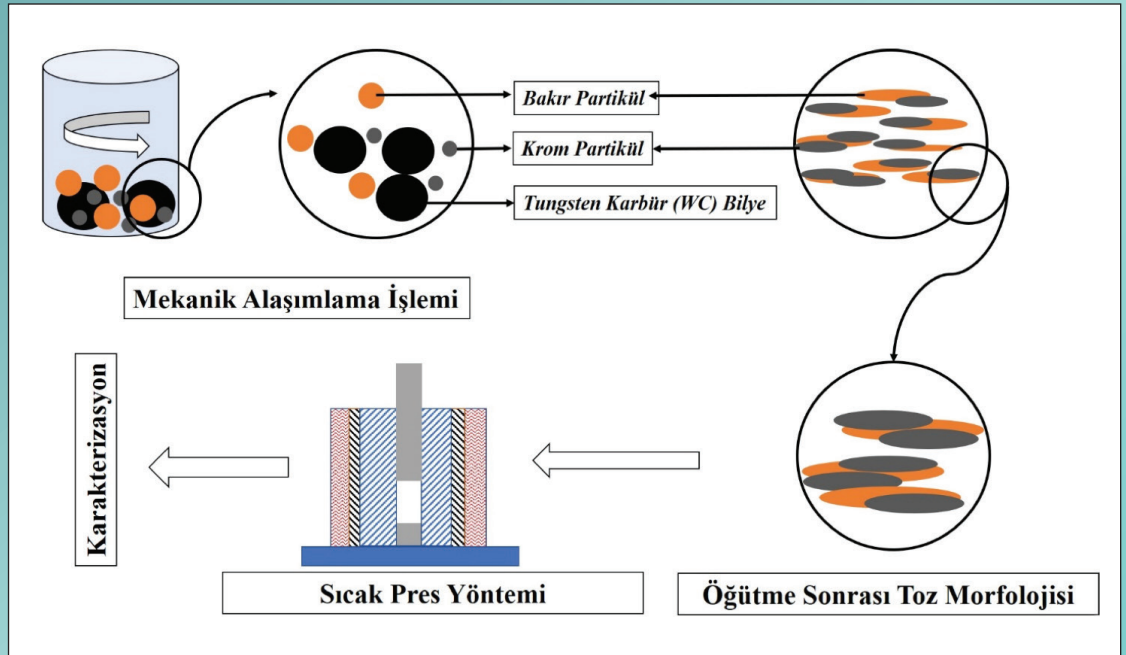




# Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tarafından Yayınlanmaktadır  
Published by the Zonguldak Bülent Ecevit University

Karaelmas Science and Engineering Journal



- $\text{TiO}_2$  Katkılı Elmas-Benzeri Karbon Filmlerin Yeni Bir Çözeltiden Üretilmesi ve Karakterizasyonları
- An Analytical Solution to Conformable Fractional Fokker-Planck Equation
- $\text{Ni}_N$  ( $N=6-55$ ) Kümelerinin Geometrik Büyümesi ile Erime Davranışı İlişkinin İncelenmesi
- İçme Suyu Kaynaklarının Klor ve Klor Dioksit ile Dezenfeksiyonu Sonucu Meydana Gelen Dezenfeksiyon Yan Ürünleri Oluşumunun Araştırılması: İstanbul Örneği
- *Callinectes sapidus*'un (Mavi Yengeç) Hepatopankreas Esteraz (E. C. 3.1.1.1) Aktivitesine Metal İyonlarının ( $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ) *in Vitro* Etkilerinin Belirlenmesi
- Nano Ozonized Oil Trigger ROS Production and  $\gamma\text{H2AX}$  Cell Positivity of B-16 Melanoma and OV-90 Ovarian Cells
- Sıcak Presleme Yöntemi ile Üretilen Cu-Cr Alaşımlarının Sertlik ve Elektriksel İletkenlik Özellikleri Üzerine Mekanik Alaşımlama Süresinin Etkisi
- Cross-linking of PVC by Various Lengths of PEG via "Click" Chemistry
- Determination of Critical Relative Humidity of Construction Materials for Mold Growth by Experimental Study
- Yeni Nesil Yüksek Güçlü IGBT'ler için Dinamik Modelleme ve Deneysel Doğrulama
- Determination of Total Phenol Contents, Antibacterial and Antioxidant Activity of Some Mosses Species
- Levamizolün Model Organizma *Galleria mellonella*'nın Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi
- *Drosophila*: A Promising Model for Evaluating the Toxicity of Environmental Pollutants

Cilt / Volume: 12  
Sayı / Number: 1  
Aralık/December 2022

ISSN: 2146-4987  
E-ISSN: 2146-7277

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>



## Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi

Dergi web sayfası: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Yayın Organı

*Official Journal of Zonguldak Bülent Ecevit University*

<b>Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Adına Sahibi</b> <i>Owner on behalf of Zonguldak Bülent Ecevit University</i>	İsmail Hakkı ÖZÖLÇER Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Rektörü
<b>Editör/Editor</b>	Kemal BÜYÜKGÜZEL Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Rektör Yardımcısı
<b>Sorumlu Müdür/Publishing Manager</b>	Yasin HAZER Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
<b>Yönetim Yeri/Head Office</b>	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Dekanlığı, 67100, İncivez, Zonguldak
<b>Redaksiyon ve Teknik Destek/</b> <i>Redaction and Technical Support</i>	Salih ERDEM Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi
<b>Yazışma Adresi/Correspondence Address</b>	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Yeni Bina, İncivez, 67100, Zonguldak Tel : +90 372 291 11 00 Faks: +90 372 257 41 81
<b>İnternet Adresi/Web Address</b>	<a href="https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen">https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen</a>
<b>Yayınevi/Publishing House</b>	Buluş Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri, Bahriye Üçok Cad. 9/1 06500 Beşevler, Ankara, Tel: +90 312 222 44 06 Faks: +90 312 222 44 07 <a href="http://www.bulustasarim.com.tr">www.bulustasarim.com.tr</a>
<b>Yayın Türü/Publication Type</b>	Yerel Süreli / <i>Periodical</i> Yılda iki sayı yayımlanır: Haziran, Aralık <i>Published two issues per year: June, December</i> ISSN: 2146-4987

Bu dergideki yazıların dergi standartlarına uygunluğunun kontrolü, dizimi, derginin yayıma hazır hale getirilmesi BULUŞ Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri San.Tic. tarafından gerçekleştirilmiştir.

*Review of the articles in the journal to make sure they conform to publishing standards, typesetting, getting the journal ready for publication and finally the publishing process has been the responsibility of Buluş Design and Printing Services Company.*

**Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi**Dergi web sayfası: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

Yılda iki sayı yayımlanır

Published two issues per year



<b>Editör</b> <i>Editor</i>	Kemal BÜYÜKGÜZEL	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University</i>
<b>Yardımcı Editörler</b> <i>Associate Editors</i>	Şenol ALAN Rıdvan BALDIK Mehmet GÜMÜŞ Yasin HAZER Memduh KARALAR Hakan KAYA Tolga ACUN Salih ERDEM Melih GENİŞ Seda TIĞLI AYDIN Soner ÇAKAR Gökhan BAYAR Okan ERKAYMAZ Ümran ALAN Nazım KUNDURACI Rukiye UZUN Hüseyin TOPAN Nizamettin ÖZDOĞAN	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University</i>
<b>İngilizce Redaksiyon</b> <i>English Redaction</i>	Mehmet GÜMÜŞ	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University</i>
<b>Sorumlu Müdür</b> <i>Publishing Manager</i>	Yasin HAZER	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University</i>
<b>Uluslararası Yayın Kurulu</b> <i>International Editorial Board</i>	Ferhan ATICI Martin BOHNER Şahnaz BOLKENT Kemal BÜYÜKGÜZEL Suna CEBESOY Neil CUMBERLIDGE Enver DURMUŞOĞLU Ten FEIZI Melih GENİŞ Nursel GÜL Haluk GÜVEN Baki HAZER Akira HIRAO Remzi KARAGÜZEL Mehmet KARATAŞ Figen KAYA Türkan KOPAÇ Per Nicolai MARTENS Boris NATALIN Ahmet ÖZASLAN Mahmut ÖZER İsmail Hakkı ÖZÖLÇER Münevver PINAR Rafat SIDDIQUE Mustafa SÖZEN David W. STANLEY Umut TOPRAK Claude TOUZET Mehmet YAMAN Yılmaz YILDIRIM İskender YILGÖR	Western Kentucky University, United States Missouri University of Science and Technology, United States İstanbul University, İstanbul, Turkey Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey Ankara University, Ankara, Turkey Northern Michigan University, Michigan, United States Ege University, İzmir, Turkey Imperial College London, United Kingdom Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey Ankara University, Ankara, Turkey Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey Kapadokya University, Nevşehir, Turkey Tokyo Institute of Technology, Japan İstanbul Technical University, İstanbul, Turkey Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey Yıldız Technical University, İstanbul, Turkey Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey RWTH Aachen University, Germany İstanbul Technical University, İstanbul, Turkey Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, Turkey Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey Ankara University, Ankara, Turkey Civil Engineering Thapar University, Paitala (Punjab), India Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey Agricultural Research Service-USDA, United States Ankara University, Ankara, Turkey University of Provence, Marseille Cedex, France Bolu İzzet Baysal University, Bolu, Turkey Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey Koç University, İstanbul, Turkey



## AMAÇ ve KAPSAM

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>), Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi'nin resmi yayın organıdır.

Derginin amacı, Fen Bilimleri, Temel Sağlık Bilimleri ve Mühendislik Bilimleri alanlarında yapılan özgün araştırma makaleleri, derlemeler, kısa makaleler, teknik not, kitap eleştirileri ve bilimsel nitelikli editöre mektupları yayınlayan uluslar arası ve saygın bilimsel bir dergi olmaktır.

Bu dergide yayınlanan makaleler, bağımsız ve önyargısız çift-körleme hakemlik (peer-review) ilkeleri doğrultusunda bir danışma kurulu tarafından değerlendirilir. Makaleler başlıca altı kategoride yayımlanır: (1) "Araştırma Makaleleri", (2) "Derleme Makaleler", (3) "Kısa Makaleler", (4) "Teknik Not ve Vaka Takdimleri", (5) "Editöre Mektuplar", (6) "Kitap ve Yazılım Programı Eleştirileri". Makaleler Türkçe veya İngilizce dillerinde yazılabilir; İngilizce veya Türkçe Özetler ile anahtar sözcükler içermelidir.

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, Haziran ve Aralık aylarında olmak üzere yılda iki kez yayınlanmaktadır ve <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen> internet adresi üzerinden takip edilebilir.

### Yayın İzni

Bireysel kullanım dışında, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi'nde yayımlanan makaleler, şekiller ve çizelgeler yazılı izni olmaksızın çoğal-

tılamaz, bir sistemde arşivlenemez veya reklam ya da tanıtım amaçlı materyallerde kullanılamaz.

Bilimsel makalelerde, uygun şekilde kaynak gösterilerek alıntı yapılabilir.

### Abone İşlemleri

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, Üniversite Kütüphanelerine ve bilim insanlarına düzenli olarak ulaştırılmaktadır. Yayımlanan makalelerin tam metnine, çizelgelerine ve özetlerine çevrim-içi olarak <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen> adresinden ücretsiz olarak erişilebilmektedir.

### Yazıların Bilimsel ve Hukuki Sorumluluğu

Yayımlanan yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir. Yazıların içeriğinden ve kaynakların doğruluğundan yazarlar sorumludur. Editör, Yardımcı Editörler, Yayın ve Danışma Kurulu üyeleri ve Yayımcı, dergideki hatalardan veya bilgilerin kullanımından doğacak olan sonuçlardan dolayı sorumluluk kabul etmez.

Yazarlarımızın etik ihlalleri ile ilgili tüm iddia ve kesinleşmiş süreçler kendi sorumluluklarında olup, kesinleşen etik ihlalleri durumunda makale otomatik iptal edilir.

## AIMS and SCOPE

Karaelmas Science and Engineering Journal (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>), is the official journal of Zonguldak Bülent Ecevit University.

The journal's aim is to be scientific journal publishing original papers, reviews, short communications, technical notes and scientific editorial letters of science in the following areas: basic sciences, basic medicine science and engineering fields.

Articles submitted to this journal are evaluated in a double blinded peer-reviewed fashion by an advisory committee. Articles are published mainly in six categories: (1) "Research articles", (2) "Review Articles", (3) "Short Communications", (4) "Technical Notes and Case Reports", (5) "Letters to the Editor" and (6) "Book/Software Reviews". All articles may be written in Turkish or English, and should include English and Turkish abstracts and key words.

Karaelmas Science and Engineering Journal is published two issues per year in June and December.

The journal has also been available on-line by a website: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

### Permission Requests

Manuscripts, figures and tables published in the Karaelmas Science and

Engineering Journal cannot be reproduced, archived in a retrieval system, or used for advertising purposes, except personal use.

Quotations may be used in scientific articles with proper referral.

### Subscriptions

Karaelmas Science and Engineering Journal is delivered complimentary to University Library and scientists Tables of contents, abstracts and full texts of all articles published are accessible free of charge through the web site <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

### Material Disclaimer

Scientific and legal responsibilities pertaining to the papers belong to the authors. Contents of the manuscripts and accuracy of references are also at the authors' responsibility. Editor, Associate Editors, Editorial and Advisory Board members and the Publisher decline responsibility for errors or any consequences arising from the use of information contained in this journal.

All claims and finalized processes regarding violations of ethics by our authors are under their own responsibility, and in case of ethical violations, the article is automatically canceled.





