması, başarısı en düşük algoritma ise %81.5 ile destek vektör makinası algoritmasıdır. Bu başarı katılımcılara giydirilen IMU sensör sayısı artırılarak (her bacağın femur ve tibia kemiklerinde birer tane) yükseltilebilir olsa da sensör sayısının artırılmasının hesaplama karmaşıklığını ve hesaplama süresini arttıracığı da unutulmamalıdır. Ayrıca çalışmanın bilgisayar ortamında değil gömülü sistem kartı üzerinde gerçek zamanlı çalıştığı analiz edilirse, sensör sayısının kabul edilebilir düzeyde olan (%80 başarı ile) minimumda tutulması hesaplama yükünün ve kod karmaşıklığının engellenmesi açısından da önemlidir.

Çizelge 3. Tüm hareket türleri için ortalama sınıflandırma başarısı

En yakın Komşu Algoritması	Karar Ağacı Algoritması	Rastgele Orman Algoritması	Destek Vektör Makinası Algoritması
89.55	82.9	88.5	81.5

Kaynakça

- Aggarwal, J. K., & Cai, Q., (1999), Human motion analysis: a Review, *Computer Vision Image Understanding*, 73(3), 428–440, doi:10.1006/cviu.1998.0744.
- Allen, F. R., Ambikairajah, E., Lovell, N. H., & Celler, B. G., (2006), Classification of a known sequence of motions and postures from accelerometry data using adapted Gaussian mixture models, *Physiological Measurement*, 27(10), 935–951, doi:10.1088/0967-3334/27/10/001.
- Altun, K., Barshan, B., & Tunçel, O., (2010), Comparative study on classifying human activities with miniature inertial and magnetic sensors", *Pattern Recognition*, 43(10), 3605-3620,doi: DOI:10.1016/j.patcog.2010.04.019.
- Altun, K., & Barshan, B., (2010, Augustos), *Human activity recognition using inertial/magnetic sensor units*, First International Workshop on Human Behavior Understanding, Istanbul, Turkey.
- Aminian, K., Robert, P., Buchser, E. E., Rutschmann, B., Hayoz, D., & Depairon, M., (1999), Physical activity monitoring based on accelerometry: validation and comparison with video observation, *Medical & Biological Engineering & Computing*, 37(1), 304–308, doi: 10.1007/BF02513304.

- Ang, W. T., Khosla, P. K., & Riviere, C. N., (2003), *Design of all-accelerometer inertial measurement unit for tremor sensing in hand-held microsurgical instrument*, IEEE International Conference on Robotics and Automation, The Grand Hotel, Taipei, Taiwan.
- Aristidou A. and Lasenby, J., (2013), “Real-time marker prediction and CoR estimation in optical motion capture,” *The Visual Computer*, 29(1), 7-26.
- Audigie', F., Pourcelot, P., Degueurce, C., Geiger, D., & Denoix, J. M., (2002), Fourier analysis of trunk displacements: a method to identify the lame limb in trotting horses, *Journal of Biomechanics*, 35(9), 1173–1182, doi: 10.1016/s0021-9290(02)00089-1.
- Aylward, R., & Paradiso, J. A., (2006, June), *Senseable: a wireless, compact, multi-user sensor system for interactive dance*, in: Proceedings of the Conference on New Interfaces for Musical Expression, Paris, France.
- Bao, L., & Intille, S. S., (2004), Activity recognition from user-annotated acceleration data, in Ferscha A, Mattern F (Eds.), *Pervasive Computing*, New York, USA, Springer-Verlag Berlin Heidelberg Press, (pp. 1-17).
- Barshan, B., & Durrant-Whyte, H. F., (1995), Inertial navigation systems for mobile robots, *IEEE Trans. Robotics Automation*, 11(3), 328–342, doi: 0.1109/70.388775.
- Barshan, B., & Durrant-Whyte, H. F., 1995, Evaluation of a solid-state gyroscope for robotics applications, *IEEE Transaction Instrumentation Measurement*, 44(1), 61–67, doi: 10.1109/19.368102.
- Barshan, B. and Yurtman, A., (2020), Classifying daily and sports activities invariantly to the positioning of wearable motion sensor units, *IEEE Internet Things J.*, 7, 4801-4815.
- Barshan, B., & Yüksek, M. C., (2014), Recognizing daily and sports activities in two open source machine learning environments using body-worn sensor units, *The Computer Journal*, 57(11), 649-1667, doi: 10.1093/comjnl/bxt075.
- Blank, P.; Hoßbach, J.; Schuldhaus, D.; Eskofier, B.M., (2015), Sensor-based stroke detection and stroke type classification in table tennis. *In Proceedings of the 2015 ACM International Symposium on Wearable Computers*, Osaka, Japan, 7–11 September 2015; pp. 93–100.
- Bussmann, J. B., Reuvekamp, P. J., Veltink, P. H., Martens, W. L., & Stam, H. J., (1998), Validity and reliability of measurements obtained with an 'activity monitor in people with and without transtibial amputation, *Physical Therapy*, 78(9), 989–998, doi: 10.1093/ptj/78.9.989 .
- Chen, Y.L. Yang, I.J Fu, LC., Lai, JS, Liang HW. and Lu L, (2021), IMU-based Estimation of Lower Limb Motion Trajectory with Graph Convolution Network, *IEEE Sensors*, DOI 10.1109/JSEN.2021.3115105, IEEE Sensors
- Dias, J., Vinzec, M., Corke, P., & Lobo, J., (2007), Special issue:2nd Workshop on Integration of Vision and Inertial Sensors , *The International Journal of Robotics Research*, 26(6), 515-517, doi: 10.1177/0278364907079903.
- Ermes, M., Parkkaa, J., Mantyjarvi, J., & Korhonen, I., (2008), Detection of daily activities and sports with wearable sensors in controlled and uncontrolled conditions, *IEEE Transactions on Information Technology*, 12(1), 20–26, doi: 10.1109/TITB.2007.899496.
- Foerster, F., Smeja, M., & Fahrenberg, J., (1999), Detection of posture and motion by accelerometry: a validation study in ambulatory monitoring, *Computers in Human Behavior*, 15(5), 571–583, doi: 10.1016/S0747-5632(99)00037-0.
- Hauer, K., Lamb, S. E., Jorstad, E. C., Todd, C., Becker, C., (2006), Systematic review of definitions and methods of measuring falls in randomized controlled fall prevention trials, *Age Ageing*, 35(1),5–10, doi: 10.1093/ageing/afi218.
- Hyeon-Kyu, L., Kim, J. H., (1999), An HMM-based threshold model approach for gesture recognition, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 21(10), 961–973, doi: 10.1109/34.799904 .
- Jovanov, E., Milenkovic, A., Otto, C., & De Groen, P. C., (2005), A wireless body area network of intelligent motion sensors for computer assisted physical rehabilitation, *Journal of Neuro Engineering and Rehabilitation*, 2(6), 1-10, doi: 10.1186/1743-0003-2-6.
- Junker, H., Amft, O., Lukowicz, P., & Troester, G., (2008), Gesture spotting with body-worn inertial sensors to detect user activities, *Pattern Recognition*, 41(6), 2010–2024, doi: 10.1016/j.patcog.2007.11.016 .

- Kangas, M., Konttila, A., Lindgren, P., Winblad, I., & Jamsa, T., (2008), Comparison of low complexity fall detection algorithms for body attached accelerometers, *Gait Posture*, 28(2), 285–291, doi: 10.1016/j.gaitpost.2008.01.003.
- Karantonis, D.M., Narayanan, M.R., Mathie, M., Lovell, N. H., & Celler, B.G., (2006), Implementation of a real-time human movement classifier using a triaxial accelerometer for ambulatory monitoring, *IEEE Transactions on Information Technology*, B10(1), 156–167, doi: 10.1109/titb.2005.856864.
- Kautz, T.; Groh, B.H.; Hannink, J.; Jensen, U.; Strubberg, H.; Eskofier, B.M. (2017), Activity recognition in beach volleyball using a Deep Convolutional Neural Network. *Data Min. Knowl. Discov.* 31, 1678–1705.
- Kern, N., Schiele, B., & Schmidt, A., (2003, November), Multi-sensor activity context detection for wearable computing, *European Symposium on Ambient Intelligence*, Veldhoven, The Netherlands, doi: 10.1007/978-3-540-39863-9_17.
- Kiani, K., Snijders, C. J., Gelsema, E. S., (1997), Computerized analysis of daily life motor activity for ambulatory monitoring, *Technology and Health Care*, 5(4), 307–318, PMID: 9429271.
- Kuritsky, M.M., & Golstein, M.S., (1990), Section on inertial navigation in Cox IJ, Wilfong GT (Eds.), *Autonomous Robot Vehicles*, New York, USA, Springer-Verlag Press, (pp.96-117).
- LaBelle, K. (2011), Evaluation of Kinect joint tracking for clinical and in-home stroke rehabilitation tools, *Undergraduate Thesis*, University of Notre Dame.
- Lariviere, S., Ward, N.S and Boudrias, MH, (2018), Disrupted functional network integrity and flexibility after stroke: Relation to motor impairments *Neuroimage-Clinical*, 19,883-891.
- Lee, J., & Ha, I., (2001), Real-time motion capture for a human body using accelerometers, *Robotica*, 19(6), 601–610, doi: doi:10.1017/S0263574701003319.
- Lementec, J.C., & Bajcsy, P., (2004, November), Recognition of arm gestures using multiple orientation sensors: gesture classification, *7th International Conference on Intelligent Transportation Systems*, Washington, DC, USA, doi: 10.1109/ITSC.2004.1399037.
- Lin, P. C., Komsuoglu, H., & Koditschek, D. E., (2006), Sensor data fusion for body state estimation in a hexapod robot with dynamical gaits, *IEEE Transactions on Robotics*, 22(5), 932–943.
- Ma, R.; Yan, D.; Peng, H.; Yang, T.; Sha, X.; Zhao, Y.; Liu, L., (2018), Basketball movements recognition using a wrist wearable inertial measurement unit. *In Proceedings of the 2018 IEEE 1st International Conference on Micro/Nano Sensors for AI, Healthcare, and Robotics (NSENS)*, Shenzhen, China, 5–7 December 2018; 73–76.
- Mackenzie, D.A., (1990), *Inventing Accuracy: A Historical Sociology of Nuclear Missile Guidance*, 1st ed. Cambridge, MA, USA, MIT Press.
- Mathie, M.J., Coster, A.C.F., Lovell, N.H., & Celler, B.G., (2004), Accelerometry: providing an integrated, practical method for long-term, ambulatory monitoring of human movement, *Physiological Measurement*, 25(2), 1–20, doi: 10.1088/0967-3334/25/2/r01.
- Mathie, M.J., Celler, B.G., Lovell, N.H., & Coster, A.C.F, (2004), Classification of basic daily movements using a triaxial accelerometer, *Medical & Biological Engineering & Computing*, 42(5), 679–687, doi: 10.1007/BF02347551.
- Moeslund, T. B., & Granum, E., (2001), A survey of computer vision-based human motion capture, *Computer Vision Image Understanding*, 81(3), 231–268, doi: 10.1006/cviu.2000.0897 .
- Moeslund, T. B., Hilton, A., & Kruger, V., (2006), A survey of advances in vision-based human motion capture and analysis, *Computer Vision Image Understanding*, 104,(2–3), 90–126, doi: 10.1016/j.cviu.2006.08.002.
- Mousavi Hondori H. and Khademi, M., (2014), A review on technical and clinical impact of microsoft kinect on physical therapy and rehabilitation, *Journal of medical engineering*, 2014.
- Najafi, B., Aminian, K., Loew, F., Blanc, Y., Robert, P., (2002), Measurement of stand-sit and sit-stand transitions using a miniature gyroscope and its application in fall risk evaluation in the elderly, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 49(8), 843–851, doi: 10.1109/TBME.2002.800763.
- Najafi, B., Aminian, K., Paraschiv-Ionescu, A., Loew, F., Bula, C.J., & Robert, P., (2003), Ambulatory system for human motion analysis using a kinematic sensor: monitoring of daily physical activity in the elderly, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 50(6), 711–723, doi: 10.1109/TBME.2003.812189.

- Nichol, J.G., Singh, S.P.N., Waldron, K.J., Palmer, L. R., & Orin, D.E., (2004), System design of a quadrupedal galloping machine, *The International Journal of Robotics Research*, 23(10–11), 1013–1027, doi: 10.1177/027836490404047391.
- Noury, N., Fleury, A., Rameau, P., Bourke, A. K., Laighin, G. O., Rialle, V., & Lundy, J. E., (2007), Fall detection principles and methods, *29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Lyon, France, doi: 10.1109/IEMBS.2007.4352627.
- Pärkkä, J., Ermes, M., Korpiä, P., Mäntyjärvi, J., Peltola, J., & Korhonen, I. (2006). Activity classification using realistic data from wearable sensors. *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*, 10(1), 119-128, doi: 10.1109/TITB.2005.856863.
- Punchihewa, N.G.; Yamako, G.; Fukao, Y.; Chosa, E., (2019), Identification of key events in baseball hitting using inertial measurement units. *J. Biomech.* 87, 157–160.
- Luinge, H. and Slycke, P., (2009), Xsens MVN: Full 6DOF human motion tracking using miniature inertial sensors, *Xsens Motion Technologies BV, Tech. Rep.*, 1(2009).
- Roetenberg D, Slycke P.J, & Veltink P.H., (2007) Ambulatory position and orientation tracking fusing magnetic and inertial sensing. *IEEE Transaction Biomed Eng.*, 54(5):883-90, doi: 10.1109/TBME.2006.889184.
- Sabatini, A.M., (2006), Inertial sensing in biomechanics: a survey of computational techniques bridging motion analysis and personal navigation, in Begg R, Palaniswami M, (Eds.) *Computational Intelligence for Movement Sciences: Neural Networks and Other Emerging Techniques*, Hershey, PA, USA, Idea Group Publishing, (pp.70–100).
- Shiratori, T., Hodgins, J. K., (2008), Accelerometer-based user interfaces for the control of a physically simulated character, *ACM Trans. Graphics (SIGGRAPH Asia 2008)*, 27(5), 1-9, doi: 10.1145/1457515.1409076.
- Struzik, A. Konieczny, G. Grzesik, K. Stawarz, M. Winiarski, S. and Rokita, A., (2015), Relationship between lower limbs kinematic variables and effectiveness of sprint during maximum velocity phase, *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, 17(4), 131-138.
- Tan, C.W., & Park, S., (2005), Design of accelerometer-based inertial navigation systems, *IEEE Transaction Instrumentation Measurement*, 54(6), 2520–2530, doi: 10.1109/TIM.2005.858129.
- Tao, Y., Hu, H., & Zhou, H., (2007), Integration of vision and inertial sensors for 3D arm motion tracking in home-based rehabilitation, *The International Journal of Robotics Research*, 26(6), 607–624, doi: 10.1177/0278364907079278.
- Titterton D. H. & Weston, J. L. (2004), Strapdown Inertial Navigation Technology, 2nd Edition, *AIAA and IEE*, Sevenage, doi:10.1049/PBRA017E.
- Tunçel, O., Altun, K., & Barshan, B., (2009), Classifying human leg motions with uniaxial piezoelectric gyroscopes, *Sensors*, 9(11), 8508–8546, doi: 10.3390/s91108508.
- Uiterwaal, M., Glerum, E.B.C., Busser, H.J., & Van Lummel, R.C., (1998), Ambulatory monitoring of physical activity in working situations, a validation study, *Journal of Medical Engineering & Technology*, 22(4), 168–172, doi: 10.3109/03091909809032535.
- Veltink, P.H., Bussmann, H.B.J., De Vries, W., Martens, W.L.J., & Van Lummel, R.C., (1996), Detection of static and dynamic activities using uniaxial accelerometers, *IEEE Transactions on Rehabilitation Engineering*, 4(4), 375–385, doi: 10.1109/86.547939.
- Vleugels, R., Herbruggen B.V, Fontaine J. and Poorter, E., (2021), Ultra-Wideband Indoor Positioning and IMU-Based Activity Recognition for Ice Hockey Analytics, *Sensors*, (21), 4650. <https://doi.org/10.3390/s21144650>
- Vie'ville, T., & Faugeras, O. D., Cooperation of the inertial and visual systems, Editors: Henderson TC, Traditional and Non-Traditional Robotic Sensors, *Computer Science*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 59, (pp.339–350), doi: 10.1007/978-3-642-75984-0_22 .
- Wang, L., Hu, W., & Tan, T. (2003). Recent developments in human motion analysis. *Pattern Recognit.*, 36, 585-601, doi: 10.1016/S0031-3203(02)00100-0.
- Wei, C., Wang H., Hu F., Chen, J., Lu, Y. and Qi, Y., (2021), Feature Selection and Reduction of Lower Limb Activity Recognition Based on Surface Electromyography and Motion, *AICS 2021 AICS 2021 Journal of Physics: Conference Series Journal of Physics: Conference Series*, 012006 ,IOP Publishing ,doi:10.1088/1742-6596/2025/1/012006

- Wong, W.Y., Wong, M.S., & Lo, K.H., (2007), Clinical applications of sensors for human posture and movement analysis: a review, *Prosthetics and Orthotics International*, 31(1), 62–75, doi: 10.1080/03093640600983949.
- Wu, W.H., Bui, A.A.T., Batalin, M.A., Liu, D., & Kaiser, W.J., (2007), Incremental diagnosis method for intelligent wearable sensor system, *IEEE Transactions on Information Technology*, B11(5), 553–562, doi: 10.1109/titb.2007.897579.
- Xia , S., Pei, L., Zhang, Z. Yu, W. and Qiu, RC.,(2021), Learning Disentangled Representation for Mixed- Reality Human Activity Recognition With a Single IMU Sensor, *IEE Transactions On Instrumentation And Measurement*, 70(2514314),
- Yu, G. Jang, Y. J. Kim, J. Kim, J. H. Kim, H. Y. Kim, K. and Panday, S. B., (2016), Potential of IMU sensors in performance analysis of professional alpine skiers, *Sensors*, 16(4), 463.
- Yun, X., Bachmann, E. R., Moore, H., & Calusdian, J., (2007, May), Self-contained position tracking of human movement using small inertial/magnetic sensor modules, *IEEE International Conference on Robotics and Automation*, Rome, Italy, doi: 10.1109/ROBOT.2007.363845 .
- Zhang, Z.; Xu, D.; Zhou, Z.; Mai, J.; He, Z.; Wang, Q., (2017), IMU-based underwater sensing system for swimming stroke classification and motion analysis. *In Proceedings of the 2017 IEEE International Conference on Cyborg and Bionic Systems (CBS)*, Beijing, China, 17–19 October 2017; pp. 268–272.
- Zhu, R., & Zhou, Z., (2004), A real-time articulated human motion tracking using tri-axis inertial/magnetic sensors package, *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 12(2), 295–302, doi: 10.1109/TNSRE.2004.827825.
- Zijlstra, W., & Aminian, K., (2007), Mobility assessment in older people: new possibilities and challenges, *European Journal of Ageing*, 4(1), 3–12, doi: 10.1007/s10433-007-0041-9.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<http://dergipark.gov.tr/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Etkili Cyclo(Phe-Phe) Dipeptidinin Konformasyon Analizi

Sefa ÇELİK ^{*1}, Sevim AKYÜZ², Ayşen ERBÖLÜKBAŞ ÖZEL¹

¹ İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, 34134, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Kültür Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, 34156, İstanbul, Türkiye

Sefa ÇELİK, ORCID No: 0000-0001-6216-1297, Sevim AKYÜZ, ORCID No: 0000-0003-3313-6927,
Ayşen ERBÖLÜKBAŞ ÖZEL, ORCID No: 0000-0002-8680-8830

*Sorumlu yazar e-posta: scelik@istanbul.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 23.05.2021
Kabul: 03.07.2021
Online Aralık 2021
DOI: 10.53433/yyufbed.941445

Anahtar Kelimeler

Cyclo(Phe-Phe),
Dipeptit,
Konformasyon Analizi,
Moleküler Modelleme

Öz: Cyclo(Phe-Phe) dipeptidi Alzheimer hastalığı tedavisinde etkili bir dipeptittir. Bu çalışmada Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin 3-Boyutlu yapısı teorik konformasyon analizi (TKA) metodu ile belirlenmiştir. Konformasyon analizinde, Ramachandran haritalarından yararlanılarak ve yan-zincir dihedral açıları (χ) yardımıyla tüm olası konformasyonlar belirlenmiştir. Bu haritalar kullanılarak programa girilen başlangıç dihedral açıları, konformasyon analizi sonunda hesaplanan dihedral açıları karşılaştırmalı olarak verilerek tabloleştirilmiştir. Hesaplama sonucunda dipeptidin en kararlı beş konformasyonunun toplam enerjileri ve toplam enerjilerine katkı sağlayan van der Waals, elektrostatik, hidrojen bağ ve torsiyon enerjileri ayrı ayrı hesaplanmıştır. Ek olarak, en minimum enerjili konformasyon Gaussian03 programı ile DFT metodu kullanılarak optimize edilmiştir. Belirlenen optimize geometri ile konformasyon analizi sonrasında elde edilen geometri karşılaştırılmıştır.