## YAZARLARA BİLGİLER

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, Fen Bilimleri, Temel Sağlık Bilimleri ve Mühendislik Bilimleri alanlarında yapılan özgün araştırma makaleleri, derlemeler, kısa makaleler, teknik not, kitap eleştirileri ve bilimsel nitelikli editöre mektupları yayınlayan uluslararası bir dergidir. Aralık ve Haziran aylarında olmak üzere yılda iki kez yayınlanır. Dergi, <http://fbd.beun.edu.tr> internet adresi üzerinden takip edilebilir.

Dergide yayınlanacak makale türleri aşağıdaki gibidir.

**Araştırma makalesi:** Makale mutlaka orijinal ve daha önce hiç bir dergide basılmamış veya sunulmamış olmalı, tablo ve şekiller dahil 20 sayfayı geçmemelidir.

**Derlemeler:** Herhangi bir araştırma alanındaki son yıllarda yaşanan gelişmeleri ve bu konuda son yıllarda yapılmış çalışmaların bir araya getirildiği makale türüdür. 15 sayfayı geçmemelidir.

**Kısa makaleler:** Küçük çapta yapılan çalışmalar, orijinal araştırma deneylerinin ön sonuçlarından, yeni buluşlar ve klinik deneylerden oluşmalı ve 5 sayfayı geçmemelidir.

**Teknik notlar, Olgu sunumları:** Bilimsel olarak önemli katkı sunan raporlardan oluşmalı ve 3 sayfayı geçmemelidir.

**Editöre mektuplar:** Herhangi bir araştırma konusuna ait fikirler, haberleri, önerileri kapsamaludur ve 2 sayfayı geçmemelidir.

**Kitap veya yazılım programlarına ait eleştiriler:** Kitap veya yazılım programı hakkındaki kısa ve özet bilgileri içermelidir ve 1 sayfayı geçmemelidir.

### YAYIN KURALLARI

Dergide yayınlanacak makalelerin yazım dili Türkçe veya İngilizcedir. Yazım kurallarına uymayan makaleler, hakemlere gönderilmeden düzeltilmek üzere yazara geri gönderilir. Bu nedenle derginin yazım kuralları dikkate alınmalıdır. Makaleler şekiller ve çizelgeler dahil 20 sayfayı geçmemelidir. Dergiye yayın için gönderilen makaleler iki uzman hakem tarafından değerlendirilir ve yayınlanmasına editör tarafından karar verilir. Dergiye gönderilen yazılar başka bir yerde yayınlanmamış veya yayınlamak üzere gönderilmemiş olmalıdır. Dergide yayınlanmak üzere kabul edilmiş olan yazıların yayın hakları Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisine aittir. Düzeltilmiş yazılar 3 ay içerisinde editöre gönderilecektir.

### DEĞERLENDİRME SÜRECİ

Dergi yönergelerine uymayan yazılar, bilimsel değerlendirme yapılmadan yazarlara iade edilecektir. Dergi yönergelerine uygun olarak gönderilen makaleler, onları hakemlere atayacak olan Baş Editör veya Yardımcı Editör tarafından incelenir. İnceleme süreci tek kördür. Hakem önerileri, alan editörlerinin görüşleri ve yayının literatüre katkısı doğrultusunda Editör karar mektubunu yazar. İncelenmemiş tüm yazılar 10 gün içinde geri gönderilir ve yazıların karar mektupları 3-6 ay içinde gönderilir.

Makalelerdeki tüm değişiklikler yazarları tarafından yapılır. Son şekli verilen ve yayına hazırlanan makaleler üzerinde yazarlarca bir değişiklik

yapılamaz. Her ne nedenle olursa olsun makalesinin yayınlanmasından vazgeçen bir yazar, makalesini dergiye sunum tarihinden itibaren en fazla iki ay içerisinde çekebilir. Hayvan deneylerinde etik kurul izin belgesi gereklidir.

### MAKALE SUNUMU

Makaleler elektronik ortamda sunulacaktır.

### YAZIM KURALLARI

- Makale A4 boyutlu kağıda, tek yüze, tüm kenarlardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, çift satır aralıklı yazılmalıdır.
- Yazım biçimi, Times New Roman yazı tipi ve 12 punto büyüklüğünde Microsoft Word Processor kullanılarak hazırlanmalıdır. Tamamı siyah-beyaz renkte olmalıdır (şekil ve çizelgeler dahil).
- Satır başları numaralandırılmalıdır. Sayfa numaraları, sayfaların alt orta bölümlerine konmalıdır.
- Makalenin ana bölümleri, Türkçe Öz, İngilizce Öz (Abstract), Giriş, Gereç ve Yöntem/Yöntemler (Saha tanımlamaları, çalışılan malzeme v.d. Yöntemler kısmının altında alt başlık olarak verilmelidir), Sonuçlar, Tartışma/Sonuçlar ve Öneriler, Teşekkür ve Kaynaklardan oluşur. Öz hariç bütün bölümler numaralandırılmalıdır.
- Latince isimler italik olarak yazılmalıdır.

**Kapak Sayfası:** Yazının ayrı word dosyası olarak bir başlık sayfası olmalıdır; başlık; tüm yazarın tam adı, kurumlar ve ORCID ID'leri; sorumlu yazarın iletişim adresi ve e-posta adresi.

### Kapak Yazısı Planı:

- Türkçe ve İngilizce başlık
- Yazar adları ve adresleri
- Sorumlu yazarın adı, adresi ve e-posta adresi
- Kısa başlık
- Tüm yazarların ODCID numaraları

**Başlık:** Metne uygun kısa ve anlaşılır olmalıdır. Ortalanmış olarak, sadece ilk harfi büyük sonrakiler küçük, 14 punto ve koyu olmalıdır.

**Yazar adları ve adresleri:** Başlığın altındaki yazar isimleri kısaltmasız, adı ve soyadı (varsa ikinci ismi veya soy ismi) küçük harf ile ortalanmış olarak 12 punto ve koyu yazı karakteri ile yazılmalıdır. Yazar isimlerinden sonra adres belirtmek için üst simge olarak rakam kullanılmalıdır (<sup>1 2 3</sup> gibi). Sorumlu yazar isminde yıldız sembolü olmalıdır (\*). Yazarların tam adresleri küçük harfle, ortalı ve 10 punto olarak yazılmalı, Üniversite, Fakülte, Bölüm ve Şehir belirtilmelidir. Sorumlu yazarın e-posta adresi, adresinin sonunda mutlaka verilmelidir.

**Öz ve Anahtar Kelimeler:** Özetler 10 punto ile yazılmalı ve 250 kelimeyi geçmemelidir.

Türkçe ve İngilizce özetin altında 2-6 kelimedenden oluşan Anahtar kelimeler yazılmalıdır.

**Özet Sayfasının Planı**

## 1. Türkçe makalelerde

- |                     |   |
|---------------------|---|
| a) Türkçe Başlık    | f) Öz                                     |
| b) İngilizce Başlık | g) Anahtar Kelimeler                      |
| c) Yazar Adları     | h) İngilizce Abstract                     |
| d) Orcid id         | i) İngilizce Anahtar Kelimeler (Keywords) |
| e) Adres(ler)       |   |

## 2. İngilizce makalelerde

- |                         |                      |
|-------------------------|----------------------|
| a) İngilizce Başlık     | f) Abstract          |
| b) Türkçe Başlık        | g) Keywords          |
| c) Yazar Adları         | h) Öz                |
| d) Orcid id             | i) Anahtar Kelimeler |
| e) İngilizce Adres(ler) |                      |

**Tam Metin:** Makaledeki ana başlıklar ve varsa alt başlıklar anlaşılır olmalıdır. Ana metin başlıkları sola yanaşık, baş harfi büyük, 12 punto ve koyu renkli olmalıdır. Alt başlıklar 10 punto, küçük ve italik yazılmalıdır.

**Giriş:** Araştırmanın amacı, önemi ve konusunda yapılmış yayınlar arasındaki yeri belirtilmelidir.

**Gereç ve Yöntem/Yöntemler:** Uygulanan yöntemler ve teknikler anlaşılır bir şekilde verilmelidir.

**Sonuçlar:** Bu bölümde elde edilen bulgulara (sonuçlara) yer verilmeli, sonuçlar gerekirse şekil ve çizelgelerle de desteklenmelidir.

**Tartışma:** Elde edilen bulgular ilgili literatürlerle karşılaştırılmalıdır. Sonuçların benzer ve farklılıkları yorumlanarak, çalışmadan elde edilen bulgular özetlenmelidir.

**Teşekkür:** Araştırmaya destek olan kişi ve kuruluşlara yapılan teşekkürleri içermelidir.

Her türlü çıkar çatışması, finansal destek, yazarların katkı beyanı, bağış ve diğer editöryal (istatistik analiz, İngilizce/Türkçe değerlendirme) ve/veya teknik yardım var ise metnin sonunda sunulmalıdır.

**Kaynaklar:** Yayınlanmamış bilgiler kaynak olarak verilmemelidir. Ancak, tamamlanmış ve jüriden geçmiş tezler kaynak olarak verilebilir. Kaynaklar, makale sonunda alfabetik sırada (yazar soyadlarına göre) verilmeli, yazar adı ve soyadları, makalenin basım tarihi koyu olarak yazılmalıdır.

Kaynakların metin içerisindeki kullanımı aşağıda verilmiştir:

**1. Türkçe Makalelerde:**

Tek yazarlı çalışma (Reşat 2001, Landen 2002).

İki yazarlı çalışma (Aydan ve Geniş 2008, Stanley ve Tunaz 1999, Büyükgüzel ve Yazgan 2002) şeklinde belirtilmelidir. Üç ve daha fazla yazar söz konusu ise, (Kuşçu vd. 2002, Yılmaz vd. 2007) şeklinde, aynı yazarın birden fazla makalesi kullanılacaksa (Simith vd. 1995a, b, 1997) şeklinde olmalıdır. Herhangi bir kaynaktan alıntı yapılmışsa: Aydan ve Geniş (2008)'e göre.....şeklinde olmuştur; Yılmaz vd. (2007)'e göre; diye yazılmalıdır.

**2. İngilizce Makalelerde:**

Tek yazarlı çalışma (Landen 2002).

İki yazarlı çalışma (Anderson and Pratt 2002, Büyükgüzel and Yazgan 2002). Herhangi bir kaynaktan alıntı yapılmışsa Ünlü and Gerçek (2003)'e göre...şeklinde, diye belirtilmelidir.

Üç ve daha fazla yazardan oluşan çalışmalar (Evans et al. 2001, Landen et al. 2004) şeklinde olmalıdır. Alıntı yapılacaksa Landen et al. (2002)'ye göre; diye yazılmalıdır.

Kaynak gösterilecek yayında kaç isim varsa, kaynaklar bölümünde tümü belirtilmeli, kısaltma yapılmamalıdır.

Türkçe ve İngilizce makalelerde, yazılım programları metin içerisinde ismi ve yılı belirtilerek (PROC GLM, SAS Institute 1999) şeklinde verilmelidir.

Kaynakların metin sonunda verilmiş şekilleri aşağıdaki gibidir:

**Makale:**

**Büyükgüzel, K., Yazgan, Ş. 1996.** Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın yaşama ve gelişimine etkileri. *Turk. J. Zool.*, 20:1-7.

**Özer, M., Perc, M., Uzuntarla, M. 2009.** Stochastic resonance on Newman-Watts networks of Hodgkin-Huxley neurons with local periodic driving. *Phys. Let. A*, 373 : 964-968.

**Kitap:**

**Reşat, U. 2001.** Uygulamalı Jeoteknik Bilgiler. 4. Basım, TMMOB Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları, Nitelik Matbaacılık, Ankara, 385 s.

**Sanford, R.J. 2003.** Principles of fracture mechanics, Prentice Hall, Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, USA, 404 pp.

**Kitapta Bölüm:**

**Cheeseman, K.H. 1993.** Lipid peroxidation in biological systems. In: B. Halliwell, O.I. Auroma [eds.], DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, London, pp. 12-17.

**Rapor:**

**Makarewicz, J.C., Lewis, T., Bertram, P. 1995.** Epilimnetic phytoplankton and zooplankton biomass and species composition in Lake Michigan, 1983-1992. U.S. EPA Great Lakes National Program, Chicago, IL. EPA 905-R-95-009.

**Kongre, Sempozyum:**

**Kuşçu, Ş., Azar A., Kısa, A. 1997.** Arşiv bilgi ve belgelerinden yararlanılarak grafik kadastronun sayısallaştırılması ve bir uygulamanın sonuçları. 6. *Harita Kurultayı*, s. 211-222, Ankara.

**Kaplan, A. 2000.** Ankara havasında bulunan biyolojik partiküller. XV. Ulusal Biyoloji Kongresi, s. 45-50, Ankara.

**İnternet:**

Eğer bir bilgi herhangi bir internet sayfasından alınmış ise (internette alın ve dergilerde yayınlanan makaleler hariç), kaynaklar bölümüne internet sitesinin ismi ve konu başlığı tam olarak yazılmalıdır.

**Anonim web sayfası:**

**Leafy seadragons and weedy seadragons. 2001.** <http://www.windspeed.net.au/jenny/seadragons/>

**Yazarlı web sayfası:**

**Dawson, J., Smith, L. Deubert, K. 31 Ekim 2002.** <http://studytrekk.lis.curtin.edu.au/> şeklinde belirtilmelidir.

**Baskıda olan makale:**

**Evans, MA. 2002.** Makale başlığı. *Dergi.* (baskıda).

**Tezler:**

**Özcan, A. 2006.** Endüstriyel atıklar ve polipropilen lif içeren saha betonlarının özelliklerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 70 s.*

**Yazılım:**

**SAS Institute. 2001.** PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute. Cary, NC.

**Çizelgeler ve Şekiller:** Tüm şekil ve çizelgeler makale içerisinde sırayla numaralandırılmalı (Çizelge 1., Şekil 1., Çizelge 2 ve 3, Şekil 2 ve 3; Şekil 4., Çizelge 2.), şekillerin sıra numaraları ve başlıkları altta, çizelgelerinki ise üstlerine yazılmalıdır. Grafik ve şekiller sayfa boyutları dikkate alınarak çizilmelidir. Çizelge ve şekillerin başlık ve açıklamaları, Kaynaklardan sonra ayrı sayfalar halinde Çizelgeler dizini ve Şekiller dizini olarak hazırlanmalıdır. Açıklamalardan sonra ayrı sayfalar halinde çizelge ve şekiller verilmelidir. Grafikler, çizimler ve fotoğraflar JPEG ya da TIFF formatında (en az 600 dpi çözünürlükte) siyah-beyaz veya renkli olarak sunulmalıdır. Fotoğraflarda büyütme göstermek için mutlaka bar kullanılmalıdır.

Çizelgede verilecek olan verilerde standart sapma veya standart hatalar (1.42 ± 1.36) şeklinde, istatistiksel analiz yapılmışsa (731.2ab) şeklinde, bunların başlık olarak yazılış şekilleri de (ort ± SE; ort ± SD, vb.) gibi olmalıdır.

**Denklemler:** Matematiksel ifadeler "Equation Editör" (word ortamında) kullanılarak 9 punto ve alt ve üst indisler 8 punto yazılmalıdır. Metin içerisinde geçen eşitlikler normal parantez ( ) içerisinde numaralandırılmalıdır. Denklem sıra numarası ile birlikte (parantez içerisinde) yazılmalıdır.

**Matematiksel denklemlerdeki eşitlikler:**

$R = A_{\text{barrytype}} + B \log_{10}(f)$  (2) şeklinde olmalıdır.

**Eklr:** Tüm eklr ayrı sayfaya yazılmalı ve Romen rakamları ile numaralandırılmalıdır.

Matematik dalında yayın gönderecek yazarların konu sınıflandırma numarasını (AMS-Mathematical Subject Classification Number) belirtmeleri gerekir.

**Semboller ve Birimler:** Metrik sistem veya SI birimleri (kPa, kN/m<sup>3</sup>, g/cm<sup>2</sup>, m/sn, g/m<sup>3</sup>, v.b.) kullanılmalıdır. Gerek metin içinde ve çizelgelerde, gerekse şekillerde rakamların ondalık bölümlerinin belirtilmesi için nokta kullanılmalıdır (10.25 gibi). Yüzdeler (%50) şeklinde belirtilmelidir.

**Kısaltmalar:** Zamanla ilgili olan kısaltmalar: sa (saat), dk (dakika), sn (saniye), y (yıl), hf (hafta) olarak belirtilmelidir. Tarihler verilirken gün ay ve yıl kısaltma yapmadan tam olarak yazılmalıdır (23 Ocak 2007).

**Sayılar:** Sayılar cümle başlarında yazı ile verilmelidir. Birden dokuza kadar olan sayılar yazı ile, 10 ve daha büyük sayılar rakamla

belirtilmelidir. Birden küçük olan sayılar (0.05, 0.56, 0.50, P < 0.05, v.b.) olarak belirtilmelidir. Binden büyük sayılarda yüzden sonra olan kısımlar virgülle ayrılmalıdır (100,000).

**Dipnotlar:** Çizelgede kullanılacak olan dipnotlar istatistiksel analiz yapıldığı durumlarda (\*P<0.05; \*\* P<0.01; \*\*\* P<0.001; NS, istatistiksel olarak önemsizdir, v.b.) şeklinde olmalıdır.

Derginin bir sayısında, ilk isim olarak bir yazarın üçten fazla eseri basılamaz. Dönemler içerisinde üçten fazla eser gönderilmişse, ilk üçü dışında kalanlar daha sonraki sayılara aktarılır.

Matematik ve ilgili konular için makalenin hazırlanması şu şekilde olmalıdır:

Makalenin ilk sayfasında, Matematik Reviews yıllık dizini itibaren en az bir 2010 MSC (Matematik Konu Sınıflandırması) numaralarını içermelidir. MSC Konu Sınıflandırması <http://www.ams.org/math-scinet/msc/msc2010.html> adresinden temin edilebilir.

Kaynaklar bölümünde, yazarların soy isimleri alfabetik sıraya göre dizilmeli ve numaralandırılmalıdır [1],[2],..gibi. Metin içerisinde kaynak numaraları köşeli parantez içerisinde alınmalıdır, [23] veya [12]-[15] gibi. Formül numaralarını ayırt etmek için, yuvarlak parantez içinde tırnak içerisinde alınmalıdır. Yukarıdaki şartları sağlamayan yayınlar değerlendirmeye alınmaz.

**Makale Yazım Kontrol Listesi**

Makale dergiye sunulmadan önce makalenin yazım kurallarına uygun olup olmadığından emin olmak için aşağıda belirtilen kontrolleri yapınız.

- Başlık sayfası eklendi mi?
- İmla ve dilbilgisi kontrolü yapıldı mı?
- Tüm sayfa düzeni çift aralıklı yazıldı mı?
- Köşelerden 2.5 cm boşluk bırakıldı mı?
- Yazı tipi Times new roman ve büyüklüğü 12 punto mu?
- Metin içerisindeki başlıklar sola yanaşık, 12 punto ve koyu renkli yazıldı mı?
- Tüm yazarların adları ve soyadları kısaltma yapılmadan belirtildi mi?
- Adresler belirtildi mi?
- Başlık 14 punto koyu yazı karakteri ile ortalanarak yazıldı mı?
- Türkçe Öz ve Anahtar Kelimeler yazıldı mı?
- İngilizce Abstract ve Keywords verildi mi?
- Kaynaklar yazım kurallarına göre ve alfabetik sırayla yazıldı mı?
- Ondalık dilimler nokta ile belirtildi mi? (10.25 gibi)
- Yüzdeler gösterimler (%63, %10 gibi) şeklinde yapıldı mı?
- Çizelgelerin maksimum boyutu 16x20 cm; minimum 8 cm mi?
- Çizelgeler makale içerisinde sırayla verildi mi?
- Orijinal şekiller eklendi mi?
- Şekiller yazım kurallarına uygun olarak düzenlendi mi?
- Şekillerin maksimum boyutu 16x20 cm; minimum 8 cm mi?
- Şekiller makale içerisinde sırayla verildi mi?
- Çizelgeler ve Şekiller Dizini ayrı sayfalarda verildi mi?
- Tüm sayfa ve satırlara numara verildi mi?



## ETİK KURALLAR

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesinin yayın organı olan Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi ulusal ve uluslararası tüm kurum ve kişilere ücretsiz olarak ulaşmayı hedefleyen hakemli bir dergidir.

Dergimize gönderilen bilimsel yazılarda, ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) tavsiyeleri ile COPE (Committee on Publication Ethics)'un Editör ve Yazarlar için Uluslararası Standartları dikkate alınmaktadır.

**Yazarlarımızın etik ihlalleri ile ilgili tüm iddia ve kesinleşmiş süreçler kendi sorumluluklarında olup, kesinleşen etik ihlalleri durumunda makale otomatik iptal edilir.**

### Hakemler İçin Etik Kurallar

Hakemler;

- Değerlendirdiği yazıların gizliliğine saygı gösterir ve makaleyi tartışmaz veya yazı hakkında başka herhangi bir kişiyle iletişim kurmaz.
- Olası bir çıkar çatışması olduğunda editörü konu hakkında bilgilendirir.
- Önerileri için nesnel ve yapıcı bir açıklama sağlar.
- Makaleye ilişkin kararlarının konudan veya yazarlık biçiminden etkilenmesine izin vermez.
- Güçlü bir bilimsel gerekçe olmadıkça yazarın kendi makalelerini belirtmesini istemez.
- Yazarlar tarafından yayınlanmadan önce kendi çalışmalarının hiçbirinde incelenen makalenin herhangi bir bölümünü veya bilgiyi çoğaltmaz.
- Hakem değerlendirmelerini sadece uzmanlıkları dahilinde ve makul bir süre içinde kabul etmeyi kabul eder.
- Yazının yayına çıkmasını geciktirecek ertelemeler yapmaz.
- Hakaret, düşmanca veya küçük düşürücü bir dil kullanmaz.
- Gönderilen makaleleri ve ilgili tüm materyalleri inceledikten sonra imha eder.

[https://publicationethics.org/files/Ethical\\_guidelines\\_for\\_peer\\_reviewers\\_0.pdf](https://publicationethics.org/files/Ethical_guidelines_for_peer_reviewers_0.pdf)

### Yazarlar İçin Etik Kurallar

Yazarlar ve yardımcı yazarlar;

- International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) tarafından belirtilen yazar kriterlerine uygunluk sağlanır;
  - a. Eserin tasarımına veya tasarımına önemli katkılar sağlayan verilerin elde edilmesi, analizi veya yorumlanması
  - b. Çalışmanın hazırlanması veya literatürün içerik için eleştirel olarak gözden geçirilmesi
  - c. Yayınlanacak versiyonun nihai onayı

d. Çalışmanın herhangi bir bölümünün doğruluğu veya bütünlüğü ile ilgili soruların uygun şekilde soruşturulup çözülmesini sağlamada, çalışmanın tüm yönlerinden sorumlu olacak anlaşma.

- Gönderilen makaleler yazar(lar)ın özgün çalışması olmalıdır ve eşzamanlı olarak farklı yayıncılara gönderilmemelidir
- Yazar(lar) araştırma önerisinde, icrasında ya da araştırma sonuçlarını raporlarken araştırma suiistimali olarak tanımlanan uydurma, tahrifat ya da intihalden sorumludur.
- Gönderilen makalelerde çıkar çatışması varsa editöre bilgi verilmelidir
- Gönderilen makalelerde ön kontrol, değerlendirme süreci ya da yayınlanmış olan sürümünde yazar veya yardımcı yazarlar tarafından hata fark edilirse bilgi vermek, düzeltmek ya da geri çekmek için editörü bilgilendirmelidir.
- Makale gönderildikten sonra yazar sıralamaları ve yazar eklemeli çıkartmaları önerilmemelidir
- Yazar(lar), etik kurul kararı gerektiren araştırmalar için etik kurul onayı aldığını; etik kurul adı, karar tarihi ve sayısı aday makalenin ilk-son sayfasında ve yöntem bölümünde belirtmeli, etik kurul kararını gösteren belgeyi makalenin başvurusuyla birlikte sisteme yüklemelidir.
- Yazarlar olgu sunumlarında olur/onam formunun alındığına ilişkin bilgiye makalede yer vermemelidir.
- Kullanılan fikir ve sanat eserleri için telif hakları düzenlemelerine riayet edilmesi gerekmektedir.
- Makale sonunda; Araştırmacıların Katkı Oranı beyanı, varsa Destek ve Teşekkür Beyanı, Çatışma Beyanı verilmelidir.

<http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>

<https://www.ease.org.uk/wp-content/uploads/2018/11/doi.10.20316.ESE.2018.44.e1.tr.pdf>

### Editörler İçin Etik Kurallar

Editörler:

- Okuyucular, araştırmayı veya diğer bilimsel çalışmaları kimin finanse ettiği ve fon verenlerin araştırmada ve yayınlanmasında herhangi bir rolü olup olmadığı ve eğer öyleyse bunun ne olduğu konusunda bilgilendirilmelidir.
- Editörlerin yayın için bir makaleyi kabul etme veya reddetme kararları, makalenin önemi, özgünlüğü ve netliği ile çalışmanın geçerliliği ve derginin görev alanına uygunluğuna dayanmalıdır.
- Editörler, gönderimle ilgili ciddi sorunlar tespit edilmedikçe, gönderimleri kabul etme kararlarını tersine çevirmemelidir.
- Yeni editörler, bir önceki editör tarafından yapılan başvuruları yayınlama kararlarını bozmamalıdır ciddi sorunlar tespit edilmedikçe.





- Hakem değerlendirmesi süreçlerinin bir açıklaması yayınlanmalı ve editörler açıklanan süreçlerden önemli sapmaları ortaya çıkarır.
- Yazarların editöryal kararlara itiraz edebilmeleri için beyan edilmiş bir mekanizmaya sahiptir.
- Editörler, kendilerinden beklenen her şey hakkında yazarlara rehberlik etmelidir. Bu rehberlik düzenli olarak güncellenmeli ve bu koda atıfta bulunmalı veya bu koda bağlantı vermelidir.
- Editörler International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) önerdiği yazarlık kriterlerini belirtmeli
- Editörler, hakemlere, kendilerinden beklenen her şey hakkında rehberlik sağlamalıdır. gönderilen materyalin güvenle ele alınması ihtiyacı. Bu rehber düzenli olarak güncellenmelidir ve bu koda başvurmalı veya bu kodu bağlamalıdır
- Editörler, kabul etmeden önce gözden geçirenlerin rekabet edebilecek potansiyel çıkarları ifşa etmelerini istemelidir bir sunumu gözden geçirin.
- Editörler, hakemlerin kimliklerinin korunmasını sağlayacak sistemlere sahip olmalıdır yazarlara ve hakemlere bildirilen açık bir inceleme sistemi kullanır.
- Editörler, yeni yayın kurulu üyelerine kendilerinden beklenen her şey hakkında kılavuzlar sunmalı ve mevcut üyeleri yeni politikalar ve gelişmeler hakkında güncel tutmalıdır.
- Editörler, derginin kalitesine ve uygunluğuna göre ve dergi sahibinin / yayıncının müdahalesi olmadan hangi makalelerin yayınlanacağına karar vermelidir.
- Editörlerin derginin sahibi ve / veya yayıncı ile ilişkilerini belirleyen yazılı bir sözleşmesi olmalıdır. Bu sözleşmenin şartları Dergi Editörleri için COPE Davranış Kuralları ile uyumlu olmalıdır.
- Editörler dergilerindeki hakem değerlendirmelerinin adil, tarafsız ve zamanında yapılmasını sağlamak için çaba göstermelidir.
- Editörler, dergilerine gönderilen materyallerin incelenirken gizli kalmasını sağlayacak sistemlere sahip olmalıdır.
- Editörler, dergilerdeki bölümlerin farklı amaç ve standartlara sahip olacağını kabul ederek, yayınladıkları materyalin kalitesini sağlamak için tüm makul adımları atmalıdır.