Conformational Analysis of Cyclo (Phe-Phe) Dipeptide Effective in the Treatment of Alzheimer's Disease

Article Info

Received: 23.05.2021
Accepted: 03.07.2021
Online December 2021
DOI: 10.53433/yyufbed.941445

Keywords

Cyclo(Phe-Phe),
Dipeptide,
Conformational analysis,
Molecular modeling

Abstract: Cyclo (Phe-Phe) dipeptide is an effective dipeptide in the treatment of Alzheimer's disease. In this study, the 3-dimensional structure of the Cyclo (Phe-Phe) dipeptide was determined using the theoretical conformation analysis method. All possible conformations were calculated by conformation analysis, using Ramachandran maps and with the aid of side-chain dihedral angles (χ). By using these maps, the initial dihedral angles entered into the program and the dihedral angles calculated as a result of conformational analysis are given comparatively and tabulated. As a result of the calculation, the total energies of the five most stable conformations of the dipeptide and van der Waals, electrostatic, hydrogen and torsion energies contributing to the total energies were calculated separately. In addition, the lowest energy conformation was optimized by using DFT method with Gaussian03 program. The determined optimized geometry was compared with the geometry obtained after conformational analysis.

1. Giriş

Amino asitlerden türetilen 2-5-Diketopiperazinler (DKP) ayrıca çeşitli gıda ve organizmalarda bulunan bileşiklerin bir sınıfıdır (Kelley ve ark., 2017). Lineer amino asitlerden yapısal olarak daha kararlı olmaları nedeniyle DKP içeren materyaller çok daha gelişmiş özelliklere sahip olabilmektedir (Gao, 2013). Ayrıca biyo-uyumlulukları sayesinde DKP' ler, ilaç taşıma ve diğer tıbbi amaçlar için farmakoloji endüstrisinde başarıyla kullanılmıştır (Kelley ve ark., 2017; Gao, 2013; Sun ve ark., 2017; Gellerman ve ark., 2008; Zhang & Wang, 2018). DKP' lerin çeşitli yiyeceklerin tadına katkıda bulunabilecek bir dizi kimyasal etki sergilediği bulunmuştur. Bu en küçük halka peptidler, antibakteriyel ve antifungal etkilere kadar çeşitli biyoaktiviteler sergiledikleri ve yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde kullanılma potansiyeline sahip oldukları bulunmuştur (Borthwick & Da Costa, 2017). Kaur ve ark. (2020) tarafından bazı doğrusal ve halka peptitler üzerine antienflamatuar aktivite çalışmaları yapılmıştır. Analiz sonucunda incelenen halka peptitlerin, doğrusal peptitlere göre daha yüksek antienflamatuar aktivite gösterdiği bulunmuştur. Yüksek kararlılık, düşük sentez maliyeti, düşük toksisite ve yüksek aktivite, yeni ilaçlar tasarlamak ve geliştirmek için halka peptitleri daha çekici hale getirmektedir. Mikroorganizmalara karşı yüksek özgüllük ve ökaryotik hücreler için minimum toksisiteye sahip halka antimikrobiyal peptidleri tasarlamak mümkündür. Yapılacak çalışmalar antibiyotiğe dirençli enfeksiyonlarla savaşmaya yardımcı olacak yeni ilaçların geliştirilmesine sağlayacaktır (Falanga ve ark., 2017). Doğal kaynaklardan izole edilen halka peptitler, çok çeşitli biyolojik profiller göstermektedir. Bu peptitler, özel uzaysal veya konformasyonel yapıları ve çeşitli amino asitleri içermesi nedeniyle biyokimyasal etkileşimleri incelemek için önemli ilaç adaylarıdır. Bu moleküllerin biyolojik yeterliliği, kanser, bakteriyel, mantar ve viral hastalıklar gibi çeşitli tıbbi hastalıkları kapsamaktadır (Rahman, 2019). Cyclo(phe-phe) dipeptidi üzerine yapılan bir çalışmada antelmintik aktiviteye sahip olduğu raporlanmıştır (Walchshofer ve ark., 1997).

Yapılan hayvan testlerinde, tavuk özlü bazı gıdalarda bol miktarda bulunan cyclo(phe-phe)' in depresyonun başlangıcını ortadan kaldırdığı ve böylece Alzheimer hastalığının gelişimini önlemeye katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (Tsuruoka ve ark., 2012). HT-29 and Caco-2 hücre kültürleri üzerine yapılan çalışmada Cyclo(phe-phe) dipeptidinin karsinomun büyümesini engellediği ve bu nedenle kanser tedavisi sunan bir ajan olarak kullanılabilirliği raporlanmıştır (Graz ve ark., 2000).

Cyclo(phe-phe) dipeptidinin sahip olduğu bu aktiviteleri açıklayabilmek için yapı-aktivite ilişkisi kapsamında bu dipeptidin aktivite gösterdiği en düşük enerjili konformasyonun belirlenmesi kilit öneme sahiptir. En olası konformasyonlar, aminoasitlerin ϕ , ψ ve χ dihedral açıları ile belirlenen Ramachandran haritalarından (Mills ve ark., 1988) yararlanarak moleküler mekanik yaklaşıma dayalı hesaplama yapan teorik konformasyon analizi programıyla belirlenmiştir.

Konformasyon analizi sonrasında cyclo(phe-phe) dipeptidinin olası en kararlı beş konformasyonu belirlenmiştir. Bu beş konformere ait moleküler geometri, fenilalanin aminoasitinin yan zincirine ait dihedral açıdaki değişim ve her konformerin enerjisi Maksumov vd. tarafından yazılan teorik konformasyon analizi programı kullanılarak hesaplanmıştır (Maksumov ve ark., 1983). Ayrıca toplam enerjiye katkı sağlayan van der Waals, elektrostatik ve torsiyon enerjileri hesaplanmıştır. Cyclo(Phe-Phe) dipeptidi, kuantum kimyasal ab-initio hesaplama ile optimize edilmiştir. Optimize geometri, konformasyon analizi ile bulunan geometri ile karşılaştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Teorik konformasyon analizi (TKA) hesaplamaları van der Waals etkileşimleri, elektrostatik etkileşimleri, hidrojen bağları ve tekli bağlar etrafında sınırlı dönü hareketlerini kapsamaktadır. İlk terim Scott ve Scheraga tarafından belirlenen parametrelerle Lennard-Jones 6-12 potansiyeli ile tanımlanmıştır (Popov, 1985).

Elektrostatik enerji, Scott ve Scheraga tarafından önerilen kısmi yükler ile Coulomb yasasına karşılık gelen monopol yaklaşımla hesaplanmıştır (Popov, 1985). Momany ve arkadaşları tarafından verilen iç rotasyon bariyerlerinin değeri kullanılarak torsiyon enerjisi hesaplanmıştır (Mills ve ark., 1988).

Hidrojen bağ enerjisi, Morse potansiyeline dayalı olarak hesaplanmıştır. Bağ uzunlukları ve açılar için Corey ve Pauling tarafından belirlenen değerler kullanılmıştır ve sabit tutulmuştur (Popov, 1979).

Dihedral dönü açıları IUPAC-IUB' a göre belirlenmiştir (Mills ve ark., 1988). Toplam enerji, Maksumov ve ark. (1983) tarafından yazılan program kullanılarak hesaplanmıştır. Konformasyon analizi ile χ yan zincir dihedral açılara bağlı olarak olası kararlı beş konformasyon belirlenmiştir. Belirlenen en düşük enerjili konformer Gaussian03 programı (Frisch ve ark., 2003), DFT metodu (Becke, 1993), B3LYP fonksiyoneli ve 6-31++G(d,p) baz seti kullanılarak optimize edilerek mulliken yükleri hesaplanmıştır. Ayrıca optimize geometri ile en düşük enerjili konformasyon karşılaştırılmıştır.

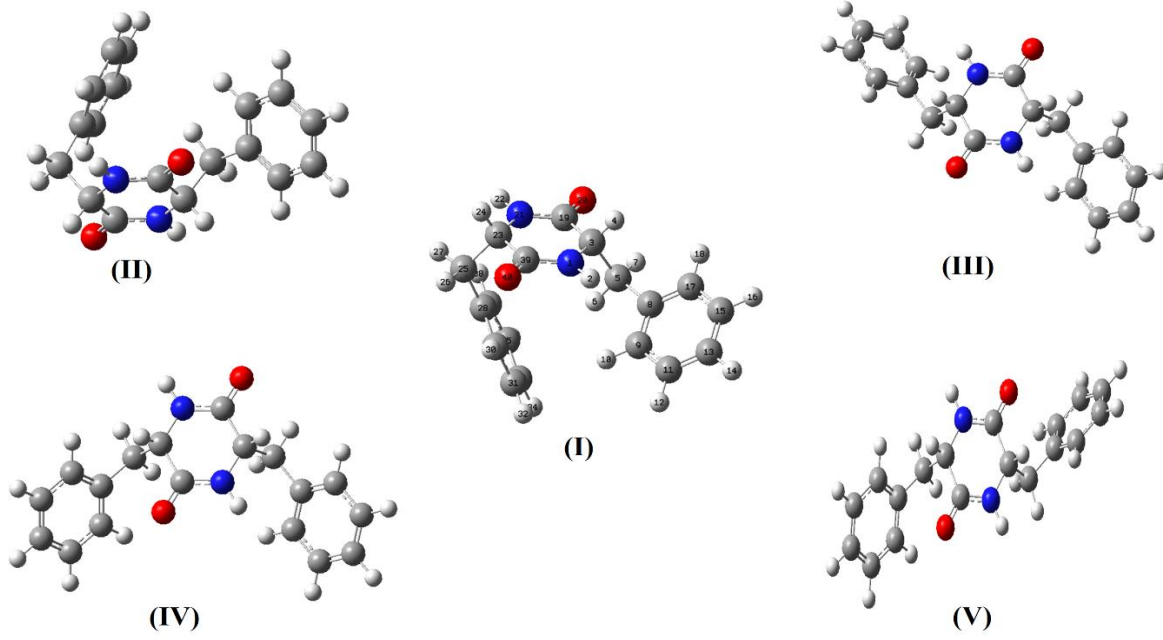
3. Bulgular

Diketopiperazinin (DKP) kristal yapısı üzerine yapılan çalışmalarda halka yapının düzlemsel olduğu belirlenmiştir (Corey, 1938; Degeilh & Marsh, 1959; Dorset, 2010). Bu nedenle çalışma da cyclo(phe-phe) dipeptidine ait halka yapının düzlemsel olduğu varsayılmıştır ve konformasyonların toplam enerjisi χ_{11} , χ_{12} , χ_{21} ve χ_{22} dihedral açılara bağlı olarak hesaplanmıştır.

Beş konformasyona ait konformasyon analizi öncesi ve sonrası dihedral açıları, toplam enerjileri ve van der Waals, elektrostatik, torsiyon enerji katkıları Çizelge 1 ve 2' de gösterilmiştir. Kararlı beş konformasyona ait moleküler geometriler Şekil 1 de verilmiştir. DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde dipeptide ait optimize geometri, χ_{11} , χ_{12} , χ_{21} ve χ_{22} dihedral açıların gösterimi ve yük dağılımları Şekil 2 ve Şekil 3' de gösterilmiştir. Konformasyon analizi ve optimizasyon sonrası yan zincir dihedral açılarındaki değişim Çizelge 3' de verilmiştir.

Cyclo(phe-phe) dipeptidinin konformasyon analizi sonucunda belirlenen en kararlı beş konformasyona ait toplam enerjiler sırasıyla -6.56,-4.77,-3.99,-2.45 ve -0.90 kcal/mol hesaplanmıştır. Bu beş konformasyonda toplam enerjiye olan en yüksek katkının van der Waals enerjisinden olduğu bulunmuştur. Literatürde peptitler üzerine yapılan çalışmalarla bu sonuç son derece uyumludur (Demir & Godjaev, 2002; Alieva ve ark., 2006; Çelik & Kecel-Gunduz, 2017). En kararlı konformasyona (I) van der Waals enerjisinden olan katkı -6.49 kcal/mol' dür. TKA ve DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesi kullanılarak belirlenen konformasyonlar incelendiğinde (Şekil 4), fenilalanin amino asitine ait halka kısımlarının birbirlerine yaklaştığı ve katlanmış formda olduğu belirlenmiştir. Çizelge 3' de TKA ve DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde hesaplanan yanzincire ait dihedral açı değerleri karşılaştırıldığında birbirlerine oldukça yakın sonuçlar hesaplandığı bulunmuştur. Ancak TKA analizinde düzlemsel olarak kabul edilen DKP halkasının, DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesi hesabı sonucunda DKP halkası üzerindeki $w_1(N1-C39)$, $w_2(C19-N21)$, $\phi_1(N1-C3)$, $\phi_2(N21-C23)$, $\Psi_1(C3-C19)$ ve $\Psi_2(C23-C39)$ dihedral açıların sırasıyla -6.9° , -5.3° , 13.8° , 12.3° , -7.3° ve -5.9° hesaplanarak bu halkanın gaz fazında yapılan hesaplamalarda tamamen düzlemsel olmadığı ancak düzlemsel yakın olduğu bulunmuştur (Şekil 5). Cyclo(His-Phe) dipeptidinin optimize geometrisi üzerine DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde yapılan hesaplamalarda bu dihedral açıları sırasıyla -4.31° , -9.86° , 12.40° , 7.05° , -4.82° ve -0.11° hesaplanmıştır (Çelik ve ark., 2012). c[L-Pip-Gly] üzerine yapılan optimize geometri hesabında bu açıları sırasıyla -3.25° , -1.1° , 5° , 7.1° , -2.8° ve -4.7° hesaplanmıştır (Budesinsky ve ark., 2017).

Sonuçlar, daha kısa zamanda ve daha az kapsamlı bilgisayar olanakları ile hesap yapılmasına olanak sağladığı için TKA' nin bir ilk yaklaşıklık olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Ayrıca TKA sonuçları üzerinden yapılan DFT hesaplamalarında, en uygun ilk giriş verisi kullanıldığı için daha kısa zamanda sonuç alınabilmektedir.



Şekil 1. Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin konformasyon analizi sonrasında elde edilen en düşük enerjili beş konformasyon.

Çizelge 1. Cyclo(Phe-Phe) en düşük enerjili beş konformasyonuna ait χ_{11} , χ_{12} , χ_{21} ve χ_{22} dihedral açıları (°)

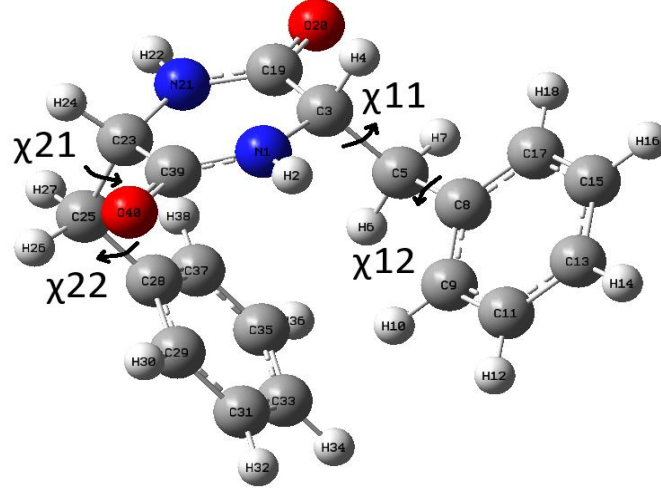
Konformer	$E_{\text{bağlı}}$ (kcal/mol)	E_{toplam} (kcal/mol)		χ_{11}	χ_{12}	χ_{21}	χ_{22}
(I)	0	-6.56	GİRİŞ	-60.0	90.0	60.0	90.0
			ÇIKIŞ	-53.6	97.5	62.3	91.9
(II)	1.79	-4.77	GİRİŞ	180.0	90.0	60.0	90.0
			ÇIKIŞ	195.8	65.5	61.6	93.2
(III)	2.57	-3.99	GİRİŞ	-60.0	90.0	-60.0	90.0
			ÇIKIŞ	-57.0	99.4	-57.0	99.4
(IV)	4.11	-2.45	GİRİŞ	-60.0	90.0	180.0	90.0
			ÇIKIŞ	-56.5	96.2	197.6	65.5
(V)	5.66	-0.90	GİRİŞ	180.0	90.0	180.0	90.0
			ÇIKIŞ	198.0	63.9	198.0	63.9

Çizelge 2. Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin konformerlerine ait toplam enerji ve van der Walls, elektrostatik, torsiyon enerji katkıları (kcal/mol)

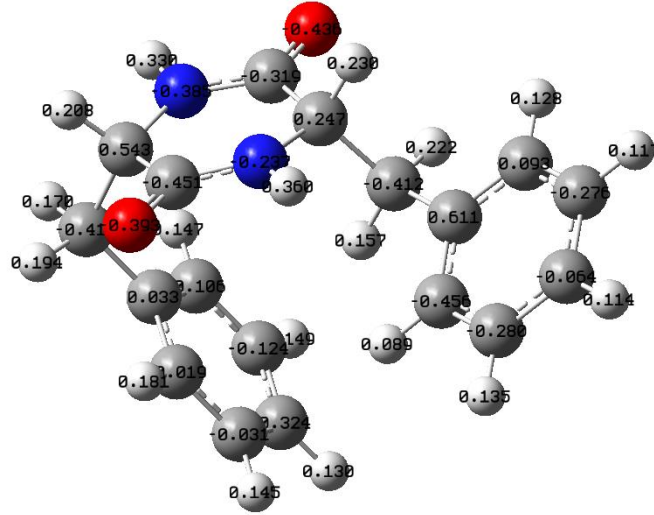
Konformer	$E_{\text{bağlı}}$	E_{toplam}	$E_{\text{van der Walls}}$	$E_{\text{elektrostatik}}$	E_{torsiyon}
(I)	0	-6.56	-6.49	-0.16	0.09
(II)	1.79	-4.77	-5.13	-0.13	0.49
(III)	2.57	-3.99	-3.87	-0.16	0.04
(IV)	4.11	-2.45	-2.94	-0.13	0.62
(V)	5.66	-0.90	-2.03	-0.10	1.24

Çizelge 3. Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin χ_{11} , χ_{12} , χ_{21} ve χ_{22} dihedral açılarındaki ($^{\circ}$) değişim

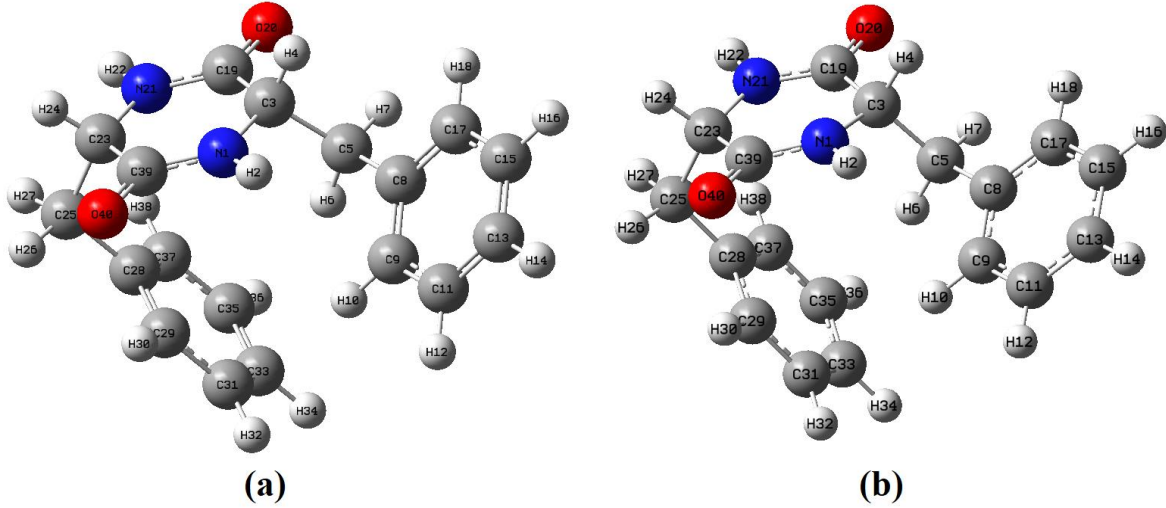
Cyclo(Phe-Phe)	χ_{11}	χ_{12}	χ_{21}	χ_{22}
TKA	-53.6	97.5	62.3	91.9
DFT-B3LYP/6-31++G(d,p)	-62.1	98.5	66.0	91.3



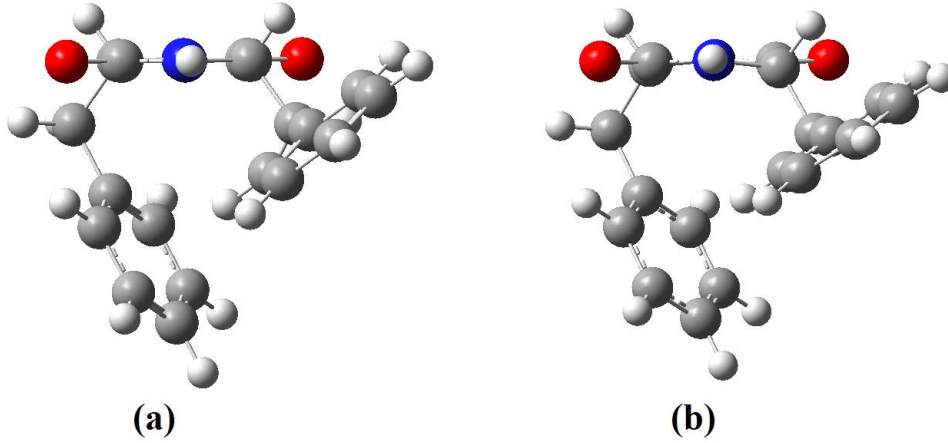
Şekil 2. Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde hesaplanan optimize geometrisi.