<https://publicationethics.org/files/Code%20of%20Conduct.pdf>  
endislik





## YAYIN ETİĞİ

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisinin yayın etiği beyanı, [www.publicationethics.org](http://www.publicationethics.org) adresinde bulunan Yayın Etiği Komitesi'nin (COPE) Davranış Kuralları kılavuzuna dayanmaktadır.

### Editörlerin Görevleri

#### Adil ve editöryal bağımsızlık

Editörler sunulan makaleleri, yazarların ırkı, cinsiyeti, cinsel tercihi, etnik kökeni, vatandaşlığı, dini inancı, siyasi felsefesi veya kurumsal eğilimleri ne olursa olsun, sadece akademik yararları (önemi, özgünlük, çalışmanın geçerliliği, netliği) ve derginin kapsamıyla olan ilgisine göre değerlendirirler. Düzenleme ve yayınlama kararları, hükümetlerin veya derginin dışındaki diğer kurumların politikaları tarafından belirlenmez. Genel Yayın Yönetmeni, derginin tüm editöryal içeriği ve bu içeriğin yayınlama zamanlaması üzerinde tam yetkiye sahiptir.

#### Gizlilik

Editörler ve editörler, gönderilen bir makaleyle ilgili hiçbir bilgiyi ilgili yazar, gözden geçirenler, potansiyel gözden geçirenler, diğer yayın danışmanları ve yayıncı dışında kimseye açıklamaz.

#### Açıklama ve çıkar çatışmaları

Editörler ve yayın kurulu üyeleri, gönderilen bir makalede açıklanan yayınlanmamış bilgileri, yazarların açık yazılı izni olmadan kendi araştırma amaçları doğrultusunda kullanmayacaktır. Yazının işlenmesi sonucunda editörler tarafından elde edilen ayrıcalıklı bilgi veya fikirler gizli tutulacak ve kişisel avantajları için kullanılmayacaktır. Editörler, makalelere bağlı herhangi bir yazar, şirket veya kurumla rekabet, işbirlikçi veya diğer ilişkilerden/bağlantılardan kaynaklanan çıkar çatışmaları olan el yazmalarını dikkate almaktan geri çekilecekler; bunun yerine, yazı işleri kurulunun başka bir üyesinden yazıyı işlemesini isteyecekler.

#### Yayın kararları

Editörler, yayınlamak üzere değerlendirilen tüm makalelerin, alanında uzman en az iki gözden geçiren tarafından hakem incelemesinden geçmesini sağlar. Yazı İşleri Müdürü, söz konusu çalışmanın doğrulanmasına, araştırmacılar ve okuyucular için önemine, eleştirilenlerin yorumlarına ve iftira, telif hakkı ihlali ve intihal ile ilgili şu anda yürürlükte olan yasal gerekliliklere dayanarak, dergiye gönderilen el yazmalarından hangisinin yayınlanacağına karar vermektir sorumludur. Genel Yayın Yönetmeni bu kararı verirken diğer editörler veya yorumcularla görüşebilir.

#### Soruşturmalara katılım ve işbirliği

Editörler (yayıncı ve/veya kurulla birlikte) gönderilen bir makale veya yayınlamış makaleyle ilgili etik kaygılar ortaya çıktığında duyarlı önlemler alacaktır. Etik olmayan yayıncılık davranışlarının rapor edildiği her eylem, yayımlandıktan yıllar sonra keşfedilmiş olsa bile incelenmelidir. Editörler, suistimal şüphesiyle uğraşırken COPE Akış Şemalarını takip eder. Eğer, soruşturma üzerine, etik kaygı iyi kurulmuşsa, bir düzeltme, geri çekme, endişenin ifade edilmesi veya ilgili olabilecek diğer notlar dergide yayınlanacaktır.

### Gözden Geçirenlerin Görevleri

#### Editöryal kararlara katkı

Akran incelemesi editörlerin editöryal kararlar almalarına yardımcı olur ve yazarlarla editöryal iletişim yoluyla yazarların makalelerini geliştirmelerine yardımcı olabilir. Akran incelemesi resmi bilimsel iletişimin önemli bir bileşenidir ve bilimsel çabanın kalbinde yer alır.

#### İstem

Bir makalede bildirilen araştırmayı gözden geçirmek için niteliksiz hisseden veya derhal gözden geçirilmesinin imkansız olacağını bilen davet edilen her hakem, editörleri derhal bilgilendirmeli ve alternatif hakemlerle iletişime geçilebilmesi için inceleme davetini reddetmelidir.

#### Gizlilik

İncelenmek için alınan tüm el yazmaları gizli belgelerdir ve bu şekilde ele alınmalıdır; Genel Yayın Yönetmeni tarafından izin verilmedikleri sürece (istisnai ve özel durumlarda bunu yapacak olanlar) başkalarıyla gösterilmemeli veya tartışılmamalıdır. Bu, inceleme davetini reddeden davet edilen gözden geçirenler için de geçerlidir.

#### Nesnellik standartları

İncelemeler objektif olarak yapılmalı ve gözlemler, yazarların makalenin iyileştirilmesi için kullanabilmeleri için destekleyici argümanlarla net bir şekilde formüle edilmelidir. Yazarların kişisel eleştirisi uygunsuzdur.

#### Kaynakların kabulü

Gözden geçirenler, yazarlar tarafından belirtilen olmayan ilgili yayınlamış çalışmaları tanımlamalıdır. Önceki yayınlarda bildirilen bir gözlem, türetme veya argüman olan herhangi bir ifade ilgili alıntı eşlik etmelidir. Bir eleştirmen ayrıca, kişisel bilgileri olan makale ile kişisel bilgileri olan diğer el yazmaları (yayınlamış veya yayınlanmamış) arasında önemli bir benzerlik veya örtüşme olduğunu editörlere bildirmelidir.

#### Açıklama ve çıkar çatışmaları

Makaleye bağlı yazarlar, şirketler veya kurumlarla rekabet, işbirlikçi veya diğer ilişkilerden kaynaklanan çıkar çatışmaları olan davet edilen hakemler, editörleri derhal çıkar çatışmalarını beyan etmeleri ve alternatif hakemlerle iletişime geçebilmeleri için inceleme davetini reddetmeleri konusunda bilgilendirmelidir.

Gönderilen bir el yazmasında açıklanan yayınlamamış materyaller, yazarların açık yazılı izni olmadan bir eleştirmenin kendi araştırmasında kullanılmamalıdır. Akran incelemesi yoluyla elde edilen ayrıcalıklı bilgiler veya fikirler gizli tutulmalı ve gözden geçirenin kişisel avantajı için kullanılmamalıdır. Bu, inceleme davetini reddeden davet edilen gözden geçirenler için de geçerlidir.

#### Yazarların Görevleri

##### Raporlama standartları

Orijinal araştırmanın yazarları, yapılan eserin ve sonuçların doğru bir açıklamasını sunmalı ve ardından çalışmanın önemini objektif bir

tartışmasını sunmalıdır. El yazması, başkalarının eseri çoğaltmasına izin verecek yeterli ayrıntı ve referanslar içermelidir. İnceleme makaleleri doğru, objektif ve kapsamlı olmalı, editöryal 'görüş' veya perspektif parçaları açıkça bu şekilde tanımlanmalıdır. Hileli veya bilerek yanlış ifadeler etik olmayan davranışlar teşkil eder ve kabul edilemez.

#### Veri erişimi ve saklama

Yazarlardan, çalışmalarının ham verilerini editöryal inceleme için el yazması ile birlikte sağlamaları istenebilir ve uygulanabilirse verileri kamuya açık hale getirmeye hazır olmalıdır. Her halükarda, yazarlar, katılımcıların gizliliğinin korunması ve özel verilerle ilgili yasal hakların serbest bırakılmasını engellememesi koşuluyla, bu verilerin yayımlandıktan sonra en az 10 yıl süreyle (tercihen kurumsal veya konu tabanlı veri deposu veya diğer veri merkezi aracılığıyla) diğer yetkili profesyonellere erişilebilirliğini sağlamalıdır.

#### Özgünlük ve intihal

Yazarlar sadece tamamen orijinal eserler yazdıklarından ve sunduklarından ve başkalarının çalışmalarını ve/veya sözlerini kullanmışlarsa, bunun uygun şekilde atıfta bulunulduğunu sağlamalıdır. El yazmasında bildirilen eserin niteliğinin belirlenmesinde etkili olan yayınlar da belirtilmelidir. İntihal, başka bir makalenin "yazarın kendi makalesi" olarak "aktarılmasından", başka bir makalenin önemli bölümlerini kopyalamaya veya paraphrasinge (atıf yapmadan), başkaları tarafından yapılan araştırmadan elde edilen sonuçların iddiasına kadar pek çok biçim alır. Tüm biçimlerinde intihal etik olmayan yayıncılık davranışı teşkil eder ve kabul edilemez.

#### Çoklu, yinelenen, gereksiz veya eşzamanlı gönderim/yayın

Temelde aynı araştırmayı açıklayan bildiriler birden fazla dergide veya birincil yayında yayınlanmamalıdır. Bu nedenle, yazarlar zaten başka bir dergide yayınlanmış bir makale dikkate için göndermemelidir. Bir makalenin aynı anda birden fazla dergiye gönderilmesi etik olmayan bir yayın davranışıdır ve kabul edilemez.

Bazı makalelerin (klinik kılavuzlar, çeviriler gibi) birden fazla dergide yayınlanması, belirli koşulların karşılanması koşuluyla bazen haklı olabilir. İlgili dergilerin yazarları ve editörleri, birincil belgenin aynı verileri ve yorumlanmasını yansıtması gereken ikincil yayını kabul etmelidir. Birincil başvuru ikincil yayında belirtilmelidir.

#### Makalenin yazarlığı

Sadece bu yazarlık kriterlerini karşılayan kişiler, içeriğin kamuya açık sorumluluğunu üstlenebilmeleri için makalede yazar olarak listelenmelidir: (i) çalışmanın anlaşılmasına, tasarımına, yürütülmesine, veri edinilmesine veya analizine/yorumlanmasına önemli katkılarda bulunmuştur; ve (ii) el yazmasının hazırlanması veya önemli entelektüel içerik için eleştirel olarak revize edilmesi; ve (iii) gazetenin son halini görmüş ve onaylamış ve yayımlanmak üzere sunulmasını kabul etmiş ve kabul etmiş. Yazıda bildirilen eserin önemli katkıları olan (teknik yardım, yazma ve düzenleme yardımı, genel destek gibi) ancak yazarlık kriterlerini karşılamayan kişilerin yazar olarak listelenmemesi, yazılı izin alındıktan sonra "Bildirimler" bölümünde kabul edilmesi gerekmektedir. İlgili yazar, tüm uygun ortak yazarların (yukarıdaki tanıma göre) ve uygunsuz ortak yazarların yazar listesine dahil edilmesini sağlamalı ve tüm ortak yazarların makalenin son halini görüş onayladığını ve yayına sunulmasını kabul ettiğini doğrulamalıdır.

#### Açıklama ve çıkar çatışmaları

Yazarlar mümkün olan en erken aşamada (genellikle gönderim sırasında bir açıklama formu göndererek ve makaleye bir ifade de dahil olmak üzere)—, sonuçları veya makaledeki yorumlarını etkilemek için yorumlanabilecek çıkar çatışmalarını ifşa etmelidir. Açıklanması gereken potansiyel çıkar çatışmalarına örnek olarak, fahri, eğitim hibeleri veya diğer finansman, konuşmacı bürolarına katılım, üyelik, istihdam, danışmanlık, hisse senedi sahipliği veya diğer hisse senedi çıkarları ile ücretli uzman ifadeleri veya patent lisanslama düzenlemeleri ile kişisel veya mesleki ilişkiler, ilgili kişiler, bilgi veya inançlar gibi finansal olmayan konular veya makalede tartışılan materyaller verilebilir. Çalışma için tüm finansal destek kaynakları açıklanmalıdır (hibe numarası veya varsa diğer referans numarası da dahil olmak üzere).

#### Kaynakların kabulü

Yazarlar, başkalarının çalışmalarını doğru bir şekilde kabul ettiklerinden emin olmalı ve bildirilen eserin niteliğini belirlemede etkili olan yayınlara da atıfta bulunulmalıdır. Özel olarak elde edilen bilgiler (üçüncü şahıslarla konuşma, yazışma veya tartışma) kaynaktan açık, yazılı izin alınmadan kullanılmamalı veya rapor edilmemelidir. Yazarlar, bu hizmetlerde yer alan eserin yazarının açık yazılı iznini almamışsa, el yazmalarına hakemlik veya hibe başvurusu gibi gizli hizmetlerin sağlanması nda elde edilen bilgileri kullanmamalıdır.

#### Tehlikeler ve insan veya hayvan denekleri

Çalışma, kullanımlarında olağandışı tehlikeler etüt eden kimyasallar, prosedürler veya ekipmanlar içeriyorsa, yazarlar bunları el yazmasında açıkça tanımlamalıdır. Eğer çalışma hayvanların veya insan katılımcıların kullanımını içeriyorsa, yazarlar tüm prosedürlerin ilgili yasalara ve kurumsal yönergelere uygun olarak gerçekleştirildiğinden ve ilgili kurumsal komitenin bunları onayladığından emin olmalıdır; el yazması bu yönde bir ifade içermelidir. Yazarlar ayrıca, insan katılımcıların deneyler için bilgilendirilmiş onam alındığına dair bir ifadeyi de makaleye eklemelidir. İnsan katılımcıların gizlilik haklarına her zaman uyulmalıdır.

#### Akran incelemesi

Yazarlar, editörlerin ham veri, açıklama ve etik onayı, hasta onayları ve telif hakkı izinleri için isteklerine derhal yanıt vererek akran değerlendirme sürecine katılmak ve tam işbirliği yapmak zorundadırlar. "Gerekli revizyonlar" ilk kararı durumunda, yazarlar gözden geçirenlerin yorumlarına sistematik, nokta işaretli ve zamanında cevap vererek, makalelerini verilen son tarihe kadar gözden geçirip dergiye yeniden göndermelidirler.

#### Yayınlanan çalışmalardaki temel hatalar

Yazarlar kendi yayınlanmış çalışmalarında önemli hatalar veya yanlışlıklar bulduklarında, derginin editörlerini veya yayımcısını derhal bilgilendirmek ve çalışmayı bir hata biçiminde düzeltmek veya geri çekmek için onlarla işbirliği yapmak onların yükümlülüğüdür. Editörler veya yayıncı, yayınlanmış bir çalışmanın önemli bir hata veya yanlışlık içerdiğini üçüncü bir taraftan öğrenirse, makalenin doğruluğunu dergi editörlerine derhal düzeltmek veya geri çekmek veya dergi editörlerine kanıt sunmak yazarların yükümlülüğüdür.



## INSTRUCTIONS to AUTHORS

Karaelmas Science and Engineering Journal is the international scientific journal publishing original papers in English or Turkish, reviews, short communications, technical notes and scientific editorial letters of science in the following areas: basic sciences, basic medicine science and engineering fields. This journal publishes two times a year (June and December). Manuscripts should be submitted online by a website: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

### Manuscript Categories:

*Research articles:* Manuscripts should report original information which have not been published or submitted previously. Articles should not exceed 20 printed papers including tables and figures.

*Review articles:* Reviews of recent developments in a research fields and ideas will be accepted. Manuscripts should not exceed 15 papers of printed text. The use of tables and figures to summarize critical points is encouraged.

*Short communications:* These include small-scale investigations, innovative methods, perspectives on existing laboratory techniques and new methodologies, clinical trials and epidemiological studies. It should no exceed 5 printed pages.

*Technical notes or Case Reports:* Scientific reports providing important contributions their area will be considered in this category. It should not be exceed 3 pages.

*Letters to editor:* These include opinions, news and suggestions. Letters should not exceed 2 pages.

*Book/Software Reviews:* Short but concise description of the book/software, not exceeding a page. These types are not peer reviewed.

### CONDITIONS FOR PUBLICATION

Journal articles are published in Turkish or English. Manuscript should be suitable to the formal criteria of Instructions to Authors, otherwise, the manuscript will be sent back to the authors. Manuscripts should not exceed 20 papers of printed text, including tables, figures and references. Manuscripts that are found suitable for peer review will be assigned to two expert reviewers. The final decision to accept or reject a manuscript will be made by the Editor-in-Chief. After review process, the Editor-in-Chief will inform the authors of acceptance, rejection or necessity of revision of the manuscript. The paper has not already been published elsewhere and it is not currently being considered for publication elsewhere. If accepted, Karaelmas Science and Engineering Journal have exclusive license to publish. Review process is three months.

### THE REFEREE PROCESS

Manuscripts that do not comply with the journal's guidelines will be returned to the authors without scientific evaluation. Articles submitted in accordance with the journal's guidelines are reviewed by the Editor-in-Chief or Assistant Editor, who will appoint them to referees. The review process is one-blind. The Editor writes the decision letter in line with the recommendations of the referees, the opinions of the field editors and the contribution of the publication

to the literature. All unexamined manuscripts are returned within 10 days, and the decision letters of the manuscripts are sent within 3-6 months.

### PRESENTATION

Papers should be submitted online.

### PREPARING MANUSCRIPTS

- Manuscripts should be written double space on A4 sized typing paper with 2.5 cm all margins.
- Text should be prepared using Microsoft Word Processor with Times New Roman font and 12 point size.
- All pages must be numbered. All lines must be numbered.
- The full paper should be divided in to following parts in order to Abstract, Introduction, Materials and Method/Methods (Area descriptions, Study materials, e.g. should be cited as subheadings), Results, Discussion/Conclusions or Recommendations, Acknowledgements and References. All sections must be numbered except for the Abstract.
- Latin expression should be typed in italics.

**Cover Letter:** Please indicate title of manuscript and authors. You may briefly explain your work.

**Title Page:** The article should have a title page as a separate word file; hood; full author's full name, institutions and ORCID IDs; contact address and e-mail address of the corresponding author.

**The Title:** The title should be as short as possible, but give adequate information regarding the contents. Title must be written on the center with bold 14 font size. The first letter must be capital and the others must be written as lower case.

**Author's Names and Addresses:** All Authors full names must be written as lower case with bold 12 font size in the middle. After authors name and surnames, authors addresses should be stated with superscript numbers (e.g. <sup>1 2 3</sup>). Corresponding author's full name should be marked with an asteriks (\*). All authors addresses must be typed with lower case 10 font in the center. The corresponding author's contact address and e-mail address should be given. Names of institutions and cities each authors also must be stated.

**Abstract and Keywords:** A brief, informative abstract, not exceeding 250 words, should be typed in 10 font size. Immediately following the Turkish and English abstract, authors should provide 4-6 keywords or phrases that reflect content of the article.

### The Abstract Paper:

1. Turkish Paper
  - a) Turkish Title
  - b) English Title
  - c) Author's names in Turkish
  - d) Orcid id
  - e) Addresses in Turkish
  - f) Abstract
  - g) Keywords in Turkish
  - h) English Abstract (suitable with Turkish Abstract)
  - i) English Keywords



## 2. English Paper

- |                         |   |
|-------------------------|---|
| a) English Title        | f) Abstract in English                  |
| b) Turkish Title        | g) Keywords                             |
| c) Author's names       | h) Turkish Abstract (Öz)                |
| d) Orcid id             | i) Turkish Keywords (Anahtar Kelimeler) |
| e) Addresses in English |   |

**Main Text:** Main Headings and subheadings should be informative, must be typed in capital, bold 12 font size. Subheadings should be written in lower case, 10 font size. Main headings should not be numbered in the manuscript.

**Introduction:** This section should include the topic and importance of the article and prior works.

**Material and Methods:** Experimental methods and procedures should be described with clear and brief explanations.

**Results:** This section contain only findings, no writing comment. Results can be supports by tables, figures, graphics etc., if necessary.

**Discussion:** Results should be compare with other studies and discuss similarity and distinction.

**Acknowledgements:** It should be grants, funds, peoples reviewing the manuscript and must be placed before thr references.

Any conflict of interest, financial support, authors' contribution statement, donation and other editorial (statistical analysis, English / Turkish evaluation) and / or technical assistance should be submitted at the end of the text.

**Referencing:** Please do not use unpublishing data. But MSc and PhD thesis can be use as references. References in the text:

If they have one author (Reşat 2001, Landen 2002)

Two authors (e.g.: Büyükgüzel and Yazgan 2004, Ünlü and Gerçek 2003);

In the case of multiple authors they should be cited as (Landen et al. 2002, Yılmaz et al. 2007). Multiple citations (Smith 1996, Yılmaz et al. 2007, Jones 2008), multiple publications by same author(s) should be written as (Smith et al. 1996a, 1996b, 1997). Software should be cited as (PROC GLM, SAS Institute 1999).

References should be given at the end of the text according to alphabetical order of the first authors surname.

References should appeared at the end of the text as in the examples provided below:

### Journal Articles:

**Büyükgüzel, K., Tunaz, H., Putnam, SM., Stanley, DW. 2002.** Prostaglandin biosynthesis by midgut tissue isolated from the Tobacco Hornworm, *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32: 435-443.

**Büyükgüzel, K., Yazgan, Ş. 1996.** Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın yaşama ve gelişimine etkileri. *Turk. J. Zool.*, 20: 1-7.

**Özer, M., Uzuntarla, M. 2008.** Effects of the network structure and coupling strength on the noise-induced response delay of a neuronal network. *Phys. Let. A*, 372: 4603-4609.

### A Book:

**Reşat, U. 2001.** Uygulamalı Jeoteknik Bilgiler. 4. Basım, TMMOB Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları, Nitelik Matbaacılık, Ankara, 385 s.

**Sanford, RJ. 2003.** Principles of fracture mechanics, Prentice Hall, Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, USA, 404 pp.

### A Chapter in a Book:

**Cheeseman, KH. 1993.** Lipid peroxidation in biological systems, In: Halliwell B., Auroma OI. [eds.], DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, London, pp. 12-17.

### A Report:

**Makarewicz, JC., Lewis, T., Bertram, P. 1995.** Epilimnetic phytoplankton and zooplankton biomass and species composition in Lake Michigan, 1983-1992. U.S. EPA Great Lakes National Program, Chicago, IL. EPA 905-R-95-009.

### Conference Proceedings:

**Stock, A. 2004.** Signal transduction in bacteria. *In the Proceedings of the 2004 Markey Scholars Conference*, pp: 80-89.

**Kaplan, A. 2000.** Ankara havasında bulunan biyolojik partiküller. XV. Ulusal Biyoloji Kongresi, s. 45-50, Ankara.

### A Thesis:

**Strunk, JL. 1991.** The extraction of mercury from sediment and the geochemical partitioning of mercury in sediments from Lake Superior, M. Sc. thesis, Michigan State Univ., East Lansing, MI, 119 pp.

**Özcan, A. 2006.** Endüstriyel atıklar ve polipropilen lif içeren saha betonlarının özelliklerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 70 s.

### In Press:

**Evans, MA. 2002.** Title. *Journal*. (in press).

### Software:

**SAS Institute. 2001.** PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute. Cary, NC.

### Internet and URL:

If author(s) obtained from some information from internet, should be write full web address in the reference section.

Web documents with no authors:

**Leafy seadragons and weedy seadragons 2001.** <http://www.windspeed.net.au/jenny/seadragons/>

Web document with author:

**Dawson, J., Smith, L., Deubert, K. 31 October 2002.** Referencing, not plagiarisim. <http://studytrekk.lis.curtin.edu.au/>

**Symbols and Units:** Metric systems or SI units should be used (kPa, kN/m<sup>3</sup>, g/cm<sup>2</sup>, m/sn, g/m<sup>3</sup>, e.g.). Current abbreviations can be used without explanation, others must be explained. Use “ % ” only with numerals and in tables and figures. Close up space to numerals (e.g. 60%). Use the dot for decimal units (e.g. 10.26).





**Abbreviations:** All acronyms/abbreviations must be explained in parenthesis after their first occurrence. If many unfamiliar acronyms/abbreviations are used, please compile them in an “Abbreviations” section at the end of the paper.

Use the following abbreviations for time: h (hour), min (minute), s (second), yr (year), mo (month), wk (week), add “s” to create plurals (e.g. wks). Do not abbreviate “liter” by itself or when accompanied by a numeral.

**Dates:** Present dates in this format: day month year (e.g. 13 February 1998).

**Gene Sequencing:** Genbank may be conducted at their website at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/submit.html>.

#### Tables and Figures:

- Tables and figures captions must be written in separate pages in Table Legends and Figure Legends sections after the reference section.
- Tables and figures should be embedded in separate papers and must be numbered consecutively throughout the paper (Table 1, Fig. 1, Figs. 2-3, Fig. 4).
- Use a semicolon to separate different types of citations (Fig. 3; Table 3)
- Electronically submitted figures and graphs are preferred \*.jpg or \*.tiff (min. 600 dpi) formats. Do not give magnification on scales in the figure titles; instead draw bar scales directly on the figures.
- All the tables and figures must be referred in the text.
- The numbers and headings of figures must be written below the figure.
- The numbers and headings of tables should be written the top of the table.
- Standart errors or deviations should be cited as (e.g.,  $1.45 \pm 1.06$ ), statistically data should data must be given as (e.g., 734.3ab) in the table.
- Figures must be uploaded as tiff or jpeg files on our web sites on supplementary files.
- The column title of standart errors or deviations must be cited as (means  $\pm$  SD, or means  $\pm$  SE).
- Use the following abbreviations for months: Jan., Feb., Mar., April, May, Jun., July, Aug., Sep., Oct., Nov., and Dec.

**Appendices:** All appendices must be typed on separate sheet and should be numbered consecutively with capital Roman numerals.

**Equations:** Mathematical expressions should be written by an equation editor (Word format) in 9 point size. Indices font should be 8 point size. Each equation in text should be numbered in parenthesis.

#### Mathematical equations should be cited as below:

$$R = A_{\text{barrytype}} + B \log_{10}(f) \quad (2)$$

When authors send mathematical papers, they should state AMS-Mathematical Subject Classification Number.

**Numbers:** Spell out numbers at the beginning of sentence. Spell out the numbers one through nine. 10 and up are always cited as arabic numerals. All numbers <1 must be preceded by a zero (e.g. P<0.05). When a number is >1000, use a comma to separate hundreds from thousands.

**Footnotes to Tables:** In case of statistical data in tables, use footnotes to define or clarify column headings or specific datum with in data field (\*P<0.05; \*\* P<0.01; \*\*\* P<0.001; NS, not significant).

For submitting first namely author’s manuscripts should not exceed three folds in the same issue. Authors when submit the four folds manuscripts, they will be publish in another issues.

The preparation of the manuscript should be as follows for Mathematics and related subject:

The first page of the manuscript must include at least one 2010 MSC (Mathematics Subject Classification) numbers following the annual index of the Mathematical Reviews. MSC Subject Classification can be obtained from “<http://www.ams.org/mathscinet/msc/msc2010.html>”.

The items in the reference section should be ordered according to the alphabetical order of the surnames of the authors and numbered numerically such as [1], [2],....