Şekil 3. DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde belirlenen optimize geometriye ait yük dağılımı.



Şekil 4. Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin TKA (a) ve DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesi (b) kullanılarak hesaplanan moleküler geometrisi.



Şekil 5. Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin TKA (a) ve DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesi (b) kullanılarak hesaplanan moleküler geometrisinde DKP halkasındaki değişim.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin konformasyon analizi ile bulunan en kararlı konformasyonu DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde incelenmiştir. Şekil 4 ve Şekil 5' de TKA ve DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde belirlenen moleküler geometriler karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Optimizasyon sonucunda DKP halkasının düzlemsel yakın olduğu bulunmuştur. Cyclo(Gly-Gly) dipeptidi üzerine yapılan deneysel ve teorik çalışmalarda bu dipeptidin DKP halkasının da düzlemsel/düzlemsel yakın olduğu bulunmuştur (Mendam ve ark., 2009; Cheam & Krimm, 1984). Bu çalışmada Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinde fenilalanin amino asitine ait halka kısımlarının birbirlerine yaklaştığı ve bu dipeptidin katlanmış formda olduğu saptanmıştır. DFT/B3LYP/6-31++G(d,p) teori seviyesinde yan zincire ait dihedral açılar sırasıyla -62.1° , 98.5° , 66.0° , 91.3° hesaplanmıştır. Cyclo(Trp-Trp) dipeptidi üzerine aynı teori seviyesinde yapılan hesaplamalarda yan zincire ait dihedral açılar -65.9° , -90.3° , 64.2° ve -86.4° hesaplanmıştır (Çelik ve ark., 2021). Cyclo(Phe-Phe) dipeptidinin en kararlı konformasyonlarının belirlenmesi, ilaç aktivitesinin anlaşılabilmesi bakımından önemlidir. Halka peptitlerin sentez sürecinde de bu belirlenen konformasyonlardan yararlanılabilir.

Teşekkür

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin ÖNAP-2423 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Kaynakça

- Alieva, I. N., Mustafayeva, N. N., & Gojayev, N. M. (2006). Conformational analysis of the N-terminal sequence Met1–Val60 of the tyrosine hydroxylase. *Journal of Molecular Structure*, 785(1-3), 76-84. doi: 10.1016/j.molstruc.2005.09.026
- Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry, III. The role of exact exchange. *The Journal of chemical Physics*, 98(7), 5648–5652. doi: 10.1063/1.464913
- Borthwick, A. D., & Da Costa, N. C. (2017). 2, 5-diketopiperazines in food and beverages: Taste and bioactivity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(4), 718-742. doi: 10.1080/10408398.2014.911142
- Budesinsky, M., Cisarova, I., Borremans, F., Martins, J. C., & Pauwels, E. (2017). Solid-state structure of cyclic dipeptides: an X-ray and computational study of cis-and trans-diketopiperazines of N-methyl-phenylalanine with the thia-pipecolic acids and thia-prolines. *Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials*, 73(6), 1179-1193. doi: 10.1107/S2052520617014731
- Celik, S., Ozel, A.E., Kecel, S., & Akyuz, S. (2012). Structural and IR and Raman spectral analysis of cyclo(His-Phe) dipeptide. *Vibrational Spectroscopy*, 61, 54-65. doi:10.1016/j.vibspec.2012.01.014
- Celik, S., & Kecel-Gunduz, S. (2017). Conformational Analysis of Cyclo (Tyr-Cys) and Cyclo (Phe-Cys) Dipeptides. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2), 306-310.
- Cheam, T. C., & Krimm, S. (1984). Vibrational analysis of crystalline diketopiperazine—I. Raman and ir spectra. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 40(6), 481-501.
- Corey, R. B. (1938). The crystal structure of diketopiperazine. *Journal of the American Chemical Society*, 60(7), 1598-1604. doi: 10.1021/ja01274a023
- Çelik, S., Akyüz, S., & Özel, A.E. (2021). Antimikrobiyal ve Antikanser Aktiviteye Sahip Cyclo (Trp-Trp) Dipeptidinin 3-Boyutlu Moleküler Yapısı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 80-87. doi: 10.53433/yyufbed.908710
- Degeilh, R., & Marsh, R. E. (1959). A refinement of the crystal structure of diketopiperazine (2, 5-piperazinedione). *Acta Crystallographica*, 12(12), 1007-1014. doi: 10.1107/S0365110X59002845
- Demir, L., & Godjaev, N. M. (2002). Conformational Analysis of Pol-Rfamide II (Glu¹-Trp²-Leu³-Lys⁴-Gly⁵-Arg⁶-Phe⁷-NH₂) Heptapeptide. *Turkish Journal of Chemistry*, 26(6), 825-832.
- Dorset, D. L. (2010). Direct methods and refinement in electron and X-ray crystallography—diketopiperazine revisited. *Zeitschrift für Kristallographie International journal for structural, physical and chemical aspects of crystalline materials*, 225(2-3), 86-93. doi: 10.1524/zkri.2010.1198
- Falanga, A., Nigro, E., De Biasi, M. G., Daniele, A., Morelli, G., Galdiero, S., & Scudiero, O. (2017). Cyclic peptides as novel therapeutic microbicides: Engineering of human defensin mimetics. *Molecules*, 22(7), 1217. doi: 10.3390/molecules22071217
- Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Montgomery Jr., J. A., Vreven, T., Kudin, K. N., Burant, J. C., Millam, J. M., Iyengar, S. S., Tomasi, J., Barone, V., Mennucci, B., Cossi, M., Scalmani, G., Rega, N., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Klene, M., Li, X., Knox, J.E., Hratchian, H.P., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Ayala, P.Y., Morokuma, K., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Zakrzewski, V.G., Dapprich, S., Daniels, A. D., Strain, M. C., Farkas, O.,

- Malick, D. K., Rabuck, A. D., Raghavachari, K., Foresman, J. B., Ortiz, J. V., Cui, Q., Baboul, A. G., Clifford, S., Cioslowski, J., Stefanov, B. B., Liu, G., Liashenko, A., Piskorz, P., Komaromi, I., Martin, R.L., Fox, D. J., Keith, T., Al-Laham, M. A., Peng, C. Y., Nanayakkara, A., Challacombe, M., Gill, P. M. W., Johnson, B., Chen, W., Wong, M. W., Gonzalez, C., & Pople, J. A. (2004). Gaussian 03, Revision C. 02, Gaussian, Inc., Wallingford CT.
- Gao JP. 2013 Urethanes and ureas and processes. WO Patent no. 2013142969.
- Gellerman, G., Hazan, E., Brider, T., Traube, T., Albeck, A., & Shatzmiller, S. (2008). Facile synthesis of orthogonally protected optically pure keto- and diketopiperazine building blocks for combinatorial chemistry. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 14(2), 183-192. doi: 10.1007/s10989-008-9129-0
- Graz, C. J. M., Grant, G. D., Brauns, S. C., Hunt, A., Jamie, H., & Milne, P. J. (2000). Cyclic dipeptides in the induction of maturation for cancer therapy. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 52(1), 75-82. doi: 10.1211/0022357001773535
- Kaur, K., Kaur, S., & Kapoor, V. K. (2020). Chemical synthesis and anti-inflammatory investigations of some cyclic peptide derivatives. *Plant Archives*, 20(2), 3531-3540.
- Kelley, E. W., Norman, S. G., & Scheerer, J. R. (2017). Synthesis of monoalkylidene diketopiperazines and application to the synthesis of baretin. *Organic & biomolecular chemistry*, 15(40), 8634-8640. doi: 10.1039/C7OB02297B
- Maksumov, I. S., Ismailova, L. I., & Godjaev, N. M. (1983). The program for semiempirical calculation of conformations of the molecular complexes. *J. Struc. Chem.(in Russian)*, 24, 147.
- Mendham, A. P., Dines, T. J., Snowden, M. J., Chowdhry, B. Z., & Withnall, R. (2009). Vibrational spectroscopy and DFT calculations of di-amino acid cyclic peptides. Part I: cyclo (Gly-Gly), cyclo (L-Ala-L-Ala) and cyclo (L-Ala-Gly) in the solid state and in aqueous solution. *Journal of Raman Spectroscopy*, 40(11), 1478-1497.
- Mills, I., Cvitas, T., Homann, K., Kallay, N., & Kuchitsu, K. (1988). IUPAC-IUB Quantity. Units and Symbols in Physical Chemistry. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications.
- Popov, E. M. (1985). An approach to the problem of the structuro-functional organization of natural peptides. *Molekuliarnaia biologiya*, 19(4), 1107-1138.
- Popov, E. M. (1979). Quantitative approach to conformations of proteins. *International Journal of Quantum Chemistry*, 16(4), 707-737. doi:10.1002/qua.560160403
- Rahman, A. (2019). Studies in Natural Products Chemistry. Amsterdam: Elsevier.
- Sun, M., Chen, X., Li, W., Lu, C., & Shen, Y. (2017). New diketopiperazine derivatives with cytotoxicity from *Nocardiosis* sp. YIM M13066. *The Journal of antibiotics*, 70(6), 795-797. doi: 10.1038/ja.2017.46
- Tsuruoka, N., Beppu, Y., Koda, H., Doe, N., Watanabe, H., & Abe, K. (2012). A DKP cyclo (L-Phe-L-Phe) found in chicken essence is a dual inhibitor of the serotonin transporter and acetylcholinesterase. *PLoS One*, 7(11), e50824. doi: 10.1371/journal.pone.0050824
- Walchshofer, N., Sarciron, M. E., Garnier, F., Delatour, P., Petavy, A. F., & Paris, J. (1997). Anthelmintic activity of 3, 6-dibenzyl-2, 5-dioxopiperazine, cyclo (L-Phe-L-Phe). *Amino Acids*, 12(1), 41-47. doi: 10.1007/BF01373425
- Zhang, D., & Wang, W. (2018). A facile synthesis of cysteine-based diketopiperazine from thiol-protected precursor. *Royal Society open science*, 5(6), 180272. doi: 10.1098/rsos.180272



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<http://dergipark.gov.tr/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Yeşil Nohut Kabuğu Atıklarının Sulu Çözeltiden Pb (II) Biyosorpsiyonunda Değerlendirilmesi

Kübra KORKMAZ^{*1}, Hasan SAYĞILI²

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 65080, Van, Türkiye

²Batman Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Kimya ve Kimyasal İşlemler Teknolojileri Bölümü, 72100, Batman, Türkiye

Kübra KORKMAZ, ORCID No: 0000-0001-9338-7205, Hasan SAYĞILI, ORCID No:0000-0003-4900-8268

*Sorumlu yazar e-posta: kubrakorkmaz@outlook.com

Makale Bilgileri

Geliş: 01.07.2021
Kabul: 04.11.2021
Online Aralık 2021
DOI: 10.53433/yyufbed.960478

Anahtar Kelimeler

Yeşil nohut kabuğu,
Biyosorpsiyon,
Kurşun,
İzoterm,
Kinetik

Öz: Bu çalışmada, toksik bir ağır metal olarak bilinen kurşun Pb(II) iyonunun, yeni bir alternatif olarak yeşil nohut kabuğu (YNK) kullanılarak sucul ortamdan giderimi araştırılmıştır. Biyosorpsiyon çalışmaları kesikli yöntemle yürütülmüştür. Optimum Pb(II) giderimi için gerekli koşullar belirlenerek sıcaklığa bağlı kinetik ve izoterm çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalar sonucunda elde edilen kinetik veriler, yalancı birinci, yalancı ikinci ve parçacık içi difüzyon modellerinde değerlendirilerek kinetik model tespiti yapılmıştır. İzoterm verileri ise Langmuir ve Freundlich izoterm modellerinde değerlendirilmiştir. Pb(II) iyonunun YNK ile biyosorpsiyonunda, optimum koşullar biyosorbent dozu 0,1 g ve sıcaklık 40 °C olarak saptanmıştır. Çalışmada, maksimum biyosorpsiyon kapasitesi Pb(II) iyonu için 30,8 mg/g olarak bulunmuştur. Ayrıca izoterm verilerinin Langmuir izoterm modeline uygun olduğu ($R^2 = 0,99$) bulunmuş olup, yalancı birinci derece reaksiyon modelinin ise kinetik açıdan en uygun model olduğu ($R^2 = 0,99$) tespit edilmiştir. Çalışma, YNK atığının belli bir biyosorplama kapasitesinin olduğunu ve bu atığın düşük maliyetli çevreci bir alternatif olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Evaluation of Green Chickpea Shell Waste in Pb (II) Biosorption from Aqueous Solution

Article Info

Received: 01.07.2021
Accepted: 04.11.2021
Online December 2021
DOI: 10.53433/yyufbed.960478

Keywords

Green chickpea shell,
Biosorption,
Lead,
Isotherm,
Kinetics

Abstract: In this study, removal of lead Pb(II) ion known as a toxic heavy metal from the aqueous media using green chickpea shell (YNK) as a new alternative has been investigated. Biosorption studies were carried out according to the batch method. The necessary conditions for optimum Pb(II) removal have been determined and temperature dependent kinetic and isotherm studies have been carried out. The kinetic data obtained as a result of the studies have been evaluated in pseudo-first, pseudo-second and intra-particle diffusion models to determine kinetic model. Isotherm data have been evaluated in Langmuir and Freundlich isotherm models. Optimum conditions have been determined for Pb(II) ion biosorption with YNK as 0.1 g biosorbent dose and at 40 °C temperature. In the study, the maximum biosorption capacity has been found to be 30.8 mg/g for Pb(II) ion. In addition, the isotherm data have been found to be favorable to Langmuir isotherm model ($R^2 = 0.99$) and the most appropriate kinetic model has been determined to be the pseudo first order reaction model ($R^2 = 0.99$). The study showed that YNK waste, has a certain biosorption capacity and this waste can be used as a low-cost and environmentally friendly alternative.

1. Giriş

Birçok endüstride (gıda endüstrisi, tekstil endüstrisi vb.) hammaddelerin işlenmesi sırasında atıklar oluşmaktadır. Oluşan atıkların giderilmesi hem ciddi çevre sorunlarına hem de işletmeler için maddi kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle atıkların yönetimi ve değerlendirilmesi yönünde yapılan çalışmalar günümüzde hız kazanmıştır (Şener, 2008; Yağcı, 2006).

Alıcı ortama boşaltılan atıkların kimyasal ve fiziksel nitelikleri kirliliğin türüne dair bir fikir verse de boyutu açısından öngörülebilir sonuçlar doğurmayabilir. Dolayısıyla atık suların, kaynaklandığı işletmedeki sistemlerde kontrol edilmesi ve sürdürülebilir atık su yönetiminin sağlanması gerekmektedir.

Atık sularla sıklıkla rastlanan ağır metaller ciddi kirlilik unsuru olmaya devam etmektedir. Yaygın bir örnek olarak kurşun ise hava, su, toprak, solunum ve besinler yoluyla biyolojik sistemlere giren zehirleyici özelliklere sahip ağır bir metaldir. Birçok ortamda istenmeyen konsantrasyonlarda kurşun kirliliğine rastlanmaktadır. Akü ve pil fabrikaları, kurşun maden ve metal endüstrileri, petrol rafinerileri, patlayıcı sanayi atık suları bunlardan sadece birkaçına örnek olarak verilebilir.

İnorganik kurşun bileşikler solunum ve sindirim gibi yollarla insan vücuduna girer. Kan dolaşımına giren kurşunun insan sağlığı üzerine pek çok zararı olduğu bilinmekle beraber anemi, yüksek tansiyon, gelişim çağındaki çocuklarda zihinsel fonksiyon bozuklukları, immünolojik bozukluklar, böbrek fonksiyon bozuklukları ve üreme fonksiyon bozuklukları en dikkat çekici olanlarıdır (Jaishankar ve ark., 2014).

Atık sularla ağır metal gideriminde kimyasal çöktürme ve filtrasyon, kimyasal oksidasyon ve indirgeme, iyon değişim filtrasyonu, elektrokimyasal prosesler, ters osmoz, membran teknolojileri ve buharlaştırma, adsorpsiyon gibi geleneksel yöntemler yer almaktadır ve bu yöntemlerin bazı avantaj ve dezavantajları çizelge 1'de verilmiştir (Ahluwalia ve Goyal, 2007; Hanif ve ark., 2007).

Çizelge 1. Atık sularla geleneksel metal giderme yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları

Metot	Avantaj	Dezavantaj
Kimyasal çöktürme ve filtrasyon	Basit ve ucuz bir teknik olması	Yüksek konsantrasyonlarda güçlüklerle ayrılma, atık çamur oluşumu
Kimyasal oksidasyon ve indirgeme	İnaktivasyon	Ortam hassasiyeti
İyon değişim filtrasyonu	Etkili arıtım ve atık metalin geri kazanımı	Kullanılan reçinelerin kontaminasyon hassasiyeti, pH duyarlılığı ve maliyet
Elektrokimyasal prosesler	Atık metalin geri kazanımı ve geri dönüşüm	Etkinliğinin yüksek konsantrasyonlarda olması ve maliyet
Ters osmoz	Atık metalin geri kazanımı ve geri dönüşüm	Yüksek basınç, maliyet
Buharlaştırma	Atık metalin geri dönüşümü	Yüksek enerji ihtiyacı, maliyet ve atık çamur oluşumu
Adsorpsiyon	Etkili arıtım, ekonomik	Performans arttırmak için fazla miktarda aktif karbon kullanma gerekliliği

Çizelge 1'de görüldüğü gibi bu tekniklerin kıyaslandığında bazı avantaj ve dezavantajları olmakla beraber son yıllarda ağır metal iyonlarının sulu çözümlerden adsorpsiyon metoduyla uzaklaştırılmasında tarımsal atıkların kullanımı yönündeki çalışmalar artmıştır. Biyosorpsiyon olarak adlandırılan bu yöntemin geleneksel arıtma prosesleri ile kıyaslandığında temini kolay ve uygun maliyetli olan biyokütlelerin kullanımına olanak sağlaması, yüksek verim, kimyasal madde gereksiniminin az olması, metallerin geri kazanım olasılığı ile günümüzde ilgi gören bir arıtma prosesi haline gelmiştir.