In the text, reference numbers should be enclosed in square brackets, such as [23] or [12]-[15], to distinguish them from formula numbers which should be quoted in round brackets.

#### Final Checklist of the Manuscript

Before submitting of your paper (and other writings as applicable), please make sure that the following requirements have all been made:

- Cover letter is enclosed
- Spell check and grammar check have been performed
- Entire paper is double-spaced including abstract, tables, captions, references
- Margins are 2.5 cm each marigin
- Font size is 12 punto
- Font type is Times new roman
- Decimals are shown by a full stop (e.g., 10.25)
- Percent signs appear without a space after the number (e.g., 63%)
- Names of authors are written in full (not abbreviated)
- Address is given
- English title is given
- Title is in title case
- English abstract is given
- English keywords are given
- Turkish abstract (Öz) is given
- Turkish keywords (Anahtar Kelimeler) are given
- Original figures are enclosed
- Figures are prepared according to the instructions
- Figures are maximum 16x20 cm; minimum 8 cm wide
- Figures are refered to the consecutively in the paper
- Tables are maximum 16x20 cm; minimum 8 cm wide
- Tables are refered to the consecutively in the paper
- Captions are written in left case
- Figure legends are given
- Table legends are given
- References are typed according to the instructions
- References are listed alphabetically
- All pages and all lines are numbered





## ETHICAL PRINCIPLES

Official journal of Zonguldak Bülent Ecevit University, Karaelmas Science and Engineering Journal is a peer-reviewed journal which aims to reach all national and international institutions and individuals free of charge.

In the scientific articles sent to our journal, the recommendations of ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) and the International Standards of COPE (Committee on Publication Ethics) for Editors and Authors are taken into consideration.

**All claims and finalized processes regarding ethical violations of our authors are under their own responsibility, and in case of ethical violations, the article is automatically canceled.**

### Ethical Guidelines for Peer Reviewers

Peer Reviewers,

- respect the confidentiality of the manuscript, do not discuss it and do not reveal any details of it.
- inform the editor about any conflict of interest.
- provide objective and constructive explanations for their suggestions.
- do not allow the decisions related to the article to be influenced by the subject of the manuscript or the way of writing.
- do not contact the authors directly and request their previous articles unless there is a strong scientific reason.
- do not duplicate any part of the article or information reviewed in any of their own work before it is published by the authors.
- agree to accept the reviews only within their expertise and finish the review process within a reasonable time.
- do not intentionally prolong the review process which leads to a delay for the publication of the article.
- use a language refrained from being hostile and avoids making derogatory personal comments.
- destroy the manuscript and associated material after reviewing.

[https://publicationethics.org/files/Ethical\\_guidelines\\_for\\_peer\\_reviewers\\_0.pdf](https://publicationethics.org/files/Ethical_guidelines_for_peer_reviewers_0.pdf)

### Ethical Guidelines for Authors

Authors and co-authors,

- meet the following criteria for authorship defined by International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE);
  - a. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
  - b. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;

- a. Final approval of the version to be published;
  - d. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.
- ensure that submitted articles are original and are not sent to different publishers.
  - are responsible for any falsification, alteration or plagiarism which are defined as abusing research before or during the research or while reporting the findings of it.
  - inform the editor if there is any conflict of interest in the submitted articles.
  - inform the editor for correction or withdrawal if any mistake is noticed after publication or during the process of pre-control or evaluation.
  - do not suggest reordering, adding or dropping author names after article submission.
  - state, if the research requires the decision of the ethics committee, that they have the ethics committee approval with the name of the ethics committee and the date and number of the decision in the first and last page of the article and the methods section, also upload the ethics committee approval document to the system along with the application of the article.
  - state in the article that they have the consent form for the case reports.
  - comply with the copyright regulations for the ideas and works of art used in the article.
  - provide statements for Author Contribution, Conflict of Interest, Disclosure and if necessary, Acknowledgements.

<http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>

[https://www.ease.org.uk/wp-content/uploads/2018/11/doi.10.20316.ESE\\_.2018.44.e1.tr\\_.pdf](https://www.ease.org.uk/wp-content/uploads/2018/11/doi.10.20316.ESE_.2018.44.e1.tr_.pdf)

### Ethical Guidelines for Editors

Editors:

- The readers should be informed about who provides financial support to the study or other scientific studies and whether there is any role of sponsors in the study or publication, and if there is any, what the contribution is.
- Editors should base their decisions of acceptance or rejection on the importance, originality and clarity of the article, validity of study and its relevance to the remit of the journal.
- Editors should not reverse decisions to accept submissions unless serious problems are identified with the submission.



- New editors should not overturn decisions to publish submissions made by the previous editor unless serious problems are identified.
- A description of peer review processes should be published, and editors should be ready to justify any important deviation from the described processes.
- Journals should have a declared mechanism for authors to appeal against editorial decisions.
- Editors should publish guidance to authors on everything that is expected of them. This guidance should be regularly updated and should refer or link to this code.
- Editors should state the authorship criteria suggested by International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).
- Editors should provide guidance to reviewers on everything that is expected of them including the need to handle submitted material in confidence. This guidance should be regularly updated and should refer or link to this code
- Editors should require reviewers to disclose any potential competing interests before agreeing to review a submission.
- Editors should have systems to ensure that peer reviewers' identities are protected unless they use an open review system that is declared to authors and reviewers.
- Editors should provide new editorial board members with guidelines on everything that is expected of them and should keep existing members updated on new policies and developments.
- Editors should make decisions on which articles to publish based on quality and suitability for the journal and without interference from the journal owner/publisher.
- Editors should have a written contract(s) setting out their relationship with the journal's owner and/or publisher. The terms of this contract should be in line with the COPE Code of Conduct for Journal Editors.
- Editors should strive to ensure that peer review at their journal is fair, unbiased and timely.
- Editors should have systems to ensure that material submitted to their journal remains confidential while under review.
- Editors should take all reasonable steps to ensure the quality of the material they publish, recognizing that journals and sections within journals will have different aims and standards.

<https://publicationethics.org/files/Code%20of%20Conduct.pdf>



## PUBLICATION ETHICS

The ethics statement of the Karaelmas Science and Engineering Journal is based on the Code of Conduct guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE), available at [www.publicationethics.org](http://www.publicationethics.org).

This journal follows the COPE Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and the Code of Conduct for Journal Publishers.

### Duties of Editors

#### Fair play and editorial independence

Editors evaluate submitted manuscripts exclusively on the basis of their academic merit (importance, originality, study's validity, clarity) and its relevance to the journal's scope, without regard to the authors' race, gender, sexual orientation, ethnic origin, citizenship, religious belief, political philosophy or institutional affiliation. Decisions to edit and publish are not determined by the policies of governments or any other agencies outside of the journal itself. The Editor-in-Chief has full authority over the entire editorial content of the journal and the timing of publication of that content.

#### Confidentiality

Editors and editorial staff will not disclose any information about a submitted manuscript to anyone other than the corresponding author, reviewers, potential reviewers, other editorial advisers, and the publisher, as appropriate.

#### Disclosure and conflicts of interest

Editors and editorial board members will not use unpublished information disclosed in a submitted manuscript for their own research purposes without the authors' explicit written consent. Privileged information or ideas obtained by editors as a result of handling the manuscript will be kept confidential and not used for their personal advantage. Editors will recuse themselves from considering manuscripts in which they have conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships/connections with any of the authors, companies or institutions connected to the papers; instead, they will ask another member of the editorial board to handle the manuscript.

#### Publication decisions

The editors ensure that all submitted manuscripts being considered for publication undergo peer-review by at least two reviewers who are expert in the field. The Editor-in-Chief is responsible for deciding which of the manuscripts submitted to the journal will be published, based on the validation of the work in question, its importance to researchers and readers, the reviewers' comments, and such legal requirements as are currently in force regarding libel, copyright infringement and plagiarism. The Editor-in-Chief may confer with other editors or reviewers in making this decision.

### Involvement and cooperation in investigations

Editors (in conjunction with the publisher and/or society) will take responsive measures when ethical concerns are raised with regard to a submitted manuscript or published paper. Every reported act of unethical publishing behaviour will be looked into, even if it is discovered years after publication. Editors follow the COPE Flowcharts when dealing with cases of suspected misconduct. If, on investigation, the ethical concern is well-founded, a correction, retraction, expression of concern or other note as may be relevant, will be published in the journal.

### Duties of Reviewers

#### Contribution to editorial decisions

Peer review assists editors in making editorial decisions and, through editorial communications with authors, may assist authors in improving their manuscripts. Peer review is an essential component of formal scholarly communication and lies at the heart of scientific endeavour.

#### Promptness

Any invited referee who feels unqualified to review the research reported in a manuscript or knows that its prompt review will be impossible should immediately notify the editors and decline the invitation to review so that alternative reviewers can be contacted.

#### Confidentiality

Any manuscripts received for review are confidential documents and must be treated as such; they must not be shown to or discussed with others except if authorized by the Editor-in-Chief (who would only do so under exceptional and specific circumstances). This applies also to invited reviewers who decline the review invitation.

#### Standards of objectivity

Reviews should be conducted objectively and observations formulated clearly with supporting arguments so that authors can use them for improving the manuscript. Personal criticism of the authors is inappropriate.

#### Acknowledgement of sources

Reviewers should identify relevant published work that has not been cited by the authors. Any statement that is an observation, derivation or argument that has been reported in previous publications should be accompanied by the relevant citation. A reviewer should also notify the editors of any substantial similarity or overlap between the manuscript under consideration and any other manuscript (published or unpublished) of which they have personal knowledge.

#### Disclosure and conflicts of interest

Any invited referee who has conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships or connections with any of the authors, companies or institutions connected to the



manuscript and the work described therein should immediately notify the editors to declare their conflicts of interest and decline the invitation to review so that alternative reviewers can be contacted.

Unpublished material disclosed in a submitted manuscript must not be used in a reviewer's own research without the express written consent of the authors. Privileged information or ideas obtained through peer review must be kept confidential and not used for the reviewer's personal advantage. This applies also to invited reviewers who decline the review invitation.

### Duties of Authors

#### Reporting standards

Authors of original research should present an accurate account of the work performed and the results, followed by an objective discussion of the significance of the work. The manuscript should contain sufficient detail and references to permit others to replicate the work. Review articles should be accurate, objective and comprehensive, while editorial 'opinion' or perspective pieces should be clearly identified as such. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behaviour and are unacceptable.

#### Data access and retention

Authors may be asked to provide the raw data of their study together with the manuscript for editorial review and should be prepared to make the data publicly available if practicable. In any event, authors should ensure accessibility of such data to other competent professionals for at least 10 years after publication (preferably via an institutional or subject-based data repository or other data centre), provided that the confidentiality of the participants can be protected and legal rights concerning proprietary data do not preclude their release.

#### Originality and plagiarism

Authors should ensure that they have written and submit only entirely original works, and if they have used the work and/or words of others, that this has been appropriately cited. Publications that have been influential in determining the nature of the work reported in the manuscript should also be cited. Plagiarism takes many forms, from "passing off" another's paper as the author's own, to copying or paraphrasing substantial parts of another's paper (without attribution), to claiming results from research conducted by others. Plagiarism in all its forms constitutes unethical publishing behaviour and is unacceptable.

#### Multiple, duplicate, redundant or concurrent submission/publication

Papers describing essentially the same research should not be published in more than one journal or primary publication. Hence, authors should not submit for consideration a manuscript that has already been published in another journal. Submission of a manuscript concurrently to more than one journal is unethical publishing behaviour and unacceptable.

The publication of some kinds of articles (such as clinical guidelines, translations) in more than one journal is sometimes justifiable,

provided that certain conditions are met. The authors and editors of the journals concerned must agree to the secondary publication, which must reflect the same data and interpretation of the primary document. The primary reference must be cited in the secondary publication.

#### Authorship of the manuscript

Only persons who meet these authorship criteria should be listed as authors in the manuscript as they must be able to take public responsibility for the content: (i) made significant contributions to the conception, design, execution, data acquisition, or analysis/interpretation of the study; and (ii) drafted the manuscript or revised it critically for important intellectual content; and (iii) have seen and approved the final version of the paper and agreed to its submission for publication. All persons who made substantial contributions to the work reported in the manuscript (such as technical help, writing and editing assistance, general support) but who do not meet the criteria for authorship must not be listed as an author, but should be acknowledged in the "Acknowledgements" section after their written permission to be named as been obtained. The corresponding author should ensure that all appropriate coauthors (according to the above definition) and no inappropriate coauthors are included in the author list and verify that all coauthors have seen and approved the final version of the manuscript and agreed to its submission for publication.

#### Disclosure and conflicts of interest

Authors should—at the earliest stage possible (generally by submitting a disclosure form at the time of submission and including a statement in the manuscript)—disclose any conflicts of interest that might be construed to influence the results or their interpretation in the manuscript. Examples of potential conflicts of interest that should be disclosed include financial ones such as honoraria, educational grants or other funding, participation in speakers' bureaus, membership, employment, consultancies, stock ownership, or other equity interest, and paid expert testimony or patent-licensing arrangements, as well as non-financial ones such as personal or professional relationships, affiliations, knowledge or beliefs in the subject matter or materials discussed in the manuscript. All sources of financial support for the work should be disclosed (including the grant number or other reference number if any).

#### Acknowledgement of sources

Authors should ensure that they have properly acknowledged the work of others, and should also cite publications that have been influential in determining the nature of the reported work. Information obtained privately (from conversation, correspondence or discussion with third parties) must not be used or reported without explicit, written permission from the source. Authors should not use information obtained in the course of providing confidential services, such as refereeing manuscripts or grant applications, unless they have obtained the explicit written permission of the author(s) of the work involved in these services.

#### Hazards and human or animal subjects

If the work involves chemicals, procedures or equipment that have any unusual hazards inherent in their use, the authors must clearly identify



these in the manuscript. If the work involves the use of animals or human participants, the authors should ensure that all procedures were performed in compliance with relevant laws and institutional guidelines and that the appropriate institutional committee(s) has approved them; the manuscript should contain a statement to this effect. Authors should also include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human participants. The privacy rights of human participants must always be observed.

#### **Peer review**

Authors are obliged to participate in the peer review process and cooperate fully by responding promptly to editors' requests for raw data, clarifications, and proof of ethics approval, patient consents

and copyright permissions. In the case of a first decision of "revisions necessary", authors should respond to the reviewers' comments systematically, point by point, and in a timely manner, revising and re-submitting their manuscript to the journal by the deadline given.

#### **Fundamental errors in published works**

When authors discover significant errors or inaccuracies in their own published work, it is their obligation to promptly notify the journal's editors or publisher and cooperate with them to either correct the paper in the form of an erratum or to retract the paper. If the editors or publisher learns from a third party that a published work contains a significant error or inaccuracy, then it is the authors' obligation to promptly correct or retract the paper or provide evidence to the journal editors of the correctness of the paper.





## İÇİNDEKİLER

### Araştırma Makaleleri

- TiO<sub>2</sub> Katkılı Elmas-Benzeri Karbon Filmlerin Yeni Bir Çözültiden Üretilmesi ve Karakterizasyonları**..... 1  
Necati Başman, Mehmet Gökçen, Cengiz Temiz
- Conformable Anlamında Kesirli Mertebeden Fokker-Planck Denkleminin Analitik Çözümü** ..... 9  
Muammer Ayata, Ozan Özkan
- Ni<sub>N</sub> (N=6-55) Kümelerinin Geometrik Büyümesi ile Erime Davranışı İlişkisinin İncelenmesi**..... 15  
Meral Eryürek
- İçme Suyu Kaynaklarının Klor ve Klor Dioksit ile Dezenfeksiyonu Sonucu Meydana Gelen Dezenfeksiyon**..... 22  
**Yan Ürünleri Oluşumunun Araştırılması: İstanbul Örneği**  
Kadir Özdemir
- Callinectes sapidus*'un (Mavi Yengeç) Hepatopankreas Esteraz (E. C. 3.1.1.1) Aktivitesine Metal İyonlarının** ..... 32  
**(Zn<sup>+2</sup>, Co<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup>) *in Vitro* Etkilerinin Belirlenmesi**  
Salih Görgün
- Nano Ozon Yağının B-16 Melanoma ve OV-90 Over Hücrelerinde ROS Üretimi ve γH2AX Hücre Pozitifliğini** ..... 38  
**Tetiklemesi**  
Yeliz Yalçın, İshak Özel Tekin, Seda Aydın
- Sıcak Presleme Yöntemi ile Üretilen Cu-Cr Alaşımlarının Sertlik ve Elektriksel İletkenlik Özellikleri Üzerine** ..... 47  
**Mekanik Alaşımlama Süresinin Etkisi**  
Hamza Çolak, Serhatcan Berk Akçay, Temel Varol, Onur Güler, Hüseyin Can Aksa
- Çeşitli Uzunluklardaki PEG'ler Vasıtasıyla PVC'nin "Klik" Kimyası ile Çapraz Bağlanması** ..... 59  
Nilgün Asan, Temel Öztürk, Hasibe Kudu, Ergül Meyvacı, Efan Çatıker
- Deneysel Çalışma ile Küf Büyümesi için Yapı Malzemelerinin Kritik Bağlı Neminin Belirlenmesi**..... 67  
Bahar Türk, Mustafa Erkan Karagüler, Dilek Şatana
- Yeni Nesil Yüksek Güçlü IGBT'ler İçin Dinamik Modelleme ve Deneysel Doğrulama** ..... 75  
Osman Tanrıverdi, Deniz Yıldırım
- Bazı Yosun Türlerinin Toplam Fenol İçeriklerinin, Antibakteriyel ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi**..... 86  
Şükran Öztürk, Yasin Hazer, Banu Kaşkatepe, Muhammet Ören
- Levamisolün Model Organizma *Galleria mellonella*'nın Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi** ..... 93  
Volkan Keleş, Ender Büyükgüzel

### Davetli Derleme

- Drosophila: Çevresel Kirleticilerin Toksisitesini Değerlendirmek İçin Umud Veren Bir Model**..... 101  
Eşref Demir, Fatma Turna Demir



## CONTENTS

### Research Articles

- Deposition of TiO<sub>2</sub>-Doped Diamond-Like Carbon Films From a New Solution and Their Characterizations..... 1**  
Necati Başman, Mehmet Gökçen, Cengiz Temiz
- An Analytical Solution to Conformable Fractional Fokker-Planck Equation..... 9**  
Muammer Ayata, Ozan Özkan
- The Investigation of the Relationship Between Geometrical Growth and Melting Behavior of Ni<sub>N</sub> (N=6-55) Clusters..... 15**  
Meral Eryürek
- Investigation of Disinfection By-Products Formation in Disinfection of Drinking Water Sources with Chlorine and ..... 22**  
**Chlorine Dioxide: Istanbul Case Study**  
Kadir Özdemir
- Determination of *in Vitro* Effects of Metal Ions (Zn<sup>+2</sup>, Co<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup>) on the Hepatopancreas Esterase..... 32**  
**(E. C. 3.1.1.1) Activity of *Callinectes sapidus* (Blue Crab)**  
Salih Görgün
- Nano Ozonized Oil Trigger ROS Production and γH2AX Cell Positivity of B-16 Melanoma and OV-90 Ovarian Cells ..... 38**  
Yeliz Yalçın, İshak Özel Tekin, Seda Aydın
- The Effect of Mechanical Alloying Time on the Hardness and Electrical Conductivity Properties of..... 47**  
**Cu-Cr Alloys Produced by Hot Pressing Method**  
Hamza Çolak, Serhatcan Berk Akçay, Temel Varol, Onur Güler, Hüseyin Can Aksa
- Cross-linking of PVC by Various Lengths of PEG via “Click” Chemistry..... 59**  
Nilgün Asan, Temel Öztürk, Hasibe Kudu, Ergül Meyvacı, Efkan Çatıker
- Determination of Critical Relative Humidity of Construction Materials for Mold Growth by Experimental Study..... 67**  
Bahar Türk, Mustafa Erkan Karagüler, Dilek Şatana
- Dynamic Modelling and Experimental Validation of New Generation High Power IGBTs..... 75**  
Osman Tanrıverdi, Deniz Yıldırım
- Determination of Total Phenol Contents, Antibacterial and Antioxidant Activity of Some Mosses Species ..... 86**  
Şükran Öztürk, Yasin Hazer, Banu Kaşkatepe, Muhammet Ören
- The Effect of Levamisole on Some Biological Parameters of Model Organism *Galleria mellonella*.....93**  
Volkan Keleş, Ender Büyükgüzel

### Invited Review

- Drosophila: A Promising Model for Evaluating the Toxicity of Environmental Pollutants ..... 101**  
Eşref Demir, Fatma Turna Demir



# TiO<sub>2</sub> Katkılı Elmas-Benzeri Karbon Filmlerin Yeni Bir Çözeltiden Üretilmesi ve Karakterizasyonları

## *Deposition of TiO<sub>2</sub>-Doped Diamond-Like Carbon Films From a New Solution and Their Characterizations*

Necati Başman<sup>1\*</sup> , Mehmet Gökçen<sup>2</sup> , Cengiz Temiz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>İskenderun Teknik Üniversitesi, Havacılık ve Uzay Bilimleri Fakültesi, Havacılık Elektrik Elektronik Bölümü, Hatay, Türkiye

<sup>2</sup>Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Nanoteknoloji Mühendisliği Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

<sup>3</sup>Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Alaplı Meslek Yüksekokulu, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Zonguldak, Türkiye

### Öz

Elmas-benzeri karbon (EBK) filmler gösterdikleri mekanik ve fiziksel özelliklerinden dolayı en çok çalışılan kaplama malzemeleridir. Bu filmlerin özelliklerinin iyileştirilmesi için üretim yöntemleri ve katkılanmaları üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Üretim yöntemleri arasında elektrokimyasal biriktirme yöntemi, kolaylık ve ucuz ekipman gibi avantajlara sahiptir. Daha önceki bir çalışmamızda, titanyum metalini hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) içerisinde çözündürerek elde ettiğimiz titanyum çözeltisi ile metanol (CH<sub>3</sub>OH) karışımından, elektrokimyasal yöntemle titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) katkı EBK film üretmeyi başarmıştık. Bu çalışmada ise TiO<sub>2</sub> katkı EBK filmler titanyum isopropoxide (TTIP) ve metanol karışımından oluşturulan çözeltilerin elektrolizi ile biriktirildi. İki farklı TTIP konsantrasyonunda üretilen filmler, morfolojik, yapısal ve elementel olarak karakterize edildi. Taramalı elektron mikroskobu fotoğrafları filmlerin homojen ve kompakt olduğunu göstermiştir. Filmlerin 600 °C 'de tavllanmasıyla filmlerin morfolojisinde bir değişiklik gözlenmemiştir. X-ışınları fotoelektron spektroskopisi analizleri, titanyumun film içerisinde TiO<sub>2</sub> formunda olduğunu ve TTIP konsantrasyonunun artmasıyla filmdeki titanyum miktarının arttığını göstermiştir. X-ışınları kırınımı analizleri, TiO<sub>2</sub>'nin EBK matriste amorf olarak bulunduğunu ve daha düşük TTIP konsantrasyonu ile hazırlanan filmin elmas içeriğe sahip olduğunu ortaya koymuştur. 600 °C de tavlandıktan sonra ise bu filmin grafitize olduğu görülmüştür. Elde edilen bulgular, TiO<sub>2</sub> katkı EBK nanokompozit filmlerin bu çalışmada önerilen çözeltiyle kolaylıkla üretilebileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Elmas-benzeri karbon, Titanyum dioksit, Nanokompozit

### Abstract

Diamond-like carbon (DLC) films are the most studied coating materials due to their mechanical and physical properties. Many studies have been conducted on the deposition methods and doping to improve the properties of these films. Among the deposition methods, the electrochemical deposition has advantages such as convenience and inexpensive equipment. In our previous study, we were able to produce a titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) doped DLC film by electrochemical method from a mixture of methanol (CH<sub>3</sub>OH) and titanium solution obtained by dissolving titanium metal in hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). In this study, TiO<sub>2</sub> doped DLC films were deposited by electrolysis of solutions formed from a mixture of titanium isopropoxide (TTIP) and methanol. The films deposited at two different TTIP concentrations were characterized morphologically, structurally and elementally. Scanning electron micrographs were shown that the films are homogeneous and compact. No change was observed in the morphology of the films after annealing the films at 600 °C. Chemical analyses showed that titanium was in the form of TiO<sub>2</sub> and the amount of titanium increased with increasing TTIP concentration. X-ray diffraction analysis revealed that TiO<sub>2</sub> was amorphous in the DLC matrix and the film prepared with lower TTIP concentration had diamond content. After annealing at 600 °C, it was seen that this film was graphitized. The obtained findings showed that TiO<sub>2</sub> doped DLC nanocomposite films can be easily deposited with the solution proposed in this study.

**Keywords:** Diamond-like carbon, Titanium dioxide, Nanocomposite

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: [nbasman@gmail.com](mailto:nbasman@gmail.com)

Necati Başman [orcid.org/0000-0002-8421-641X](https://orcid.org/0000-0002-8421-641X)

Mehmet Gökçen [orcid.org/0000-0003-3900-4626](https://orcid.org/0000-0003-3900-4626)

Cengiz Temiz [orcid.org/0000-0002-9265-7485](https://orcid.org/0000-0002-9265-7485)



## 1. Giriş

Elmas-benzeri karbon (EBK), sp<sup>3</sup> ve sp<sup>2</sup> bağlarını birlikte içeren amorf karbon (a:C) ince film malzemelere verilen isimdir (Basman vd., 2018; Bouabibsa vd., 2020; Robertson, 2002). Bu malzemelerin içerdikleri sp<sup>3</sup> bağları elmas benzeri, sp<sup>2</sup> bağları ise grafit benzeri özellikler göstermelerine sebebiyet verir. Üstün mekanik, tribolojik ve fiziksel özellikleri sebebiyle, koruyucu kaplamalar, biomedikal, optik ve elektronik gibi geniş uygulama alanlarına sahiptirler (Basman ve Varol, 2019; Bouabibsa vd., 2020; Erdemir ve Donnet, 2006). Üretim yöntemine göre, farklı oranlarda sp<sup>2</sup> ve sp<sup>3</sup> hibritleşmeleri ile farklı miktarlarda hidrojen içerecek şekilde üretilen bu filmler, çok geniş bir skalada mekanik, tribolojik ve fiziksel özellikler gösterebilmektedirler (Bootkul vd., 2014; Xu vd., 2018).

Literatürde EBK filmler üzerine yapılan çalışmalar, üretim yöntemi, üretim parametreleri ve katkılanmanın filmlerin fiziksel ve mekanik özelliklere etkisi üzerine yoğunlaşmaktadır. Filmlerin bağ yapısı ve içerdikleri elementler üretim yöntemi, üretim parametreleri ve katkılanmaya direkt olarak bağlıdır (Basman vd., 2018; Bootkul vd., 2014; Xu vd., 2018). EBK filmlerin mekanik, elektriksel ve optik özelliklerinin, üretim yönteminin dışında, H, N, F, Si gibi ametallerin ve Ag, W, Ti ve Al gibi metallerin matris içine katkılanmasıyla da değiştirilebildiği rapor edilmiştir (Bootkul vd., 2014; Caschera vd., 2011; S. Y. Chen vd., 2013; Dai vd., 2013; Khun vd., 2009; Xu vd., 2018). EBK matris içine katkılanması bağ yapılarını değiştirmesinin yanı sıra hem iç stresi azaltmakta hem de film/altlık bağ kuvvetini arttırmaktadır.