Biyosorpsiyon, sulu ortamdan toksik metal iyonlarının uzaklaştırılmasında biyolojik kökenli kütlelerin kullanıldığı bir süreçtir ve biyosorplanan maddenin kullanılan biyokütle hücreleri yüzeyine taşınması ve buraya tutunması esasına dayanır. Süreçte iyonik güç, pH, sıcaklık, metal iyonlarının kimyasal özellikleri, metal iyon konsantrasyonu, temas süresi, biyosorbentin hücre bileşim ve özellikleri gibi pek çok faktör rol oynamaktadır.

Esas olarak polisakkaritler, proteinler ve lipitlerden meydana gelen bu biyosorbent hücrelerinin metal iyonlarını bağlayıcı özelliği hücre duvarlarındaki karboksil, hidroksil, fosfat ve amino asit gibi fonksiyonel gruplardan kaynaklanmaktadır (Göksungur ve ark., 2005).

Literatürde fındık kabuğu (Demirbas, 2003), Hindistan cevizi (Kavitha & Namasivayam, 2007), portakal kabuğu (Chen & Chen, 2009), limon kabuğu (Demirbas ve ark., 2004), elma posası, buğday samanı, mısır koçanı ve arpa kabuğu (Robinson ve ark., 2002), yengeç kabuğu (Vijayaraghavan ve ark., 2006), şeker pancarı posası (Reddad ve ark., 2002), karpuz kabuğu (Bhattacharjee ve ark., 2020) ve daha pek çok atık biyosorpsiyon metodu ile çeşitli kirlilik etmenlerini gidermede değerlendirilmiştir.

Bu araştırmada biyosorpsiyon çalışmalarına katkı sağlamak amacıyla, atık sudan kurşun arıtımında doğal bir biyosorbent olarak daha önce çalışılmamış yeşil nohut kabuğu atıklarının kullanılabilme potansiyeli incelenmiştir. Biyosorpsiyon sürecini etkileyen doz, sıcaklık, derişim gibi parametreler incelenerek optimum değerler belirlenmiştir. Ayrıca kinetik ve izoterm verileri de değerlendirilmiş olup modellemeler yapılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Biyosorbent ve kimyasal maddeler

Çalışmada biyosorbent olarak yeşil nohut kabuğu atıkları (YNK) kullanılmıştır. Batman ilinden evsel ölçekte toplanan biyokütlelerden toz, kirlilik, renk bileşenleri tamamen uzaklaşana kadar saf su ile yıkanmış, daha sonra kurutulan numune bitki öğütücü (IKA 20) ile öğütülmüş ve elenmiştir. 1000 µm (18 mesh) elek üstü boyutundaki kısım toplanıp cam şişelerde stoklanarak biyosorbent kullanıma hazır hale getirilmiştir. %99,5 saflık derecesindeki kurşun (II) nitrat (Pb(NO₃)₂) ise Merck firmasından temin edilmiştir. Bir Pb(II) çözeltisi hazırlanmış ve çalışmalardan önce bu çözeltiden istenen seyreltik çözeltiler oluşturulmak için kullanılmıştır.

2.2. Biyosorbent karakterizasyonu

Biyosorbent karakterizasyonu için nem, kül, uçucu madde, sabit karbon tayinleri yapılarak kimyasal özellikleri belirlenmiştir. Yüzey fonksiyonel gruplarını belirlemek ve biyosorpsiyondan sonra yüzeyde tutulum mekanizmasını anlamak amacıyla FTIR spektrumları (Perkin Elmer Spectrum 100) alınmıştır. Ayrıca, morfolojik yapılarını incelemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM-ZEISS-Supra 40 VP) analizi de yapılmıştır.

2.3. Deneysel çalışmalar

2.3.1. Biyosorbent doz etkisi

Pb(II) biyosorpsiyonuna en uygun doz etkisini belirlemek için seçilen beş noktalı aralık olarak biyosorbentten 0,1-0,5 g arasında tartımlar alınarak 50 mL'lik erlenlere konulmuştur. Biyosorbentlerin üzerine 100 ppm konsantrasyonundaki Pb(II) çözeltisinden 50 mL eklenerek 120 rpm hızındaki çalkalayıcı su banyosuna (Wisebath-WIS 30) konulmuş ve 1 saat sonunda çözeltilerden örnekler filtre edilerek alınmıştır. Alevli Atomik Spektrofotometre (AAS -Perkin Elmer AAAnalyst 400) ile yapılan analizlerde elde edilen C₀ ve C_e değerleri, Denklem 1 de q (mg/g) değerleri hesaplanarak maksimum uzaklaştırılmanın gerçekleştiği doz miktarı belirlenmiştir.

$$q = \frac{C_0 - C_e}{m} \cdot V \quad (1)$$

Eşitlikteki q , C_e , V ve m sırasıyla birim biyosorbent üzerine biyosorplanan madde miktarı (mg/g), denge anındaki Pb(II) derişimini (mg/L), çözelti hacmi (L) ve kullanılan biyosorbent kütlesidir (g).

2.3.2. Başlangıç derişimi ve denge temas süresi etkisi

Ynk'nın sulu çözeltiden Pb(II) iyonu gideriminde başlangıç derişimi ve denge temas süresi etkilerini incelemek için, doğal pH (5,85) ve belirlenen optimum doz olan 0,1 g Ynk ile C_0 'ları 100-300 ppm aralığında olan çözeltilerden 50 mL alınarak 25 °C'de ve 120 rpm çalkalama hızında zamana bağlı (5-420 dk) olarak çalışılmıştır. AAS ile yapılan analizden elde edilen C_0 ve C_e değerleri Denklem 1 de değerlendirilerek q değerleri hesaplanmış ve daha sonra tüm derişimler için elde edilen q değerlerine karşı t değerleri grafiğe geçirilmiştir.

2.3.3. Kinetik çalışmalar

Sulu çözeltiden Ynk biyosorplayıcısı ile Pb(II) giderimindeki çalışmalarda elde edilen veriler kinetik modelleme yapmak için yalancı birinci dereceden (Denklem 2), yalancı ikinci dereceden (Denklem 3) ve partikül içi difüzyon modelleri (Denklem 4) kinetik denklemlerinde değerlendirilerek kinetik parametreler, R^2 ler ve difüzyon hız sabitleri belirlenmiştir (Lagergren, 1898; Ho & Mckey, 1999; Weber & Morris, 1963).

(2)

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_{ads} t$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_{ads} q_e^2} + \frac{1}{q_e} t$$

(3)

$$qt = ki.t^{1/2} + C$$

(4)

Buradaki k_{ads} , ki , t ve C sırasıyla hız sabiti (dk^{-1}), partikül içi difüzyon hız sabiti (dk^{-2}), temas süresi ve biyosorplanan ile biyosorbent arasında oluşan tabakanın kalınlığı ile ilgili bilgi veren parametredir ve qt 'nin $t^{1/2}$ 'ye karşı oluşturulan grafiğin eğimi hız sabitini verirken, kesim noktası ise C' yi verir.

2.3.4. İzoterm çalışmaları

Pb(II) iyonu biyosorpsiyonu izoterm çalışmalarında farklı derişim (C_0) ve sıcaklıklarda (20,25 ve 30 °C) elde edilen q_e değerleri C_e 'ye karşı grafiğe geçirilerek izoterm eğrileri oluşturulmuştur. İzoterm modellemesi yapmak üzere Langmuir (Denklem 5) ve Freundlich (Denklem 6) izoterm denklemleri kullanılmıştır (Langmuir, 1918; Freundlich ,1906).

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m \cdot b} + \frac{C_e}{q_m}$$

(5)

$$q_e = K_f C_e^{1/n}$$

(6)

Burada, q_m ve b sırasıyla biyosorbentin tek tabaka tutma kapasitesi (mg/g) ve adsorpsiyon enerjisi (L/mg) ile ilgili olan bir sabittir. K_f ve n ise sırasıyla freundlich adsorpsiyon kapasitesi ve şiddetini gösteren sabittir.

Ayrıca Hall ayırma faktörü R_L , Pb(II) başlangıç konsantrasyonu ile ilgili olan ve biyosorpsiyon prosesinin davranışını gösteren boyutsuz bir sabittir. Langmuir izoterminin temel özellikleri bu faktör sayesinde tanımlanabilir.

$$R_L = \frac{1}{1 + bC_0} \quad (7)$$

R_L değeri izoterm tipini tanımlar. İzoterm tipleri R_L değeri 0 ve 1 arasındaysa ($0 < R_L < 1$) uygun, 1'den büyükse ($R_L > 1$) uygun olmayan, 1'e eşitse ($R_L = 1$) lineer ve 0'a eşitse ($R_L = 0$) tersinmez olmak üzere 4'e ayrılır (Hall ve ark., 1966).

3. Bulgular ve Tartışma

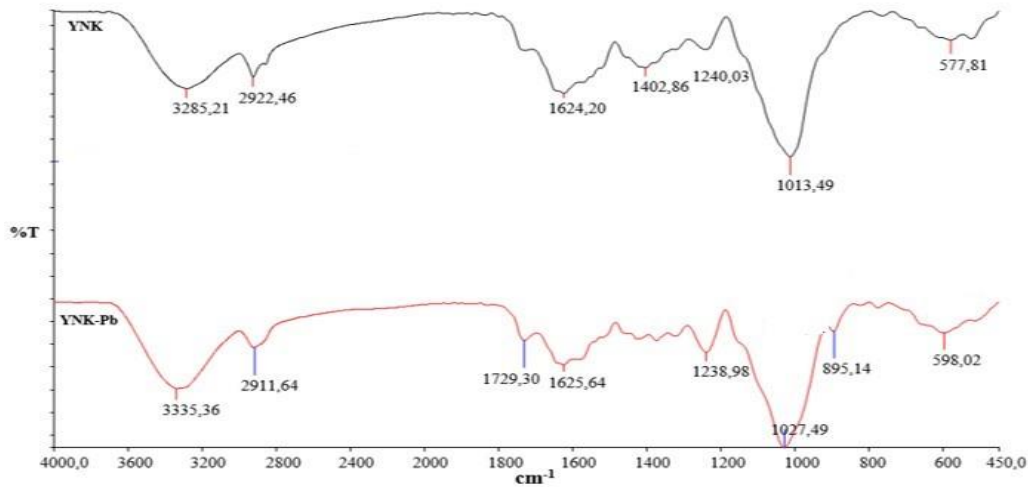
3.1. Biyosorbent karakterizasyonu

Yeşil nohut kabuklarının karakterizasyonu amacıyla yapılan nem, kül, uçucu madde ve sabit karbon analizleri Çizelge 2' de verilmiştir.

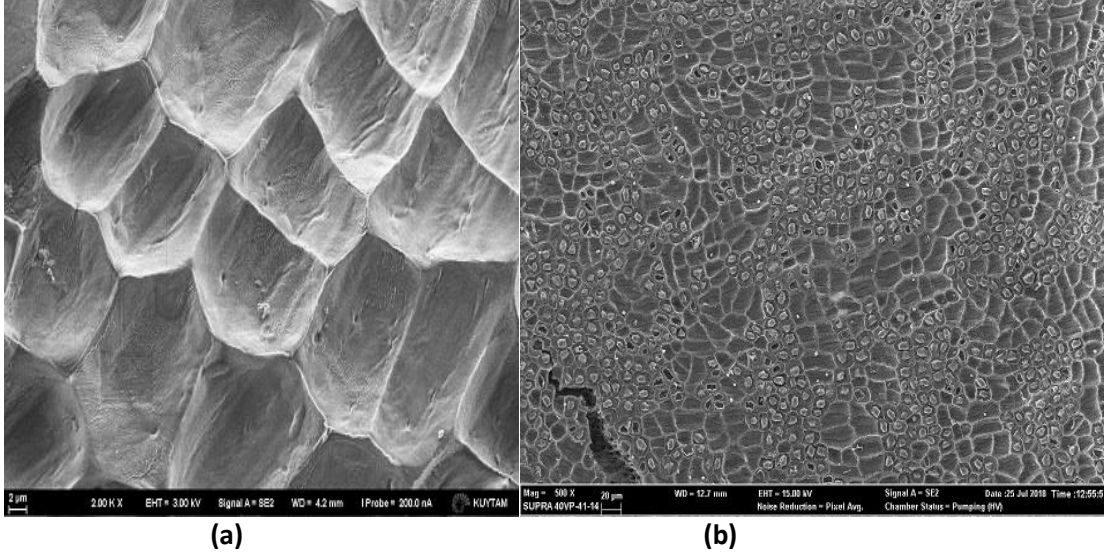
Çizelge 2. YNK'nın karakterizasyon analiz sonuçları (%)

Analizler	% Miktar
Nem miktarı	8,02
Kül miktarı	17,79
Uçucu madde	78,89
Sabit karbon	3,32

Biyosorbent hücrelerindeki karboksil, hidroksil, fosfat ve amino asit gibi fonksiyonel grupları aydınlatmak için alınan biyosorpsiyon öncesi ve sonrası FTIR spektrumu Şekil 1'de verilmiştir. Biyosorpsiyon öncesi görülen 3285,21 cm⁻¹ pik, yüzeydeki OH gruplarının var olduğunu göstermektedir. Bu değer biyosorpsiyon sonrası 3335,36 cm⁻¹ değerine kaymıştır. 2922,46 cm⁻¹ pik yüzeydeki alifatik metil (-CH₃) ve metilen (-CH₂) fonksiyonel gruplarına ait asimetric ve simetric -C-H gerilmesinin olduğunu göstermektedir. Bu değer ise biyosorpsiyondan sonra 2911,64 cm⁻¹ değerlerine kaymıştır. 1624,20 cm⁻¹ deki pik C=N- esneme titreşimleri ve amino gruplarının var olduğunu göstermektedir. Bu değer, biyosorpsiyondan sonra 1625,64 değerine kaymıştır. 1402,86 ve 1240,03 cm⁻¹ deki bant O-H eğilme ve C-O esneme titreşimlerinden kaynaklanabilmektedir. 1402,86 deki pik biyosorpsiyondan sonra kaybolmuştur. 1240,03 cm⁻¹ deki pik alkol ve fenol gruplarının var olduğunu ve O-H esneme titreşimlerini göstermekte ve bu değer 1238,98 değerlerine kaymıştır. 1013,49 cm⁻¹ deki pik halojenli bileşiklerdeki C esneme hareketlerini göstermektedir. Biyosorpsiyondan sonra FTIR spektrumlarında meydana gelen artma ve azalmalar bu aktif grupların biyosorpsiyona katıldığını göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Yargıç ve ark., 2015).



Şekil 1. YNK'nın Pb(II) biyosorpsiyonu öncesi ve sonrası FTIR spektrumları

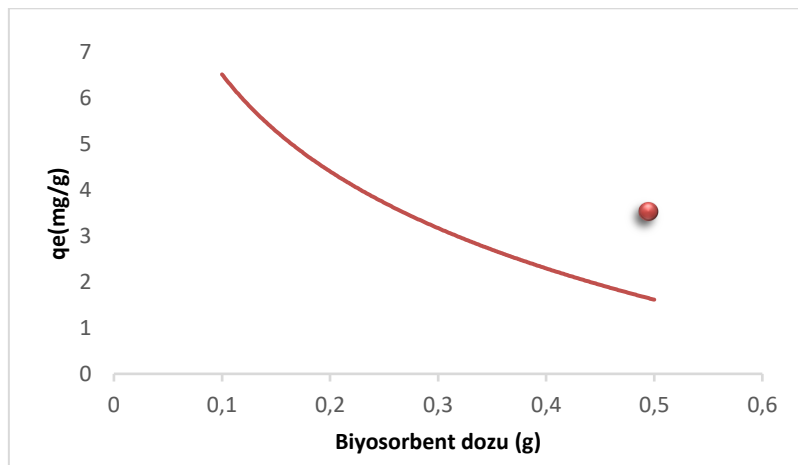


Şekil 2. YNK'nın Pb(II) biyosorpsiyonu öncesi (a) ve sonrası (b) SEM görüntüleri

Yüzey morfolojisini aydınlatmak için biyosorpsiyondan önce ve sonra biyosorbentin SEM görüntüleri alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre YNK biyosorbentinin makrogözenekleri çoğunlukludur. Şekil (b) görüldüğü gibi biyosorpsiyondan önce daha pürüzlü olan yüzey, biyosorpsiyondan sonra yüzeye metal iyonlarının bağlanmasıyla daha homojen bir hale gelmiştir. Bu da Pb(II)'nin aktif bölgelere tutularak yapıyı değiştirdiğini göstermektedir.

3.2. Biyosorbent dozunun etkisi

Biyosorbent dozu, bu teknikte artırım sürecinde önemli bir etkiye sahiptir. Biyosorbent dozunun bilinmesi giderilen kirleticinin konsantrasyonu için gerekli olan biyosorbent kapasitesinin belirlenmesinde önemli bir etken olacaktır. Bu çalışmada, seçilen aralıktaki doz miktarı 0,1 g'dan 0,5 g'a arttıkça dengede biyosorplanan Pb(II) konsantrasyonlarının 6,49 mg/g'dan 1,78 mg/g'a düştüğü ve buna bağlı olarak biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı görülmektedir (Şekil 3). Bu durum biyosorbent dozunun artması ile biyosorplanan miktarın biyosorplayıcı yüzeyini tümüyle kaplamada yetersiz olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Başka bir deyiş ile biyosorbent miktarındaki artış ile biyosorbent parçacıklarının birbirine teması, birikmesi, topaklanması daha fazla olabilir ve biyosorplanan maddelerin biyosorbent ile temas eden yüzey alanını azaltan bu durumdan dolayı biyosorpsiyon kapasitesini azaltmış olabilir (Kavcı, 2021).

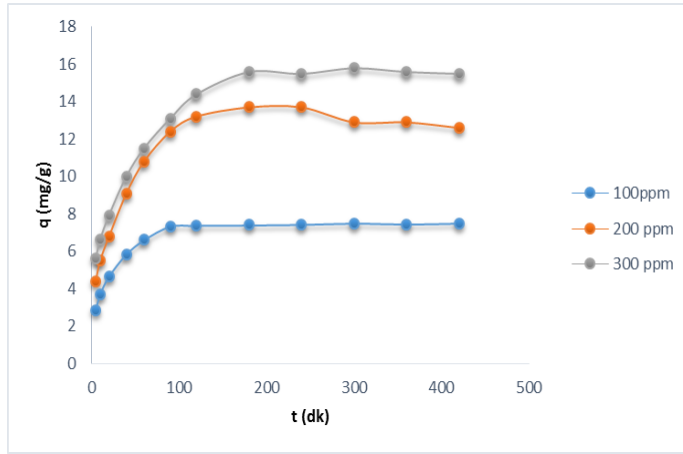


Şekil 3. Pb(II) gideriminde biyosorbent miktarının etkisi (Sıcaklık 25 °C, karıştırma hızı 120 rpm, C₀ =100 ppm, t=1 saat, pH= 5,85)

3.3. Başlangıç Pb(II) iyonu konsantrasyonu ve denge temas süresinin biyosorpsiyona etkilerinin değerlendirilmesi

Atıksu arıtma proseslerinde başlangıç kirletici konsantrasyonlarındaki değişim prosesin başarılı bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için büyük önem taşımaktadır. Atık sudaki Pb(II) konsantrasyonlarında meydana gelebilecek farklılıklarda sistemin ne şekilde tepki vereceği iyi bilinmelidir.

Başlangıç Pb(II) iyonu konsantrasyonunun biyosorpsiyona etkisi incelenirken 0,1 g biyosorbent kullanılarak Pb(II) iyonu konsantrasyonu sırasıyla 100, 200 ve 300 ppm olarak değiştirilmiştir. Başlangıç Pb(II) iyonu konsantrasyonunun 100 ppm'den 300 ppm'e yükseldikçe biyosorpsiyon kapasitesinin de arttığı gözlemlenmektedir (Şekil 4). Bunun nedeni, başlangıç metal konsantrasyonu arttıkça itici güç arttığından, biyosorpsiyon genellikle artar. Artış, yüzeyin doygunluk konsantrasyonuna ulaşmasıyla son bulur (Turan, 2012). Benzer şekilde Öztürk ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada çay atıkları ile Ni (II) ağır metal gideriminde başlangıç metal konsantrasyonu ile biyosorpsiyon kapasitesinin arttığını belirttikleri gibi pek çok çalışma bunu desteklemektedir.

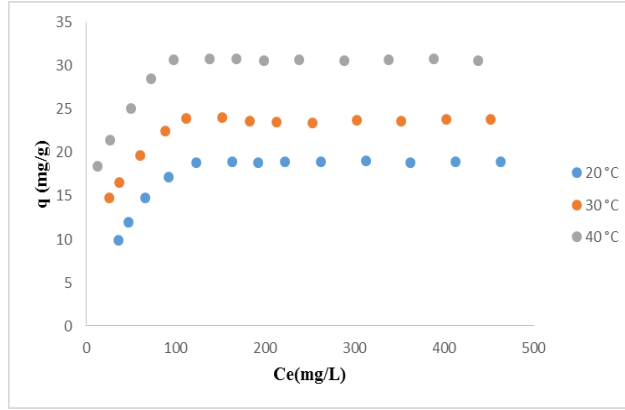


Şekil 4. Pb(II) Başlangıç konsantrasyonunun etkisi (Sıcaklık 25 °C, karıştırma hızı 120 rpm, m= 0,1 g, pH= 5,85)

Çalışmada Pb(II) biyosorplamada denge temas süresinin artması ile biyosorpsiyon kapasitesinin de arttığı ve bu durumun dengeye gelene kadar devam ettiği gözlemlenmiştir. Bu artış durumu 180. dakikalara kadar devam etmiştir. Denge süresi biyosorbentin doygunluğa ulaştığı nokta olarak belirlenmiştir.

3.4. Sıcaklığın biyosorpsiyon üzerinde etkisi

Sıcaklık biyosorpsiyon prosesini etkileyen önemli bir faktördür. Sıcaklığın YNK tarafından Pb(II) giderimi üzerine etkisini incelemek için 20 °C, 30 °C ve 40 °C çalışma sıcaklıkları olarak seçilmiştir. Seçilen bu aralıkta sıcaklığın 20 °C'den 40 °C'ye artması ile biyosorpsiyon kapasitesinin de 18,8 mg/g'dan 30,8 mg/g'a arttığı dolayısıyla biyosorpsiyon kapasitesinin sıcaklığa bağlı artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 5). Bu durumun genellikle sıcaklıktaki artışın metal iyonlarının hareketliliği arttırdığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Wan ve ark., 2014). Yine artan sıcaklıkla birlikte biyosorbent üzerindeki bağlanma bölgelerinin sayısının arttığı ve daha fazla bölgenin aktif hale geldiği düşünülmektedir (Cruz ve ark., 2003). Dolayısıyla bu durum biyosorbentin iç yüzeyine daha fazla metal iyonlarının difüzyonunu sağlayacaktır.



Şekil 5. YNK'nın Pb(II) biyosorpsiyonunda farklı sıcaklıkların biyosorpsiyon kapasitesine etkisi (Karıştırma hızı 120 rpm, t= 24 saat, m= 0,1 g, pH= 5,85)

3.5. Biyosorpsiyon kinetikleri

Biyosorpsiyon proseslerinde, kinetik çalışmalar biyosorbentlerin performansları ve mekanizmalarını anlamak için gereklidir. Aynı zamanda biyosorpsiyon hızı tespit edilerek süreci başarıyla gerçekleştirmek için gerekli olan atık suyun alıkonma süresi belirlenmiş olur (Taşar ve ark., 2014; Gupta ve ark., 2010).

Biyosorpsiyon kinetiğini belirlemek amacıyla çalışmada 100-300 ppm olarak seçilen derişimler için yalancı birinci dereceden, yalancı ikinci dereceden ve partikül içi difüzyon kinetik modeller uygulanmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 3. Farklı çözelti derişimlerinde YNK'nın Pb(II) biyosorpsiyonu için kinetik parametreler

Yalancı birinci dereceden kinetik model				
C _o (ppm)	q _{e,deney} (mg g ⁻¹)	q _{e,hesap} (mg g ⁻¹)	k ₁ x 10 ⁻² (min ⁻¹)	R ²
100	7,32	5,04	0,031	0,9978
200	13,05	9,86	0,0241	0,9963
300	15,06	11,1	0,0177	0,9922
Yalancı ikinci dereceden kinetik model				
C _o (ppm)	q _{e,deney} (mg g ⁻¹)	q _{e,hesap} (mg g ⁻¹)	k ₁ x 10 ⁻² (min ⁻¹)	R ²
100	7,32	8,15	0,095	0,9968
200	13,05	14,9	0,034	0,9868
300	15,06	15,7	0,038	0,9844
Partikül içi difüzyon modeli				
C _o (ppm)	q _{e,deney} (mg g ⁻¹)	k _{id} (mg g ⁻¹ min ^{-1/2})	C (mg g ⁻¹)	R ²
100	7,32	0,2231	3,8813	0,7045
200	13,05	0,451	5,5769	0,7071
300	15,06	0,5638	6,1463	0,8525

Çizelge 3'te verilen sonuçlara göre YNK ile Pb(II) giderimi kinetiğinde biyosorbent bu modelden hesaplanmış denge alım kapasitesi q_e(hesap) ve deneysel olarak bulunan değer q_e(deney) ile yakınlığı ve korelasyon katsayıları büyüklüğünden de görüldüğü gibi yalancı birinci derece kinetik modeline daha iyi uyum sağlamıştır. Deneysel verilerin yalancı birinci derece kinetik modeline uygunluğu, biyosorpsiyon kapasitesinin biyosorbent yüzeyindeki aktif bölgelerle orantılı olduğunu

göstermektedir. Bu model biyosorpsiyon sürecinde katı kapasitesine dayanan sıvı/katı sisteminin adsorpsiyonu esasına dayanır (Lagergren, 1898).

3.6. Biyosorpsiyon izotermi

Kesikli biyosorpsiyon proseslerinde kullanılan biyokütlelerin maksimum giderim kapasitesini belirlemek için izoterm çalışmaları oldukça önemlidir. Çalışmada 50- 500 ppm olmak üzere 13 noktalı derişim ve 20,30,40 °C olmak üzere üç sıcaklık noktası seçilmiştir. Farklı derişim ve sıcaklık parametreleri ışığında, İzoterm modellerinden elde edilen bulguları değerlendirmek amacıyla Langmuir ve Freundlich modelleri kullanılmıştır (Çizelge 4).

Çizelge 4. Farklı sıcaklıklarda YNK'nın Pb(II) biyosorpsiyonu için izoterm parametreleri

Langmuir izotermi					
Sıcaklık (°C)	q _m (mg g ⁻¹)	b (L mg ⁻¹)	K _L	R _L	R ²
20	20,08	0,0493	0,9899	0,039	0,9962
30	24,51	0,0941	2,3064	0,021	0,9989
40	31,45	0,1372	4,3149	0,014	0,9994
Freundlich izotermi					
Sıcaklık (°C)	n (L mg ⁻¹)	K _F	R ²		
20	4,6339	5,6508	0,733		
30	6,6845	10,3636	0,7628		
40	7,1225	14,2235	0,814		

Çizelge 4'deki korelasyon katsayıları incelendiğinde YNK ile Pb(II) biyosorpsiyonunun, Langmuir izotermine Freundlich izoterminden daha iyi uyum sağladığı görülmektedir. Genel olarak Langmuir modeli kirleticilerin adsorbent yüzeyinde belli miktardaki aktif merkeze tek katmanlı adsorpsiyonunu kabul gören ve bu kirleticilerin belli konsantrasyonlarında yüzeyin doygunluğa ulaştığını varsayan teorik bir modeldir (Weber, 1972).

Maksimum biyosorpsiyon kapasitesi olan q_m ve Langmuir sabiti olan b, sırasıyla 31,45 mg/g ve 0,13720 L/mg olarak bulunmuştur. Langmuir izoterm sabiti b, başlangıç Pb(II) konsantrasyonlarıyla değişim gösteren ayırma faktörünü belirlemek için de kullanılmıştır. Ayırma faktörü (R_L), artan başlangıç konsantrasyonları ile azalma göstermiştir. Elde edilen 0,039-0,0140 aralığındaki ayırma faktörü değerlerinin 0-1 aralığında yer alması biyosorpsiyon prosesinin yine bu modele uygun gerçekleştiğini göstermektedir.

Literatürde yapılan bazı çalışmalarda çeşitli biyosorbentler ile kurşun gideriminde bulunan maksimum q değerleri çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Literatürde farklı biyosorbentlerin Pb(II) tutma kapasiteleri

Kullanılan biyosorbent	q (mg/g)	Referans
Kolza tohumu	21.29	Morosanu ve ark., 2017
Salatalık kabuğu	133.6	Basu ve ark., 2017
Çam kabuğu	76.8	Gundogdu ve ark., 2009
Kapyabiber çekirdeği	29.67	Güneş, 2018
Modifiye şeker pancarı küspesi	309.7	Arslanoğlu & Tümen, 2015
Karpuz kabuğu	98.1	Kelly-Vargas ve ark., 2012
Yeşil nohut kabuğu	30.8	Bu çalışma

Çizelgede Pb(II) gideriminde farklı biyosorbentlerin farklı giderim kapasiteleri olduğu görülmektedir. Bu çalışma ve literatürdeki daha pek çok çalışma örneği ile kıyaslandığında kullanılan YNK biyosorbentinin, bazı çalışmalardan düşük bazı çalışmalardan yüksek bir giderim potansiyeli olduğu görülür. Bunun yanı sıra, modifiye etme gibi daha farklı işlemler ve üzerine yapılabilecek yeni çalışmalar ile bu potansiyel daha da geliştirilebilir.

4. Sonuç

Bu çalışmada, biyosorbent materyali olarak yeşil nohut kabuk atıkları kullanılarak kesikli yöntem ile atık sularından Pb(II) giderimi araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda, Pb(II) gideriminde etkin olan parametreler incelenmiş olup, aynı zamanda kinetik ve izoterm çalışmaları da yapılmıştır. En yüksek giderim miktarının belirlenmesi için gerekli biyosorbent miktarı hesaplanmıştır. Başlangıç Pb(II) konsantrasyonunun artması ile biyosorpsiyon kapasitesi de artış göstermiştir. Yine artan sıcaklıkla da biyosorpsiyon kapasitesinin artmış olması olayın endotermik karakterde olduğunu göstermiştir. Kinetik veriler yalancı birinci derece modeline; izoterm verileri ise Langmuir izotermi modeline uygun gerçekleşmiştir. Bu çalışma herhangi bir ticari değeri olmayan zirai bir atık olarak kullanılan biyosorbentten Pb(II) giderimde belli bir potansiyele sahip olabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca farklı kirleticilerinde giderilmesinde alternatif bir kaynak olabileceğini ve böyle bir prosesle istenen kirlilik etmeninin geri kazanılabileceğini ifade etmekte mümkündür.

Kaynakça

- Ahluwalia, S. S., & Goyal, D. (2007). Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. *Bioresource technology*, 98(12), 2243-2257. doi: 10.1016/j.biortech.2005.12.006
- Arslanoğlu, H., & Tümen, F. (2015). Sitrik Asitle Modifiye Edilmiş Şeker Pancarı Küşesi ile Sulu Çözüldürülen Pb (II) ve Cd (II) Giderilmesi. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 27(1), 85-99.
- Basu, M., Guha, A. K., & Ray, L. (2017). Adsorption of lead on cucumber peel. *Journal of Cleaner Production*, 151, 603-615. doi: 10.1016/j.jclepro.2017.03.028
- Bhattacharjee, C., Dutta, S., & Saxena, V. K. (2020). A review on biosorptive removal of dyes and heavy metals from wastewater using watermelon rind as biosorbent. *Environmental Advances*, 2, 100007. doi: 0.1016/j.envadv.2020.100007
- Chen, B., & Chen, Z. (2009). Sorption of naphthalene and 1-naphthol by biochars of orange peels with different pyrolytic temperatures. *Chemosphere*, 76(1), 127-133. doi:10.1016/j.chemosphere.2.2009.02.004
- Cruz, C. C., Da Costa, A. C. A., Henriques, C. A., & Luna, A. S. (2004). Kinetic modeling and equilibrium studies during cadmium biosorption by dead *Sargassum* sp. biomass. *Bioresource technology*, 91(3), 249-257. doi: 10.1016/S0960-8524(03)00194-9
- Demirbas, E., Kobya, M., Senturk, E., & Ozkan, T. (2004). Adsorption kinetics for the removal of chromium (VI) from aqueous solutions on the activated carbons prepared from agricultural wastes. *Water Sa*, 30(4), 533-539.
- Demirbaş, E. (2003). Adsorption of cobalt (II) ions from aqueous solution onto activated carbon prepared from hazelnut shells. *Adsorption Science & Technology*, 21(10), 951-963. doi: 10.1260/02636170360744380
- Freundlich, H. M. F. (1906). Over the adsorption in solution. *Journal of Physical Chemistry*, 57(385471), 1100-1107.
- Göksungur, Y., Üren, S., & Güvenç, U. (2005). Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. *Bioresource technology*, 96 (1), 103-109. doi:10.1016/j.biortech.2003.04.002
- Gundogdu, A., Ozdes, D., Duran, C., Bulut, V. N., Soylak, M., & Senturk, H. B. (2009). Biosorption of Pb (II) ions from aqueous solution by pine bark (*Pinus brutia* Ten.). *Chemical Engineering Journal*, 153(1-3), 62-69. doi:10.1016/j.cej.2009.06.017

- Gupta, V. K., Rastogi, A., & Nayak, A. (2010). Biosorption of nickel onto treated alga (*Oedogonium hatei*): application of isotherm and kinetic models. *Journal of colloid and interface science*, 342(2), 533-539. doi:10.1016/j.jcis.2009.10.074
- Güneş, S. (2018). *Artık materyal kullanılarak adsorpsiyon yöntemi ile atıksulardan kurşun giderimi*. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Denizli.
- Hall, K. R., Eagleton, L. C., Acrivos, A., & Vermeulen, T. (1966). Pore-and solid-diffusion kinetics in fixed-bed adsorption under constant-pattern conditions. *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals*, 5(2), 212-223. doi:10.1021/i160018a011
- Hanif, M. A., Nadeem, R., Bhatti, H. N., Ahmad, N. R., & Ansari, T. M. (2007). Ni (II) biosorption by *Cassia fistula* (Golden Shower) biomass. *Journal of Hazardous Materials*, 139(2), 345-355. doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.06.040
- Ho, Y. S., & McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption processes. *Process biochemistry*, 34(5), 451-465. doi: 10.1016/S0032-9592(98)00112-5
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary toxicology*, 7(2), 60-72. doi: 10.2478/intox-2014-0009
- Kavcı, E. (2021). Direct Red BWS tekstil boyası adsorpsiyonunun Taguchi L9 (34) ortogonal deney tasarımı ile araştırılması. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(1), 358-363.
- Kavitha, D., & Namasivayam, C. (2007). Experimental and kinetic studies on methylene blue adsorption by coir pith carbon. *Bioresource technology*, 98(1), 14-21. doi: 10.1016/j.biortech.2005.12.008
- Kelly-Vargas, K., Cerro-Lopez, M., Reyna-Tellez, S., Bandala, E. R., & Sanchez-Salas, J. L. (2012). Biosorption of heavy metals in polluted water, using different waste fruit cortex. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 37, 26-29. doi: 10.1016/j.pce.2011.03.006
- Lagergren, S. K. (1898). About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *Sven. Vetenskapsakad. Handlingar*, 24, 1-39.
- Langmuir, I. (1918). The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society*, 40(9), 1361-1403. doi: 10.1021/ja02242a004
- Morosanu, I., Teodosiu, C., Paduraru, C., Ibanescu, D., & Tofan, L. (2017). Biosorption of lead ions from aqueous effluents by rapeseed biomass. *New biotechnology*, 39, 110-124. doi: 10.1016/j.nbt.2016.08.002
- Öztürk, M., Yıldız, S., & Aslan, Ş. (2020). Nikel (II) İyonlarının Atık Çay'a Biyosorpsiyonu: Denge, Kinetik ve Termodinamik Çalışmaları. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 8(4), 985-998. doi: 10.21923/jesd.742918
- Reddad, Z., Gérente, C., Andrès, Y., Ralet, M. C., Thibault, J. F., & Le Cloirec, P. (2002). Ni (II) and Cu (II) binding properties of native and modified sugar beet pulp. *Carbohydrate polymers*, 49(1), 23-31. doi:10.1016/S0144-8617(01)00301-0
- Robinson, T., Chandran, B., & Nigam, P. (2002). Effect of pretreatments of three waste residues, wheat straw, corncobs and barley husks on dye adsorption. *Bioresource technology*, 85(2), 119-124. doi:10.1016/S0960-8524(02)00099-8
- Şener, A., & Ünal, M. Ü. (2008, Mayıs). *Gıda sanayii atıklarının biyoteknolojik yöntemlerle değerlendirilmesi*. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Taşar, Ş., Kaya, F., & Özer, A. (2014). Biosorption of lead (II) ions from aqueous solution by peanut shells: equilibrium, thermodynamic and kinetic studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(2), 1018-1026. doi: 10.1016/j.jece.2014.03.015
- Vijayaraghavan, K., Palanivelu, K., & Velan, M. (2006). Biosorption of copper (II) and cobalt (II) from aqueous solutions by crab shell particles. *Bioresource technology*, 97(12), 1411-1419. doi: 10.1016/j.biortech.2005.07.001
- Wan, S., Ma, Z., Xue, Y., Ma, M., Xu, S., Qian, L., & Zhang, Q. (2014). Sorption of lead (II), cadmium (II), and copper (II) ions from aqueous solutions using tea waste. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry Research*, 53(9), 3629-3635. doi: 10.1021/ie402510s
- Weber Jr, W. J., & Morris, J. C. (1963). Kinetics of adsorption on carbon from solution. *Journal of the sanitary engineering division*, 89(2), 31-59. doi: 10.1061/JSEDAI.0000430
- Weber, W. J. (1972). Physicochemical processes for water quality control.

- Yağcı, S., Altan, A., Göğüş, F., & Maskan, M. (2006, Mayıs). *Gıda atıklarının alternatif kullanım alanları*. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu.
- Yargıç, A. Ş., Şahin, R. Y., Özbay, N., & Önal, E. (2015). Assessment of toxic copper (II) biosorption from aqueous solution by chemically-treated tomato waste. *Journal of Cleaner Production*, 88,152-159.



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<http://dergipark.gov.tr/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Taşova (Amasya) Yöresinde Yetiştirilen 'Ekmek' Ayva Çeşidinin Fiziksel ve Biyokimyasal Özellikleri

Mehmet Fikret BALTA^{*1}, Orhan KARAKAYA², İzzet YAMAN¹, Serkan UZUN¹,
Hüseyin KIRKAYA³

¹Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 52200, Ordu, Türkiye

²Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 54000, Sakarya, Türkiye

³Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Seben İzzet Baysal Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, 14750, Bolu, Türkiye

Mehmet Fikret BALTA, ORCID No: 0000-0002-3859-6490, Orhan KARAKAYA, ORCID No: 0000-0003-0783-3120, İzzet YAMAN, ORCID No: 0000-0002-2576-7721, Serkan UZUN, ORCID No: 00-0002-3857-6561, Hüseyin KIRKAYA, ORCID No: 0000-0001-8371-5324

*Sorumlu yazar: fikret_balta@hotmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 09.07.2021

Kabul: 05.11.2021

Online Aralık 2021

DOI: 10.53433/yyufbed.967975

Anahtar Kelimeler

Ayva,

Meyve ağırlığı,

Şeker,

Fenolik,

Antioksidan

Öz: Çalışma, Amasya ili Taşova ilçesinde yetiştirilen 'Ekmek' ayva çeşidinin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada meyve ağırlığı 305.43 g, meyve eti sertliği 62.50 N, suda çözünebilir kuru madde miktarı %11.64, titre edilebilir asitlik %0.83, C vitamini içeriği 11.60 mg/100 ml, glikoz içeriği 3.10 g/100 ml, sukroz içeriği 1.87 g/100 ml, fruktoz içeriği 7.62 g/100 ml, toplam fenolik 121.8 mg/100 g, toplam flavonoid 18.4 mg/100 g, antioksidan aktivitesi DPPH testine göre 0.46 mmol/100 g ve FRAP testine göre 2.67 mmol/100 g olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, 'Ekmek' ayva çeşidinin insan sağlığına faydalı ve hastalıklara karşı koruyucu bir etkiye sahip olan fenolikler ve antioksidanlar bakımından zengin olduğu belirlenmiştir.

Physical and Biochemical Properties of 'Ekmek' Quince Cultivar Grown in Taşova (Amasya) District

Article Info

Received: 09.07.2021

Accepted: 05.11.2021

Online December 2021

DOI: 10.53433/yyufbed.967975

Keywords

Quince,

Fruit weight,

Sugar,

Phenolic,

Antioxidant

Abstract: The study was conducted to determine physical and biochemical properties of 'Ekmek' quince cultivar grown in Taşova (Amasya) district. Fruit weight, fruit flesh firmness, soluble solids content, titratable acidity, vitamin C, glucose, sucrose, fructose, total sugar, total phenolic, total flavonoid, antioxidant activity (according to DPPH and FRAP assays) in the study were determined as 305.43 g, 62.50 N, %11.64, %0.83, 11.60 mg/100 g, 3.10 g/100 ml, 1.87 g/100 ml, 7.62 g/100 ml, 121.8 mg/100 g, 18.4 mg/100 g, 0.46 mmol/100 g and 2.67 mmol/100 g, respectively. As a result, it was determined that 'Ekmek' quince cultivar is rich in terms of phenolics and antioxidants that beneficial human health, protective effect against diseases.

1. Giriş

Ayvannın anavatanı Kuzey Anadolu, Kuzey Kafkasya, Hazar Denizi kıyıları ve Kuzey-Batı İran olup (Özçağırın ve ark., 2014), yabancıleri Güneydoğu Avrupa ve Orta Asya'da doğal olarak yayılış

gösterir (Rodriguez-Guisado ve ark., 2009). Ayva dünya üzerinde Avustralya kıtası hariç, diğer kıta ve ülkelerde yetiştirilir. Bu meyve türü, kültürü yapılan diğer meyve türlerine göre çok yaygınlaşmamış ve üretimi sınırlı kalmıştır (Özçağırın ve ark., 2014).

Dünyada ayva üretimi yaklaşık 689 bin tondur. Dünya ayva üretimi bakımından Türkiye (176 479 t) lider konumda olup, ülkemizi Çin (118 593 t), Özbekistan (76 865 t), İran (76 508 t), Fas (59 444 t) ve Azerbaycan (32 290 t) takip etmektedir (FAO, 2020). Dünya üzerinde ayva yetiştiriciliğinde kullanılan çok az sayıda yabancı çeşit bulunmaktadır (Oliveira ve ark., 2007). Bunlardan en önemlileri 'Smyrna', 'Portugal', 'Spahan', 'Morova', 'Pineapple', 'Van Deman', 'Boterno', 'Champion', 'Meeh' ve 'Orange' çeşitleridir (Dehbi ve ark., 2014). 'Champion' çeşidi dünya üzerinde ayva yetiştiriciliğinde tercih edilen önemli bir çeşittir (Hricovsky ve ark., 2003). Ülkemizde ise 'Ekmek', 'Limon', 'Eşme', 'Demir' ve 'Bardak' yetiştiriciliği yapılan önemli ayva çeşitleridir. Bunlardan 'Ekmek' ve 'Limon' yaygın olarak yetiştirilen çeşitlerdir (Soylu, 1997).

Ayva çeşitleri meyve şekline göre elma ve armut biçimdeki ayvalar olarak iki gruba ayrılır (Özbek, 1978; Hricovsky ve ark., 2003). Ülkemizde yetiştirilen çeşitlerin büyük çoğunluğu armut şeklindedir (Özbek, 1978). Bu meyve şekline sahip ayvalar daha yumuşak ve daha az taş hücrelerine sahiptir. Elma şeklindeki ayvalar ise kuru ve daha sert meyve etine sahip olup, armut şeklindeki ayvalara göre daha aromalıdır (Hricovsky ve ark., 2003). Ayva meyvesi taze tüketimin yanında kurutulmuş ve farklı ürünlere işlenerek de (marmelat, reçel, jöle, meyve suyu, püre ve aromatik bileşiklerin ekstraksiyonunda) kullanılır (Silva ve ark., 2006; Sharma ve ark., 2011; Rubinskiene ve ark., 2014).

Ayva, insan sağlığını teşvik eden fenolikler ve antioksidanlar bakımından zengin olup (Silva ve ark., 2004), potasyum, fosfor ve kalsiyum gibi mineral maddeler, vitaminler, organik asitler ve şekerlerin önemli bir kaynağıdır (Fattouch ve ark., 2007; Rodriguez-Guisado ve ark., 2009). Ayva içeriğindeki antioksidanlar ve fenolik bileşiklerin yanı sıra (Legua ve ark., 2013; Grygorieva ve ark., 2020), anti-kanserojen (Carvalho ve ark., 2010), anti-inflamatuar (iltihap sökücü) (Essafi-Benkhadir ve ark., 2012), anti-ülseratif (Hamauzu ve ark., 2006), anti-alerjik, anti-mikrobiyal (Shaida ve ark., 2020) ve hipoglisemik (Szychowski ve ark., 2014) özellikleri nedeniyle ilgi çekici olup, bu özelliklerinden dolayı birçok hastalığa karşı koruyucu ve önleyici bir etkiye sahiptir (Sharma ve ark., 2011; Wojdylo ve ark., 2013).

Ülkemizde ayva üzerine yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu verim ve meyve kalite özelliklerini belirlemeye yönelik olup (Ercişli ve ark., 1999; Koyuncu ve ark., 1999; Gerçekcioğlu ve ark., 2014; Bolat & İkinci, 2015), biyokimyasal özelliklerin incelenmesine yönelik araştırmalar ise sınırlı sayıda (Karadeniz ve ark., 2005). Ayrıca ülkemizde yetiştirilen ayva çeşitlerinin farklı lokasyonlarda meyve özelliklerinin incelendiği çalışma sayısı da oldukça azdır. Çalışmanın yürütüldüğü Taşova yöresi ülkemiz ayva üretimi bakımından 8. sırada yer alan Amasya ili ayva üretiminin yaklaşık %48'ini karşılamaktadır. Bunun yanında, ayva yetiştiriciliği bakımından önemli bir potansiyele sahip bölgede 2016 yılından sonra ayva üretimi önemli miktarda artmıştır (TUİK, 2021). Bu çalışma Taşova yöresinde yetiştirilen önemli bir ayva çeşidimiz olan 'Ekmek' çeşidinin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada materyal olarak Taşova (Amasya) yöresinde çöğür anaç üzerine aşılı Ekmek ayva çeşidi ile kurulmuş 12 yaşlı ayva bahçesinden alınan meyve örnekleri kullanılmıştır. Çalışma 2017 yılında yürütülmüştür. Çalışmanın yürütüldüğü bahçe sıra üzeri 4 m ve sıra arası 4.5 m olarak tesis edilmiştir. Çalışma süresince kültürel ve teknik uygulamalar düzenli olarak yapılmıştır.

Çalışma 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 3 ağaç olacak şekilde planlanmıştır. Hasat zamanında her ağaçtan 10 meyve derlenmiştir. Hasat işlemi meyve kabuk renginin sarıya döndüğü ve kabuk üzerindeki havın el ile kolayca silindiği dönemde yapılmıştır. Hasat edilen meyvelerde fiziksel ve biyokimyasal özellikler incelenmiştir. Fiziksel özelliklerden meyve ağırlığı 0.01 g hassasiyetindeki dijital terazi (Radwag, AS 220/C/2, Polonya) ile tartılarak, meyve eni, genişliği ve boyu 0.01 mm hassasiyetindeki dijital kumpas (Mitutoyo, CD-15CP, Japonya) ile ölçülerek, meyve eti sertliği ise el penetrometresinin (Effegi, FT 327, İtalya) 7.9 mm'lik ucu kullanılarak belirlenmiştir (Şen ve ark., 1999; Gerçekcioğlu ve ark., 2014). Biyokimyasal özellikler olarak ise pH, suda çözünebilir kuru madde, titre edilebilir asitlik, C vitamini, şeker içeriği (glikoz, sukroz, fruktoz ve toplam şeker), toplam fenolik, toplam flavonoid ve antioksidan aktivitesi (DPPH ve FRAP testlerine göre) incelenmiştir.

2.1. pH, suda çözünebilir kuru madde (%) ve titre edilebilir asitlik (%)

Meyve suyu çıkarılan örneklerde pH değeri dijital pH metre (Hanna, HI4221, ABD) ve suda çözünebilir kuru madde miktarı dijital refraktrometre (Atago, PAL-1, ABD) ile belirlenmiştir. Titre edilebilir asitlik için meyve suyu saf su ile seyreltilmiş (1:1) ve elde edilen karışımın pH değeri 8.1 oluncaya kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Sonuçlar malik asit cinsinden % olarak ifade edilmiştir.

2.2. C vitamini içeriği (mg/100 g)

C vitamini içeriği reflektometre (RQ flex, Plus 10, Merck, Almanya) yardımıyla meyve suyunda belirlenmiş ve mg/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.3. Şeker içerikleri (g/100 ml)

Şekerlerden glukoz, sukroz, fruktoz ve toplam şeker içerikleri tespit edilmiştir. Şeker içerikleri reflektometre (RQ flex, Plus 10, Merck, Almanya) yardımıyla meyve suyunda belirlenmiştir. Okunan değerler g/100 ml olarak ifade edilmiştir.

2.4. Toplam fenolik (mg/100 g)

Toplam fenolik içeriği Beyhan ve ark. (2010)'nın yöntemine göre Folin-Ciocalteu's kimyasalı kullanılarak belirlenmiştir. Hazırlanan stok çözeltilerden 500 µL alınmış ve üzerine 4.1 mL saf su, 100 µL Folin-Ciocalteu's ayracı ve %2'lik NaCO₃ ilave edilmiştir. 2 saat süre ile inkübasyona bırakılan numuneler spektrofotometre'de (Shimadzu, UVmini-1240, Japonya) 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar gallik asit cinsinden mg/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.5. Toplam flavonoid (mg/100 g)

Toplam falvonoid içeriği Zhishen ve ark. (1999)'nın yöntemine göre belirlenmiştir. Hazırlanan stok çözeltilerden 1000 µL alınmış ve üzerine 3.3 mL metanol, 100 µL %5'lik NaNO₂ ve 100 µL %10'luk AlCl₃ ilave edilmiştir. 30 dk süre ile inkübasyona bırakılan numuneler spektrofotometre'de 415 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar kuersetin cinsinden mg/100 g olarak ifade edilmiştir.

2.6. Antioksidan aktivitesi (mmol/100 g)

2.6.1. DPPH yöntemi

DPPH analizi için, hazırlanan stok çözeltilerden 200 µL alınarak üzerine 2.8 mL etil alkol ve 0.26 mM DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan numuneler 30 dk inkübasyon işleminden sonra spektrofotometre'de 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar torolox cinsinden mmol/100 g olarak ifade edilmiştir (Blois, 1958).

2.6.2. FRAP yöntemi

FRAP analizi için, hazırlanan stok çözeltilerden 200 µL alınarak üzerine 1050 µL fosfat tamponu ve 1250 µL potasyum ferrik siyanit ilave edilmiştir. Hazırlanan numuneler 30 dk süre ile 50°C de inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işleminde sonra numunelerin üzerine 1250 µL TCA ve 250 µL demir klorür ilave edilerek, spektrofotometre'de 700 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar torolox cinsinden mmol/100 g olarak ifade edilmiştir (Benzie & Strain, 1996).

2.7. İstatistik Analizler

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 23.0 istatistik paket programı kullanılmıştır. İncelenen özelliklere ait standart sapma ve varyasyon katsayısı (VK) belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

İncelenen Ekmek ayva çeşidinde, meyve iriliği üzerine etkili olan meyve ağırlığı 305.43 g, meyve eni 81.27 mm, meyve genişliği 84.52 mm ve meyve boyu 86.42 mm olarak belirlenirken, önemli bir kalite özelliği olan ve ürünün muhafaza ömrünü etkileyen meyve eti sertliği ise 62.50 N olarak ölçülmüştür (Çizelge 1). Ülkemizde Ekmek ayva çeşidi üzerine yürütülen çalışmalarda meyve ağırlığı 186.0-275.71 g, meyve eni 74.75-83.20 mm, meyve boyu 73.34-83.50 mm ve meyve eti sertliği 13.05-81.03 N arasında bildirilmiştir (Ercişli ve ark., 1999; Koyuncu ve ark., 1999). Ekmek ayva çeşidinin meyve ağırlığı ve meyve boyu değerleri araştırmacıların bulgularından yüksek bulunurken; meyve eti sertliği, meyve eni ve genişliği değerleri ise benzerlik göstermiştir. Meyve ağırlığı ve meyve boyu bakımından görülen farklılıkların ekolojik koşullardan, teknik ve kültürel uygulamalardan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 1. Ekmek ayvasının meyve ağırlığı (g), meyve eni, meyve genişliği, meyve boyu (mm) ve meyve eti sertliği değerleri

	Ortalama ± Standart sapma	VK
Meyve ağırlığı (g)	305.43±40.36	0.13
Meyve eni (mm)	81.27±8.93	0.11
Meyve genişliği (mm)	84.52±7.81	0.09
Meyve boyu (mm)	86.42±12.21	0.14
Meyve eti sertliği (N)	62.50±8.50	0.14

Meyve kalitesi üzerine etkili olan ve tüketici albenisini etkileyen pH, suda çözünebilir kuru madde ve titre edilebilir asitlik değerleri incelenen Ekmek ayva çeşidinde sırasıyla 4.16, %11.64 ve %0.83 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Bu parametreler Van ili ve Oltu (Erzurum) ilçesinde yetiştirilen Ekmek ayva çeşidinde sırasıyla 3.25-4.06, %13.18-14.15 ve %1.58-0.56 arasında bildirilmiştir (Koyuncu ve ark., 1999; Ercişli ve ark., 1999). Çalışmada özellikle suda çözünebilir kuru madde ve titre edilebilir asitlik içeriği bakımından elde edilen bulgular araştırmacıların bulgularından farklılık göstermektedir. Bu özellikler bakımından görülen farklılıklar başta ekolojik faktörler ve bakım koşulları olmak üzere meyvenin olgunluk durumuyla da ilgilidir.

Çizelge 2. Ekmek ayvasının pH, suda çözünebilir kuru madde (%), titre edilebilir asitlik (%) ve C vitamini içeriği (mg/100 g)

	Ortalama ± Standart sapma	VK
pH	4.16±0.01	0.00
Suda çözünebilir kuru madde (%)	11.64±0.37	0.03
Titre edilebilir asitlik (%)	0.83±0.012	0.01
C vitamini (mg/100 g)	11.60±0.08	0.01

İnsan sağlığı üzerine önemli bir etkisi olan C vitamini, incelenen Ekmek ayva çeşidinde 11.60 mg/100 g olarak belirlenirken (Çizelge 2), Oltu (Erzurum) ilçesinde aynı ayva çeşidinde yürütülen araştırmada 3.68 mg/100 g olarak bildirilmiştir (Ercişli ve ark., 1999). Bunun yanında farklı ülkelerde yetiştirilen ayva çeşit ve genotipleri ile yapılan araştırmalarda C vitamini içeriği en düşük 5.9 mg/100 g, en yüksek ise 79.31 mg/100 g (Rop ve ark., 2011; Wojdylo ve ark., 2013; Rasheed ve ark., 2018) olarak rapor edilmiştir. Elde edilen C vitamini değeri, Oltu (Erzurum) ilçesinde yetiştirilen Ekmek ayva çeşidinden elde edilen değerden yüksek, yabancı çeşit ve genotiplerin birçoğuna ait değerlerle ise benzerlik göstermektedir. C vitamini içeriği bakımından görülen farklılıkların genetik yapı, ekolojik koşullar ve bakım şartlarından kaynaklı olduğu ifade edilebilir.

Çalışmada incelenen Ekmek ayva çeşidinde glikoz içeriği 3.10 g/100 ml, sukroz içeriği 1.87 g/100 ml, fruktoz içeriği 7.62 g/100 ml ve toplam şeker içeriği 12.59 g/100 ml olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3). Mevcut çalışmada Ekmek ayva çeşidinin şeker içerikleri Tuna-Güneş & Köksal, (2005)'ın Eşme (glikoz 3.55 g/100 ml, sukroz 2.20 g/100 ml ve fruktoz 6.95 g/100 ml) ve Çukurgöbek (glikoz 4.55 g/100 ml, sukroz 2.35 g/100 ml ve fruktoz 8.45 g/100 ml) ayva çeşitlerinde bildirdiği şeker içerikleriyle uyumlu bulunmuştur. Bunun yanında, farklı araştırmacılar tarafından (Rodriguez-Guisado ve ark., 2009; Leonel ve ark., 2016) yabancı ayva çeşit ve klonlarında bildirilen glikoz (4.08-5.61 g/100 ml), sukroz (1.51-2.41 g/100 ml), fruktoz (5.31-10.89 g/100 ml) ve toplam şeker (9.50-17.93 g/100 ml) değerleriyle de benzer olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3. Ekmek ayvasının şeker içeriği (g/100 ml)

	Ortalama ± Standart sapma	VK
Glikoz (g/100 ml)	3.10±0.08	0.03
Sukroz (g/100 ml)	1.87±0.07	0.04
Fruktoz (g/100 ml)	7.62±0.32	0.04
Toplam şeker (g/100 ml)	12.59±0.38	0.03

Antioksidan aktiviteye sahip fenolikler, insan sağlığını teşvik eden önemli bileşiklerdir (Silva ve ark., 2004). Toplam fenolik içeriği, incelenen Ekmek ayva çeşidinde 121.8 mg/100 g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4). Ankara ekolojik koşullarında benzer ayva çeşidi ile yürütülen araştırmada toplam fenolik içeriği 376.3 mg/100 g olarak bildirilmiştir (Karadeniz ve ark. 2005). Bunun yanında yabancı ayva çeşit ve genotipleri ile yürütülen araştırmalarda toplam fenolik içeriği İspanya'da 40-100 mg/100 g (Legua ve ark., 2013), Macaristan'da 3.92-12.83 mg/100 g (Papp ve ark., 2013), Sırbistan'da 71.03-158.89 mg/100 g (Stojanovic ve ark., 2017), Pakistan'da 65.73-68.13 mg/100 g (Rasheed ve ark., 2018) arasında tespit edilmiştir. İncelenen Ekmek ayva çeşidinin toplam fenolik içeriği Ankara ekolojik koşullarında yetiştirilen Ekmek ayva çeşidinden düşük, yabancı çeşit ve genotiplerin büyük bir çoğunluğundan ise yüksek bulunmuştur. Toplam fenolik içeriği bakımından görülen farklılıkların genetik yapıdan, ekolojik koşullardan, meyvenin olgunluk durumundan, teknik ve kültürel uygulamalardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4. Ekmek ayvasının toplam fenolik (mg/100 g), toplam flavonoid (mg/100 g) ve antioksidan aktivitesi (mmol/100 g) (DPPH ve FRAP)

	Ortalama ± Standart sapma	VK
Toplam fenolik (mg/100 g)	121.8±7.37	0.06
Toplam flavonoid (mg/100 g)	18.4±0.75	0.04
DPPH (mmol/100 g)	0.46±0.04	0.08
FRAP (mmol/100 g)	2.67±0.04	0.02

Mevcut çalışmada incelenen Ekmek ayva çeşidinde toplam flavonoid içeriği 18.4 mg/100 g olarak tespit edilirken (Çizelge 4), bu değer aynı çeşit ile Ankara ekolojik koşullarında yürütülen araştırmada elde edilen değerden (172.3 mg/100 g) düşük olduğu belirlenmiştir (Karadeniz ve ark., 2005). Buna karşılık, Stojanovic ve ark., (2017)'nin Sırbistan'da yetiştirilen farklı ayva çeşitlerinde bildirdiği toplam flavonoid içeriği değerleriyle (17.28-44.65 mg/100 g) ise uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Görülen farklılıkların ekolojik koşullardan, meyvenin olgunluk durumundan ve kültürel uygulamalardan kaynaklı olduğu ifade edilebilir.

İnsan sağlığını teşvik eden antioksidanlar hastalık risklerinin azaltılması ve önlenmesi bakımından önemlidir (Karadeniz ve ark., 2005). Antioksidan aktivitesi, incelenen Ekmek ayva çeşidinde DPPH testine göre 0.46 mmol/100 g, FRAP testine göre ise 2.67 mmol/100 g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4). Antioksidan aktivitesi, Macaristan'da yetiştirilen farklı ayva çeşitlerinde

FRAP testine göre 5.99-63.10 mmol/100 g arasında bildirilmiştir (Papp ve ark., 2013). Bunun yanında ABTS yöntemi kullanılarak yapılan araştırmalarda aktioksidan aktivitesi, İspanya'da yetiştirilen farklı ayva genotipleri ve klonlarında 18.6-99.0 mg/100 g arasında rapor edilmiştir (Legua ve ark., 2013; Szychowski ve ark., 2014). Ekmek ayva çeşidinin antioksidan aktivitesi değeri aynı yöntemi kullanan araştırmacıların inceledikleri çeşitlere ait değerlerden düşük bulunmuştur. Antioksidan aktivitesi bakımından görülen farklılığın genetik yapı, ekolojik koşullar, meyvenin olgunluk durumu, teknik ve kültürel uygulamalar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

4. Sonuç

'Ekmek' ayva çeşidinin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerinin incelendiği çalışmada, bu çeşidin insan sağlığını teşvik eden ve hastalıklara karşı engelleyici ve koruyucu bir etkiye sahip olan fenolik bileşikler ve antioksidanlar bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında 'Ekmek' ayva çeşidi incelenen özellikler bakımından ülkemizde ve dünyada yetiştirilen birçok ayva çeşidine yakın ve hatta bazılarında daha yüksek değerlere sahip olmuştur.

Kaynakça

- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Beyhan, Ö., Elmastaş, M., & Gedikli, F. (2010). Total phenolic compounds and antioxidant capacity of leaf, dry fruit and fresh fruit of feijoa (*Acca sellowiana*, Myrtaceae). *Journal of Medicinal Plant Research*, 4, 1065-1072. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.008>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bolat, İ., & İkinci, A. (2015). Eşme ayva (*Cydonia oblonga* Miller) çeşidinin GAP Bölgesindeki performansı. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 19(1), 16-23.
- Carvalho, M., Silva, B. M., Silva, R., Valentao, P., Andrade, P. B., & Bastos, M. L. (2010). First report on *Cydonia oblonga* Miller anticancer potential: differential antiproliferative effect against human kidney and colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3366-3370. <https://doi.org/10.1021/jf903836k>
- Dehbi, F., Hasib, A., Ouattmane, A., Elbatal, H., & Jaouad, A. (2014). Physicochemical characteristics of Moroccan prickly pear juice (*Opuntia ficus indica* L.). *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 4(4), 300-6.
- Ercişli, S., Güteryüz, M., & Eşitken, A. (1999). Oltu ilçesinde yetiştirilen ayva çeşitlerinin meyve özellikleri üzerinde bir araştırma. *Anadolu Dergisi*, 9(2), 32-40.
- Essafi-Benkhadir, K., Refai, A., Riahi, I., Fattouch, S., Karoui, H., & Essafi, M. (2012). Quince (*Cydonia oblonga* Miller) peel polyphenols modulate LPS-induced inflammation in human THP-1-derived macrophages through NF-κB, p38MAPK and Akt inhibition. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 418(1), 180-185. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.01.003>
- FAO, (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. www.fao.org/faostat/en/#data/QC Erişim tarihi: 17.02.2021.
- Fattouch, S., Caboni, P., Coroneo, V., Tuberoso, C. I., Angioni, A., Dessi, S., Marzouki, N., & Cabras, P. (2007). Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia oblonga* Miller) pulp and peel polyphenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 963-969. <https://doi.org/10.1021/jf062614e>
- Gerçekcioğlu, R., Gencer, S., & Atasever, Ö. Ö. (2014). Tokat ekolojisinde yetiştirilen "Eşme" ve "Limon" ayva (*Cydonia vulgaris* L.) çeşitlerinin bitkisel ve pomolojik özellikleri. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 7(1), 01-05.
- Grygorieva, O., Klymenko, S., Vergun, O., Mňahončáková, E., Brindza, J., Terentjeva, M., & Ivanišová, E. (2020). Evaluation of the antioxidant activity and phenolic content of Chinese quince (*Pseudocydonia sinensis* Schneid.) fruit. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 19(1), 25-36. <http://dx.doi.org/10.17306/J.AFS.2020.0738>

- Hricovsky, I., Rezníček, V., & Sus, J. (2003). Jablone a hrusne, kdoulone, mispule. *Príroda, Bratislava*, 12, 53-54.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N., & Soyer, Y. (2005). Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(4), 297-303.
- Koyuncu, F., Yılmaz, H., & Koyuncu, M. (1999). Ekmek ayvasının Van ekolojik koşullarında bazı ağaç ve meyve özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 9(1), 37-40.
- Legua, P., Serrano, M., Melgarejo, P., Valero, D., Martínez, J. J., Martínez, R., & Hernández, F. (2013). Quality parameters, biocompounds and antioxidant activity in fruits of nine quince (*Cydonia oblonga* Miller) accessions. *Scientia Horticulturae*, 154, 61-65. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.02.017>
- Leonel, M., Leonel, S., Tecchio, M. A., Mischan, M. M., Moura, M. F., & Xavier, D. (2016). Characteristics of quince fruits cultivars' (*Cydonia oblonga* Mill.) grown in Brazil. *Australian Journal of Crop Science*, 10(5), 711. <https://doi/abs/10.3316/informit.203321426595075>
- Oliveira, A. P., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentão, P., Seabra, R. M., & Silva, B. M. (2007). Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7926-7930. <https://doi.org/10.1021/jf0711237>
- Özbek, S. (1978). *Özel Meyvecilik*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana, Türkiye.
- Özçağiran, R., Ünal, A., Özeker, E., & İsfendiyoğlu, M. (2014). *İlman İklim Meyve Türleri Yumuşak Çekirdekli Meyveler*. Cilt-III, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, Türkiye.
- Papp, N., Szabó, T., Szabó, Z., Nyéki, J., & Hegedüs, A. (2013). Antioxidant capacity and total polyphenolic content in quince (*Cydonia oblonga* Mill.) fruit. *International Journal of Horticultural Science*, (3-4), 33-35.
- Rasheed, M., Hussain, I., Rafiq, S., Hayat, I., Qayyum, A., Ishaq, S., & Awan, M. S. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of quince fruit pulp collected from different locations. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2320-2327. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1514631>
- Rodríguez-Guisado, I., Hernández, F., Melgarejo, P., Legua, P., Martínez, R., & Martínez, J. J. (2009). Chemical, morphological and organoleptical characterisation of five Spanish quince tree clones (*Cydonia oblonga* Miller). *Scientia Horticulturae*, 122(3), 491-496. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.06.004>
- Rop, O., Balik, J., Rezníček, V., Juríková, T., Škardová, P., Salaš, P., Sochor, J., Mlcek, J., & Kramářová, D. (2011). Chemical characteristics of fruits of some selected quince (*Cydonia oblonga* Mill.) cultivars. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(1), 65-73. <https://doi.org/10.17221/212/2009-CJFS>
- Rubinskiene, M., Viškelis, P., Viškelis, J., Bobinaite, R., Šalkevich, M., Pigul, M., & Urbonaviciene, D. (2014). Biochemical composition and antioxidant activity of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*) fruit, their syrup and candied fruit slices. *Sodininkystė ir Daržininkystė*, 33(1-2), 45-52.
- Sharma, R., Joshi, V. K., & Rana, J. C. (2011). Nutritional composition and processed products of quince (*Cydonia oblonga* Mill.). *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(3), 354-357.
- Shaida, B., Singh, N. B., & Singh, K. (2020). In-Vitro Evaluation of Anti-Inflammatory and Anti-Microbial Properties of Ethanolic Extract of *Cydonia Oblonga* Seeds. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 79(1), 49-52.
- Silva, B. M., Andrade, P. B., Gonçalves, A. C., Seabra, R. M., Oliveira, M. B., & Ferreira, M. A. (2004). Influence of jam processing upon the contents of phenolics, organic acids and free amino acids in quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller). *European Food Research and Technology*, 218(4), 385-389. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0845-6>
- Silva, B. M., Andrade, P. B., Martins, R. C., Seabra, R. M., & Ferreira, M. A. (2006). Principal component analysis as tool of characterization of quince (*Cydonia oblonga* Miller) jam. *Food Chemistry*, 94(4), 504-512. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.045>
- Soylu, A. (1997). *İlman İklim Meyveleri-II*. Uludağ Üniversitesi Ders Notları, Bursa, Türkiye.
- Stojanović, B. T., Mitić, S. S., Stojanović, G. S., Mitić, M. N., Kostić, D. A., Paunović, D. Đ., Arsic, B. B., & Pavlović, A. N. (2017). Phenolic profiles and metal ions analyses of pulp and peel of fruits

- and seeds of quince (*Cydonia oblonga* Mill.). *Food Chemistry*, 232, 466-475. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.041>
- Szychowski, P. J., Munera-Picazo, S., Szumny, A., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Hernández, F. (2014). Quality parameters, bio-compounds, antioxidant activity and sensory attributes of Spanish quinces (*Cydonia oblonga* Miller). *Scientia Horticulturae*, 165, 163-170. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.11.028>
- Şen, S. M., Karadeniz, T., & Balta, F. (1993). Tirebolu (Harkköyü) yöresinde yetiştirilen önemli mahalli ayva çeşitleri üzerinde morfolojik ve pomolojik çalışmalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(1-2), 205-219.
- TUİK, (2020). Türkiye İstatistik Kurumu. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> Erişim tarihi: 12.10.2021.
- Tuna-Gunes, N., & Koksall, A. I. (2005). Ethylene biosynthesis of quince during storage. *Acta Horticulturae*, 682(1), 177. [10.17660/ActaHortic.2005.682.17](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.682.17)
- Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Bielicki, P. (2013). Polyphenolic composition, antioxidant activity, and polyphenol oxidase (PPO) activity of quince (*Cydonia oblonga* Miller) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(11), 2762-2772. <https://doi.org/10.1021/jf304969b>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)



Research Article

Effects of Microwave-Assisted Steam Drying and Freeze-Drying Techniques in the Raw Wheat Germ for the Antioxidant Activity and Microbiological Quality

Yağmur ERİM KÖSE*¹, Raciye MERAL¹, İsa CAVİDOĞLU¹

¹Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, 65080, Van, Turkey

Yağmur ERİM KÖSE, ORCID No: 0000-0002-8008-0009, Raciye MERAL, ORCID No: 0000-0001-9893-7325, İsa CAVİDOĞLU, ORCID No : 0000-0001-7896- 5871

*Corresponding author e-mail: yagmuririm@yyu.edu.tr

Article Info

Received: 02.11.2021

Accepted: 30.12.2021

Online December 2021

DOI: 10.53433/yyufbed.1017973

Keywords

Freeze-drying,

Microwave-assisted steam drying,

Wheat germ,

Stabilization

Abstract: The purpose of this research was to study the effects of stabilization and storage conditions on the antioxidant activity and microbiological quality of raw wheat germ (R). For this reason, the raw germ samples were stabilized by microwave-assisted steam drying (MWS) and freeze-drying (FD) methods, and they were stored at different storage temperatures (-18, + 4 and 25°C) with polyethylene bags for 90 days. The total phenolics contents (TPC), antioxidant activities (DPPH and ABTS assay methods), and the counts of total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), and the total yeast-mold count (YMC) of the germ samples were investigated. Methanol extracts of FD samples showed higher TPC and antioxidant activity than MWS samples significantly ($p < 0.05$). Although MWS samples had remarkably lower microbial counts (TMAB and YMC), their antioxidant properties were adversely affected by heat treatment. According to obtained data samples stored at -18 °C showed the most reliable results in terms of tested parameters.

Mikrodalga Destekli Buharlı Kurutma ve Dondurarak Kurutma Tekniklerinin Ham Buğday Ruşeyminin Antioksidan Aktivitesi ve Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkileri

Makale Bilgileri

Geliş: 02.11.2021

Kabul: 30.12.2021

Online Aralık 2021

DOI: 10.53433/yyufbed.1017973

Anahtar Kelimeler

Dondurarak kurutma,

Mikrodalga destekli buharlı kurutma,

Buğday ruşeymi,

Stabilizasyon

Öz: Bu araştırmanın amacı, farklı stabilizasyon ve depolama koşullarının, ham buğday ruşeyminin antioksidan aktivitesi ve mikrobiyolojik kalitesi üzerindeki etkilerini incelemektir. Bu nedenle ham ruşeym örnekleri mikrodalga destekli buharlı kurutma ve dondurarak kurutma yöntemleriyle stabilize edilmiş ve farklı depolama sıcaklıklarında (-18, + 4 ve 25°C) 90 gün boyunca polietilen torbalarda depolanmıştır. Ruşeym örneklerinin toplam fenolik içerikleri (TFM), antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS yöntemleri), toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayıları ve toplam maya-küf sayısı (TMK) araştırılmıştır. Dondurarak kurutulmuş örneklerin metanol ekstraktları, mikrodalga fırın ile stabilize edilmiş örnekler göre istatistiksel olarak daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir ($p < 0.05$). Mikrodalga fırın ile stabilize edilmiş örneklerin mikrobiyolojik kalitesi oldukça yüksek olmasına rağmen, antioksidan aktiviteleri ısı işleminden olumsuz etkilenmiştir. Elde edilen verilere göre -18 °C'de depolanan numuneler, test edilen parametreler açısından en başarılı sonuçları göstermiştir.

*

* This work is a part of the doctoral thesis of Yağmur ERİM KÖSE.

1. Introduction

The purpose of the wheat-milling process is to separate the endosperm from possible by-products such as wheat germ and wheat bran. Wheat germ is one of the main by-products or waste of wheat due to its poor storage stability because of unsaturated fatty acids and the activity of hydrolytic and oxidative enzymes such as lipase and lipoxygenase (Srivastava et al., 2007). Although it is usually evaluated as waste, germ contains valuable nutritional components: 3 times as much protein, 15 times as much sugars, 7 times as much fat, 6 times as much minerals, 6 times as much thiamine, and 15 times as much α -tocopherol when compared to wheat flour (Sudha et al., 2007; Ali et al., 2013). It is also highly valued due to its high content of phenolic acids, flavonoids, and carotenoids and so antioxidant activity (Zhu et al., 2011).

Some researchers have investigated that how this valuable by-product can be used as a commercial product in the food industry by inactivation of the hydrolytic and oxidative enzymes and they have developed several stabilization methods using heat treatments (Xu et al., 2013; Jha et al., 2013; Marti et al., 2014; Li et al., 2016; Zou et al., 2018, Gili et al., 2018; Erim Köse 2021 and 2022).

On the other hand, heat treatment increased the shelf life of the germ, decreased the valuable bioactive compounds, antioxidant activity, and increased the rate of Maillard reaction.

For this reason, we investigated the effects of different heat treatments using microwave-oven (MWS/ radiation heat transfer) and lyophilizer (FD/ freezing heat transfer) on the total phenolic contents, antioxidant activity, and microbiological quality of the raw germ, in the present study. The MWS and FD samples were packaged with polyethylene bags and stored under different storage temperatures (-18, 4, 25 °C) for 90 days. To our best knowledge, there is no previous study related to the application of MWS and FD methods for the stabilization of the wheat germ. This work aims to develop alternative effective stabilization techniques with the least effect on the nutritional value and investigate the best storage conditions for stabilized germ.

2. Material and Methods

2.1. Germ stabilization

The raw and fresh wheat germ flakes were obtained from the commercial wheat mill Konya-Turkey. The germ samples were homogeneously spread on the tray of the unheated microwave oven (Arçelik, MD554, Turkey). MWS stabilization was carried out for 5 minutes at 600 W power. As the source of steam 50 mL of water in a glass cup was put on top of the chamber, consequently, steam was supplied in the oven during the process. The inner temperature of the sample was 110 °C after heating. The stabilized samples were allowed to cool to room temperature (25 °C).

The frozen R samples (-36 °C) were freeze-dried in a lyophilizer (Labconco, Model:117, Czech Republic,) at a condenser temperature of -50 °C for 48 hours. After the MWS and FD treatments, both stabilized samples and control groups were packed with polyethylene bags and stored at -18, +4, and 25 °C for 90 days. The analyses were performed on days 0, 15, 30, 60 and, 90.

2.2. Preparation of extracts

Before TPC and antioxidant activity analysis, the germ extracts were prepared with methanol (100%, by volume). 10 mL of methanol was added to 2.5 g defatted germ and the mixture was shaken in an incubator (Heidolph Unimax 1010, Germany) for 2 h at 250 rpm. The samples were centrifuged at 10000 rpm for 10 min at 20 °C (Hettich Zentrifugen Universal, 32 R, Germany) to obtain the supernatant. This procedure was repeated twice to a final volume of 25 mL (Bakkalbaşı et al., 2012).

2.3. Determination of TPC

The amount of TPC of methanol-germ extracts was determined by the Folin–Ciocalteu's colorimetric method as described by Bae & Suh, 2007. Briefly, 150 μ L Folin-Ciocalteu's reagent (1:1, v/v in water) was mixed with 150 μ L methanol-germ extracts and 3.0 mL sodium carbonate (w/v in water). The reaction mixture was shaken and allowed to rest for 45 min in dark at room temperature. Finally, absorbance was measured at 765 nm in a spectrophotometer (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan). Gallic acid was used as the standard to calculate the calibration curve ($R^2=0.99$). The results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE) in per 100 g of wheat germ.

2.4. Determination of antioxidant activity

2.4.1. DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) assay

The DPPH radical scavenging activity analysis was conducted according to the method of Brand-Williams et al., (1995). Firstly, DPPH solution (2.4 mL) was mixed with 100 μ L germ extract and this mixture was vortexed and then allowed to react for 30 min. in the dark at room temperature. Absorbance was measured at 520 nm in a spectrophotometer (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan). %DPPH scavenging activity or % inhibition were expressed as Equality 1 (Dudonne et al., 2009).

$$\text{Inhibition \%} = (\text{Abs control} - \text{Abs sample}) / \text{Abs control} \times 100 \quad (1)$$

where Abs is the absorbance of control and sample at 520 nm.

2.4.2. ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) assay

The ABTS assay was done according to the method of Kırca & Özkan (2007). Firstly, the ABTS radical cation solution was prepared with 7 mM ABTS • + containing 2.45 mM potassium persulfate and then incubated in the dark at room temperature for 16 h. 30 μ L of germ extract was mixed with 2970 μ L prepared- ABTS+ solution and shaken vigorously and left to stand for 6 min at room temperature. The absorbance of the mixture was determined at 734 nm. The results were expressed as mmol of ABTS in per 1 g of wheat germ.

2.5. Determination of microbiological analysis

Microbiological analyses of all germ samples were determined according to Harrigan (1998) and Speck (1984). TMAB was enumerated in Plate Count Agar and Potato Dextrose Agar was used for YMC. Results were calculated as cfu/g wheat germ.

2.6. Statistical Analysis

All data were analyzed using software SPSS 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Statistical analysis was performed using a one-way ANOVA and Duncan's multiple-range test. ($p < 0.05$).

3. Results

3.1. TPC of wheat germ samples

The TPC of R, MWS, and FD samples were 335, 295.80 and, 343 mg GAE 100g⁻¹ db, respectively, on the first day of storage (Table 1). The higher TPC of FD samples is due to the effect of lyophilization. The ice crystals formed during lyophilization disrupt the matrix structure of the cell wall and migration of cellular components from the material, consequently, allowing the access of solvent thoroughly in the cell-matrix (Orphanides et al., 2013). Besides, the higher TPC of FD samples might be due to the absence of heat-related damage.

TPC of all samples showed a decreasing trend until the 90th day of storage due to their destruction while an increase was observed on the 90th day. This increase in total phenolic content could be attributed to the degradation of high molecular weight phenolics into the release of simple phenolic compounds with increasing storage days (Amol et al., 2011). In addition others authors have previously observed and reported that formation of new compounds of antioxidant character during storage (Kallithraka et al., 2009; Martinez-Flores et al., 2015). It is possible to say that there is no difference between R and FD samples after the 30th-day of all samples, but MWS samples have always lower TPC values during 90th days of storage, statistically (Table 1). At the end of the storage period, the highest value for TPC (342.10 mg GAE 100g⁻¹) was determined in the FD sample stored at -18 °C, while the lowest value (304.24 mg GAE 100g⁻¹) was determined in MWS samples, kept at 25°C. These results show that the FD method is very successful in protecting the valuable phenolic compounds of germ.

Table 1. Total phenolic contents (mg GAE 100g⁻¹ db) of wheat germ (n=3 ±SD)

		Storage Days				
		Initial	15 th day	30 th day	60 th day	90 th day
R	-18 °C	335.00±7.07aA	333.17±1.40aB	325.00±0.00bB	314.52±0.72cbB	337.76±2.49aB
	+4 °C	335.00±7.07aA	333.62±4.96aB	329.06±0.74bB	310.91±3.54cB	333.50±4.48abB
	+25°C	335.00±7.07aA	330.17±4.01abB	324.50±4.24cB	304.90±4.24dB	326.69±0.13bB
MWS	-18 °C	295.80±0.00aA	305.60±0.85bA	303.55±0.64bcA	300.91±1.00CaA	309.07±7.08bA
	+4 °C	295.80±0.00aA	306.39±2.71bA	300.20±0.28bcA	300.50±0.39bcA	308.10±3.47bA
	+25°C	295.80±0.00aA	304.30±1.41abA	292.60±3.39cA	286.91±1.92cdA	304.24±5.30bA
FD	-18 °C	343.00±2.83aB	341.45±2.05abC	336.15±3.04bB	326.10±3.04cB	342.10±4.10aB
	+4 °C	343.00±2.83aB	343.14±0.51aC	338.20±2.26bB	327.15±2.26cB	341.50±2.12aB
	+25°C	343.00±2.83aB	342.53±1.45aC	335.80±1.13bB	320.75±1.13cC	340.60±0.85aC

^{a-e} Within each row, different superscript uppercase letters show differences between the storage days within the same analysis group ($p < 0.05$). ^{A-E} Within each column, different superscript lowercase letters show differences between treatments within the same analysis group ($p < 0.05$). R: Raw wheat germ, MWS: microwave-assisted steam drying wheat germ, FD: freeze-drying germ.

Different TPC values have been previously reported for wheat germ in the literature. The TPC of aqueous and ethanol extracts of wheat germ were found to be 14.63 and 14.93 mg GAE g⁻¹, respectively (Zhu et al., 2011). Velioglu et al. (1998) noted 349 mg GAE 100g⁻¹ in methanol extract of wheat germ, which is consistent with the finding (335 mg GAE 100g⁻¹) of this study. The TPC reported by Bilgiçli et al. (2006) and De Vasconcelos et al. (2013) in 50 and 70% methanol extracts were 3.01 Mm GAE g⁻¹ and 4.07 mg GAE g⁻¹, respectively.

3.2. Antioxidant activity of wheat germ samples

3.2.1. DPPH assay

DPPH values followed the same trend as those observed in TPC values, significantly. FD samples showed higher levels of DPPH activity (81.63%) than R and MWS samples (74.49% and 78.92%) (Table 2), since antioxidant substances are not damaged by high heat treatment. The difference between DPPH values of R and MWS samples was not significant at the initial stage ($p > 0.05$). Because the low temperature and short time application in the microwave oven (600 W, 5 min) minimized the loss of antioxidant substances. In addition, in the MWS method, steam was

simultaneously introduced into the microwave oven, thus preventing the germ from burning and serious losses in antioxidant activity (Table 1, 2, 3). A linear decrease in DPPH value was observed during the storage period in all samples. For example, the activity of the R sample reduced from 78.92 to the lowest 70.01% while the activity of the MWS sample 74.49 to 66.26% and the FD sample from 81.63 to 75.16 % at the end of the storage period. The reasons to reduce the activity of DPPH are the destruction of compounds with antioxidative activity such as phenolics, tocopherols, or carotenoids by enzyme, pH, temperature, oxygen, light, etc. (Brandolini & Hidalgo, 2012). At the end of the storage period, the MWS samples had the lowest (66.26%) and the FD samples showed the highest DPPH values (75.84%). The result proved once again that the FD method preserved a very high rate of natural bioactive compounds in germs.

Table 2. DPPH values (% inhibition) of wheat germ (n=3 ±SD)

		Storage Days				
		Initial	15 th day	30 th day	60 th day	90 th day
R	-18 °C	78.92±0.11aA	78.45±0.01bB	77.01±0.01cB	71.70±0.16dB	70.01±0.01eB
	4 °C	78.92±0.11aA	78.17±0.23bB	77.62±0.88cB	71.45±0.74dB	70.02±0.03eB
	25°C	78.92±0.11aA	78.85±0.06bB	76.78±0.39cB	71.53±0.04dB	70.31±0.44eB
MWS	-18 °C	74.49±0.69aA	73.05±0.04bA	70.44±0.00cA	67.44±0.52dA	66.26±0.51eA
	4 °C	74.49±0.69aA	73.63±0.04bA	70.16±0.22cA	67.35±0.49dA	66.26±0.08eA
	25°C	74.49±0.69aA	73.22±0.31bA	68.59±0.59cA	67.91±0.13dA	66.59±0.09eA
FD	-18 °C	81.63±1.68aB	81.51±0.01bC	80.91±0.14cC	78.30±0.11dC	75.16±2.91eC
	4 °C	81.63±1.68aB	81.09±0.07bC	80.42±0.09cC	78.18±0.88dC	75.80±0.40eC
	25°C	81.63±1.68aB	81.44±0.62bC	80.56±0.63cC	77.71±0.24dC	75.84±0.66eC

^{a-e} Within each row, different superscript uppercase letters show differences between the storage days within the same analysis group ($p < 0.05$). ^{A-E} Within each column, different superscript lowercase letters show differences between treatments within the same analysis group ($p < 0.05$). R: Raw wheat germ, MWS: microwave-assisted steam drying wheat germ, FD: freeze-drying germ.

3.2.2 ABTS assay

The ABTS value of the R, MWS, and FD samples were 17.22, 15.54, and 16.75 mmol trolox g^{-1} , respectively. MWS treatment significantly reduced the ABTS values of all samples. (Table 3). While TPC and DPPH values of the FD sample were higher than R samples, its ABTS value was found to be lower. The lower value of ABTS in FD samples may be due to reducing the water content during freezing, consequently, reducing the activity of ABTS used in the method which is more reactive in aqueous media (Şanlıdere Aloğlu, 2010).

There was an increase in ABTS values of R samples stored under different temperatures whereas the MWS and FD samples did not show significant differences during storage ($p > 0.05$). The lowest antioxidant activity was determined in the MWS sample at 4°C (16.17 mmol trolox g^{-1}).

Table 3. ABTS values (mmol trolox g⁻¹) of wheat germ (n=3 ±SD)

		Storage Temperatures				
		Initial	15 th day	30 th day	60 th day	90 th day
R	-18	17.22±0.03aB	17.50±0.06aC	19.28±0.39bB	20.61±0.06cB	20.17±0.18cB
	4 °C	17.22±0.03aB	17.45±0.01aB	19.05±0.06bC	20.11±0.02cB	19.66±0.38cC
	25°C	17.22±0.03aB	17.53±0.02bB	19.72±0.19cB	20.04±0.04dB	19.94±0.06cdB
MWS	-18	15.54±0.47aA	15.43±0.18aA	16.09±1.13aA	16.71±0.75aA	16.41±0.04aA
	4 °C	15.54±0.47aA	15.30±0.35aA	16.11±0.16abA	16.57±0.46bA	16.17±0.05abA
	25°C	15.54±0.47aA	15.71±0.08aA	15.76±2.04aA	16.20±0.17aA	16.45±0.00aA
FD	-18	16.75±0.01aB	16.99±0.04aB	17.99±0.09abAB	18.70±1.05bAB	17.15±0.67aA
	4 °C	16.75±0.01aB	17.02±0.75aB	18.02±0.28abB	18.84±1.00bB	17.52±0.42abB
	25°C	16.75±0.01aB	17.48±0.64aB	18.75±0.03aAB	18.03±1.00aA	16.67±1.58aA

^{a-e} Within each row, different superscript uppercase letters show differences between the storage days within the same analysis group ($p < 0.05$). ^{A-E} Within each column, different superscript lowercase letters show differences between treatments within the same analysis group ($p < 0.05$). R: Raw wheat germ, MWS: microwave-assisted steam drying wheat germ, FD: freeze-drying germ.

3.3. Microbiological analyses of wheat germ samples

The TMAB value of the R sample was determined as 3.81 log cfu g⁻¹ at the start of the storage, and a linear increase was detected during 90 days (Table 4). At the end of the storage, R samples which were stored at 25°C had the highest value (5.39 log-cfu g⁻¹) among all germ samples and it can be stated that samples stored at 25°C are not suitable storage temperature for wheat germ according to microbiological criteria. As a result of the heat treatment applied during the MWS method, the amount of TMAB had a decreasing tendency. During microwave applications, high-frequency waves pass quickly from the inner of food and thus heat transfer from the center to the surface takes place (Meda et al., 2017). So, the amount of energy absorbed by food and microorganisms increases in the microwave oven. Therefore, the power level of 600 W applied for 5 minutes was sufficient to reduce the amount of TMAB in this study. On the other hand, FD samples were found to be statistically different from R samples at the beginning of storage (3.46 log-cfu g⁻¹), this difference gradually closed from the 30th day. In all germ samples, the lowest TMAB value was determined in samples stored at -18°C. YMC value (Table 5) was limited completely in MWS samples because the internal temperature of the sample reached 110 °C in the oven. Although the samples of FD are found at very low temperatures and humidity levels at the beginning of storage, it has been reported that yeast spores maintain their vitality at -15 °C for 160 weeks (Çakmakçı et al., 2011). In this case, it is seen that yeast spores cannot be inhibited with the FD method. A linear increase was observed in R and FD samples during storage but the rate of increase in FD samples was less than in the R samples. It was determined that yeast-mold growth was quite rapid in samples stored at room temperature (25°C) compared to other temperatures. At the end of the storage, the highest YMC value was observed in the R sample stored at room temperature with a value of 3.13 log-cfu g⁻¹ while the YMC value in the FD sample under the same conditions was determined as 2.49 log-cfu g⁻¹.

Table 4. TMAB counts (log-kob g⁻¹) of wheat germ (n=3 ±SD)

		Storage Temperatures				
		Initial	15 th day	30 th day	60 th day	90 th day
R	-18 °C	3.81±0.14aC	3.97±0.02abC	4.11±0.04bB	4.21±0.01bC	4.72±0.19cC
	4 °C	3.81±0.14aC	4.09±0.01aC	4.39±0.19bAB	4.43±0.02bB	4.94±0.07cB
	25°C	3.81±0.14aC	4.27±0.07bC	4.66±0.13cB	4.95±0.04dC	5.39±0.04eB
MWS	-18 °C	2.75±0.05aA	3.00±0.00bA	3.33±0.04cA	3.47±0.01dA	3.64±0.06eA
	4 °C	2.75±0.05aA	3.17±0.02bA	3.41±0.04bcA	3.71±0.24cdA	3.88±0.13dAA
	25°C	2.75±0.05aA	3.44±0.00bA	3.67±0.02cA	3.87±0.08dA	4.07±0.10eA
FD	-18 °C	3.46±0.06aB	3.72±0.07bB	4.01±0.01cB	4.14±0.01dB	4.26±0.04eB
	4 °C	3.49±0.01aB	3.86±0.04bB	4.23±0.04cB	4.50±0.04dB	4.75±0.04eB
	25°C	3.46±0.06aB	4.10±0.01bB	4.39±0.08cB	4.73±0.06dB	5.20±0.04eB

^{a-e} Within each row, different superscript uppercase letters show differences between the storage days within the same analysis group ($p < 0.05$). ^{A-E} Within each column, different superscript lowercase letters show differences between treatments within the same analysis group ($p < 0.05$). R: Raw wheat germ, MWS: microwave-assisted steam drying wheat germ, FD: freeze-drying germ.

Table 5. Yeast-mould counts (log-kob g⁻¹) of wheat germ (n=3 ±SD)

		Storage Days				
		Initial	15 th day	30 th day	60 th day	90 th day
R	-18 °C	2.35±0.06aC	2.37±0.01abC	2.41±0.01abcC	2.43±0.01bcC	2.49±0.01cC
	4 °C	2.35±0.06aC	2.45±0.03bC	2.58±0.04cC	2.65±0.03cC	2.78±0.04dC
	25°C	2.35±0.06aC	2.60±0.14abC	2.70±0.14bC	2.83±0.04bC	3.13±0.07cC
MWS	-18 °C	0.00A	0.00A	0.00A	0.00A	0.00A
	4 °C	0.00A	0.00A	0.00A	0.00A	0.00A
	25°C	0.00A	0.00A	0.00A	0.00A	0.00A
FD	-18 °C	1.91±0.01aB	1.99±0.01bB	2.10±0.02cB	2.12±0.02cB	2.17±0.02dB
	4 °C	1.91±0.01aB	2.04±0.06bAB	2.11±0.01bB	2.20±0.01cB	2.28±0.02dB
	25°C	1.91±0.01aB	2.11±0.01bB	2.25±0.04cB	2.39±0.01dB	2.49±0.01eB

^{a-e} Within each row, different superscript uppercase letters show differences between the storage days within the same analysis group ($p < 0.05$). ^{A-E} Within each column, different superscript lowercase letters show differences between treatments within the same analysis group ($p < 0.05$). R: Raw wheat germ, MWS: microwave-assisted steam drying wheat germ, FD: freeze-drying germ

4. Discussion and Conclusion

In the present study, not commonly used methods MWS and FD were applied for stabilization of raw wheat germ and the effects of these methods on nutritional and microbiological quality of raw germ were discussed. While the TPC and DPPH values of samples followed the order FD>R>MWS,

the ABTS values of samples showed descending order as R>FD>MWS. In terms of microbial counts, MWS samples gave the lowest TMAB, and YMC was not detectable. The overall evaluation of the results showed that FD is an excellent method to minimize losses in bioactive compounds and antioxidant activity in wheat germ. However, it is difficult to use in industrial-scale production as it is not suitable for microbial safety. Thanks to this study, the effects of FD using as a pretreatment can be investigated following the same parameters for different cereal wastes like a germ. Our results also revealed that MWS is a more preferable and safe stabilization method and -18 °C was the most reliable temperature for the storage of stabilized wheat germ according to obtain microbially safe product. As a result, it was observed that the bioactive compounds and antioxidant capacity did not change much at different storage temperatures. Therefore, it seems that it is not necessary to store at -18°C or 4°C as it increases energy consumption in the industrial scale.

Acknowledgements

Financial support provided by Van Yuzuncu Yil University Research Fund (FDK-2017-5582) is gratefully acknowledged.

References

- Ali, S., Usman, S., Nasreen, Z., Zahra, N., Nazir, S., Yasmeen, A., & Yaseen, T. (2013). Nutritional evaluation and stabilization studies of wheat germ. *Pakistan. Journal of Food Science*, 23(3), 148-152.
- Amol B, M., Kalpana, K., & Smita S, L. (2011). Effect of gamma irradiation on total phenolic content and in vitro antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) peels. *Food and Nutrition Sciences*, 2 (5), 428-433. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.25060>
- Bae, S. H., & Suh, H. J. (2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 955-962. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.06.007>
- Bakkalbaşı, E., Yilmaz, Ö. M., Javidipour, I., & Artik, N. (2012). Effects of packaging materials, storage conditions and variety on oxidative stability of shelled walnuts. *LWT - Food Science and Technology*, 46, 203-209. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.006>
- Bilgiçli, N., Elgün, A., Herken, E. N., SelmanTürker, Ertaş, N., & Imanoğlu, Ş. (2006). Effect of wheat germ/bran addition on the chemical, nutritional and sensory quality of tarhana, a fermented wheat flour-yoghurt product. *Journal of Food Engineering*, 77 (3), 680-686. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.07.030>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brandolini, A., & Hidalgo, A. (2012). Wheat germ: Not only a by-product. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63 (S1), 71–74. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.633898>
- Çakmakçı, M.L., Karahan, A.G., & Çakır, İ. (2008). *Microbiology*. Food Technology Society, Ankara, Turkey.
- De Vasconcelos, M. C. B. M., Bennett, R., Castro, C., Cardoso, P., Saavedra, M. J., & Rosa, E. A. (2013). Study of composition, stabilization and processing of wheat germ and maize industrial by-products. *Industrial Crops and Products*, 42, 292-298. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.007>
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>
- Erim Kose, Y. (2021). Kinetic modeling of oxidation parameters and activities of lipase-lipoxygenase in wheat germ oil. Article e423 *Grasas y Aceites*, 72(3). <https://doi.org/10.3989/gya.0554201>.
- Erim Kose, Y. (2022). Degradation kinetic modeling of bioactive compounds and enzyme activity in wheat germ during stabilization. *LWT*, 112501, in press.
- Gili, R. D., Torrez Irigoyen, R. M., Penci, M. C., Giner, S. A., & Ribotta, P. D. (2018). Wheat germ thermal treatment in fluidised bed. Experimental study and mathematical modelling of the heat

- and mass transfer. *Journal of Food Engineering*, 4 (1), 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.029>
- Harrigan, W. . (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology* (3rd edition). Gulf Professional Publishing, New York.
- Jha, P. K., Kudachikar, V. B., & Kumar, S. (2013). Lipase inactivation in wheat germ by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 86, 136-139. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.01.01>
- Kırca A, & Özkan M. (2007). *Some Test and Analysis Methods for Different Purposes, Food Analyses*. Bekir Cemeroglu (Ed.). Food Technology Society, Ankara, Turkey.
- Kallithraka, S., Salacha, M.I., Tzourou, I.(2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, 113 (2) 500-505. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.083>
- Li, B., Zhao, L., Chen, H., Sun, D., Deng, B., Li, J., & Wang, F. (2016). Inactivation of lipase and lipoxygenase of wheat germ with temperature-controlled short wave infrared radiation and its effect on storage stability and quality of wheat germ oil. *PLoS ONE*, 11 (12), 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167330>
- Marti, A., Torri, L., Casiraghi, M. C., Franzetti, L., Limbo, S., Morandin, F., & Pagani, M. A. (2014). Wheat germ stabilization by heat-treatment or sourdough fermentation: Effects on dough rheology and bread properties. *LWT - Food Science and Technology*, 59, 1100-1106 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.039>
- Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, P. R., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food chemistry*, 172, 650-656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.072>
- Meda, V., Orsat, V., & Raghavan, V. (2017). Microwave heating and the dielectric properties of foods. *In The Microwave Processing of Foods: Second Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100528-6.00002-4>
- Orphanides, A., Goulas, V., & Gekas, V. (2013). Effect of drying method on the phenolic content and antioxidant capacity of spearmint. *Czech Journal of Food Sciences*, 31 (5), 509–510. <https://doi.org/10.17221/526/2012-cjfs>
- Speck M.L. (1984). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, Washington.
- Srivastava, A. K., Sudha, M. L., Baskaran, V., & Leelavathi, K. (2007). Studies on heat stabilized wheat germ and its influence on rheological characteristics of dough. *European Food Research and Technology*, 224(3), 365-372. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0317-x>
- Sudha, M. L., Srivastava, A. K., & Leelavathi, K. (2007). Studies on pasting and structural characteristics of thermally treated wheat germ. *European Food Research and Technology*, 225 (3-4), 351-357. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0422-x>
- Şanlıdere Aloğlu H. (2010). *Identification of bioactive peptides obtained from yogurt and determination of antimicrobial and antioxidant activity of these peptides*. (PhD), Suleyman Demirel University, Isparta, Turkey.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (10), 4113-4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>
- Xu, B., Zhou, S. L., Miao, W. J., Gao, C., Cai, M. J., & Dong, Y. (2013). Study on the stabilization effect of continuous microwave on wheat germ. *Journal of Food Engineering*, 117 (1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.031>
- Zhu, K. X., Lian, C. X., Guo, X. N., Peng, W., & Zhou, H. M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126 (3), 1122-1126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.144>
- Zou, Y., Gao, Y., He, H., & Yang, T. (2018). Effect of roasting on physico-chemical properties, antioxidant capacity, and oxidative stability of wheat germ oil. *LWT*, 90, 246-253. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.038>