EBK filmler, fiziksel buhar biriktirme (FBB), kimyasal buhar biriktirme (KBB) ve elektrokimyasal biriktirme yöntemleri ile biriktirebilmektedir. Elektrokimyasal yöntem, diğer iki metoda göre, ucuz ekipman, kolaylık ve geniş yüzeylere biriktirebilme gibi avantajlara sahiptir (Basman vd., 2015; Isildak ve Özbek, 2020).

Titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) sıra dışı fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı en çok çalışılan metal oksit malzemelerden biridir. Foto-yarıiletken özelliği TiO<sub>2</sub>'nin antibakteriyel ajan olarak kullanılmasına olanak sağlar (Lopes vd., 2017; Marciano vd., 2009). EBK filmler biyolojik ortamlar ile iyi uyum göstermelerinden dolayı implant malzemelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Dahası, TiO<sub>2</sub> ile katkılanmalarında biyo-uyumlulukları iyileşmektedir ve antibakteriyel özellikleri artmaktadır (Lopes vd., 2017; Marciano vd., 2009; Wachesk vd., 2013, 2016). TiO<sub>2</sub>'nin EBK film-

lere katkılanması için yapılan çalışmalarda genellikle KBB ve plazma iyon implantasyon tekniği kullanılmıştır (Amin vd., 2009; Lopes vd., 2017; Marciano vd., 2009; Thorwarth vd., 2005; Wachesk vd., 2016). Ancak, daha önceki bir çalışmamızda, titanyum metalini hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) içerisinde çözündürerek elde ettiğimiz titanyum çözeltisi ile metanol (CH<sub>3</sub>OH) karışımından, elektrokimyasal yöntemle TiO<sub>2</sub> katkılı EBK film üretmeyi başarmıştık (Başman 2020). Bu çalışmamızda ise TiO<sub>2</sub> kaynağı olarak titanium isopropoxide (TTIP) ve karbon kaynağı olarakta metanolü kullanarak TiO<sub>2</sub> katkılı EBK filmler ürettik. İki farklı TTIP konsantrasyonunda ürettiğimiz filmler, taramalı elektron mikroskobu (SEM), x-ışınları kırınımı (XRD) ve x-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) ile analiz edildi ve morfolojik, yapısal ve elementel özellikleri ortaya konuldu.

## 2. Gereç ve Yöntemler

TiO<sub>2</sub> katkılı EBK filmler, kuru metanol (CH<sub>3</sub>OH) (Sigma Aldrich %99.9) ve titanium(IV) izopropoksit (Ti[OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>4</sub>) (Sigma Aldrich, %97) karışımından oluşan çözeltilerin atmosferik basınçta ve oda sıcaklığında elektrolizi ile biriktirildi. Çalışmada kullanılan elektroliz düzeneğinin resmi başka bir çalışmada gösterilmiştir (Yan vd., 2004). EBK film, bor katkılı p-Si (100) tek kristal altlık ( $\rho = 10-20 \Omega \cdot \text{cm}$ ) katot elektrot üzerine biriktirilmiştir. Anot elektrot olarak parlatılmış grafit plaka kullanılmıştır. Deneysel yöntemin detayları daha önceki çalışmamızda verilmişti (Başman 2020). Filmler iki farklı titanyum(IV) izopropoksit konsantrasyonunda hazırlandı. Birinci film 80 ml methanole 50 µl titanyum(IV) izopropoksit, ikinci film ise 80 ml methanole 200 µl titanyum(IV) izopropoksit eklenerek hazırlanan çözeltilerin 180 V gerilimde 6 saat elektrolizi ile elde edildi. Analizler için birinci film T1, ikinci film ise T2 olarak kodlanmıştır. Elde edilen filmler, morfolojik, yapısal ve elementel olarak analiz edilmişlerdir. Filmlerin yüzey mikro-fotoğrafları Quanta FEG-250 model FEI marka taramalı elektron mikroskobu ile çekildi. Kristal yapı analizleri Panalytical marka CuK $\alpha$  monokromatik ışın kaynaklı Empyrean model XRD cihazı ile yapıldı. Filmlerin elementel bileşen analizleri AlK $\alpha$  monokromatik X-ışını (1486.74 eV, 200 W) kaynaklı Specs marka XPS spektroskopisi cihazı ile yapıldı.

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. SEM Analizi

Filmlerin yüzey morfolojilerini belirlemek ve tavlamanın morfolojiye etkisini gözlemek için film yüzeylerinin SEM



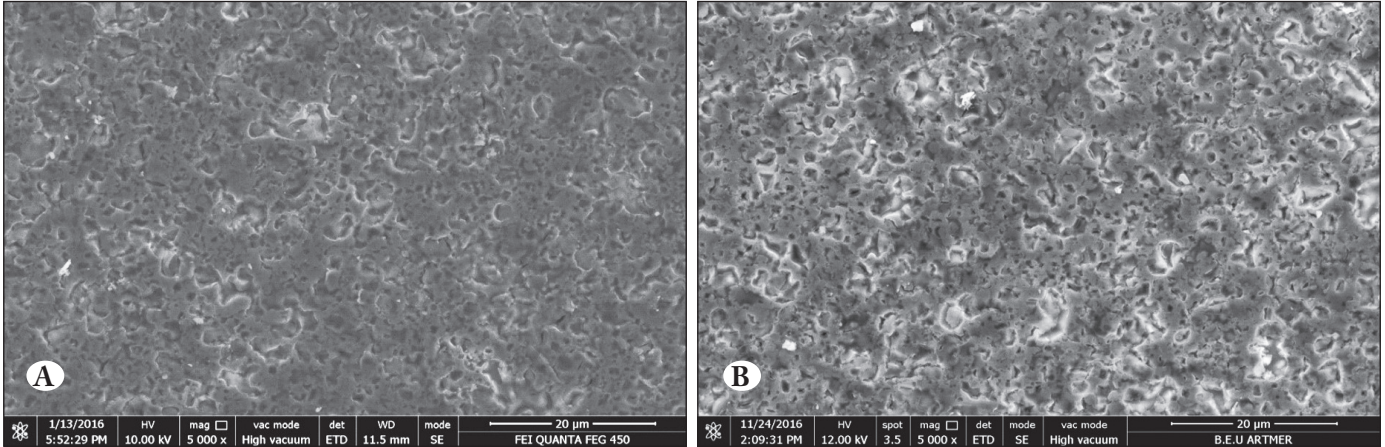
fotoğrafları çekilmiştir. Tavlanmamış ve tavlanmış T1 filminin SEM fotoğrafları sırasıyla Şekil 1A ve B'de, tavlanmamış ve tavlanmış T2 filminin SEM fotoğrafları ise sırasıyla Şekil 2A ve B'de gösterilmiştir. SEM fotoğraflarından görüleceği üzere, filmler sürekli ve yoğun yüzeylere sahiptir. 180 V gerilim ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan filmlerin yüzeyleri arasında belirgin bir fark gözlenmemektedir. Dahası, tavlama öncesi ile tavlama sonrasındaki film yüzeyleri arasında önemli bir fark bulunmamaktadır. Bu da söz konusu filmlerin ısıl kararlılığa sahip olduğunu göstermektedir.

### 3.2. XPS Analizleri

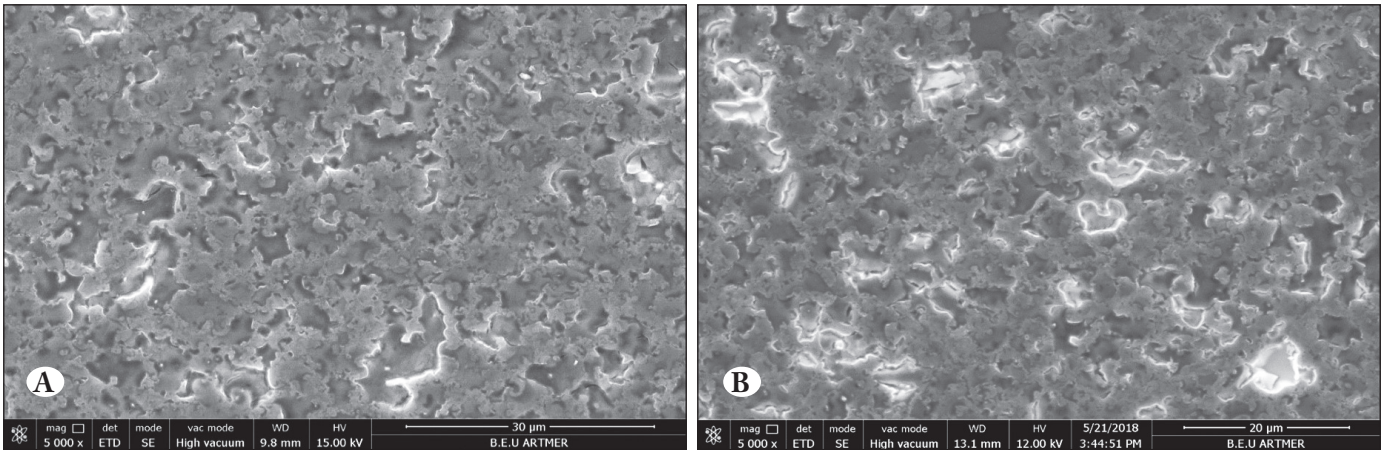
XPS analizleri film yüzeylerinin kimyasal bileşenlerinin ve filmlerde mevcut elementlerin bağ durumlarının tespiti için gerçekleştirilmiştir. T1 ve T2 filmlerine ait genel tarama XPS spektrumları Şekil 3'te gösterilmiştir. XPS spektrumları elde edilen filmlerin, başlıca oksijen, titanyum ve karbon bileşenlerinden oluştuğunu göstermektedir. Filmlerin

kimyasal bileşenleri; yüzeydeki bir miktar Silisyum hariç bırakılarak, T1 için Ti % 3.72; C % 8.99; O % 87.29 olarak, T2 için ise Ti % 6.28; C % 8.66 ve O % 85.06 olarak hesaplanmıştır. Film yüzeylerinde mevcut elementlerin bağ durumlarını incelemek için her bir filmin Ti, C ve O için yüksek çözünürlüklü XPS taramaları gerçekleştirilmiştir.

T1 filmine ait Ti 2p, O 1s ve C 1s spektrumları sırasıyla Şekil 4A,B ve C'de verilmiştir. Filtreleme işlemine tabi tutulan O 1s ve C 1s pikleri yine Şekil 4B ve C'de verilmiştir. Ti 2p spektrumunda, 458.3 ve 464.0 eV'da yer alan pikler sırasıyla Ti 2p<sub>1/2</sub> ve Ti 2p<sub>3/2</sub>'ye pikleridir. Bu piklerin konumları arasındaki 5.7 eV'luk fark, titanyumun Ti<sup>+4</sup> yükseltgenme durumunda olduğunu göstermektedir (Bharti vd., 2016; Chen vd., 2017; Nezar vd., 2017). Piklerin simetrik olmadığı durumlar, titanyumun Ti<sup>+2</sup>, Ti<sup>+3</sup> gibi yükseltgenme durumlarında olduğunu gösterir ki, titanyumun yükseltgenme durumunu belirlemek için filtreleme uygulanması gerekir. Ancak burada Ti 2p pikleri simetrik görüldüğünden filt-

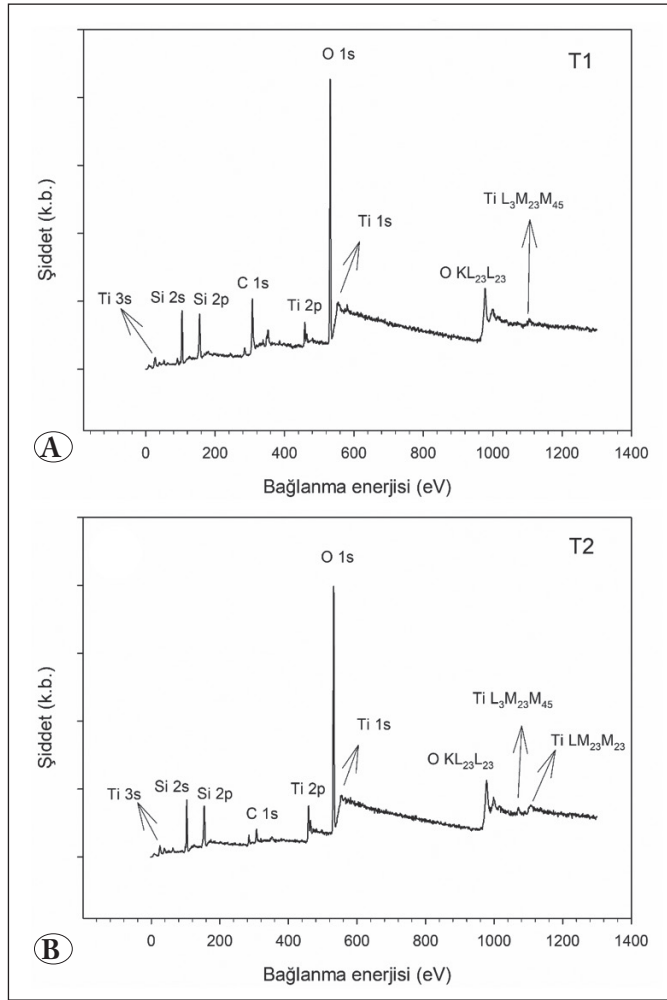


Şekil 1. Tavlanmamış (A) ve tavlanmış (B) T1 filmine ait SEM fotoğrafları.



Şekil 2. Tavlanmamış (A) ve (B) tavlanmış T2 filmine ait SEM fotoğrafları.



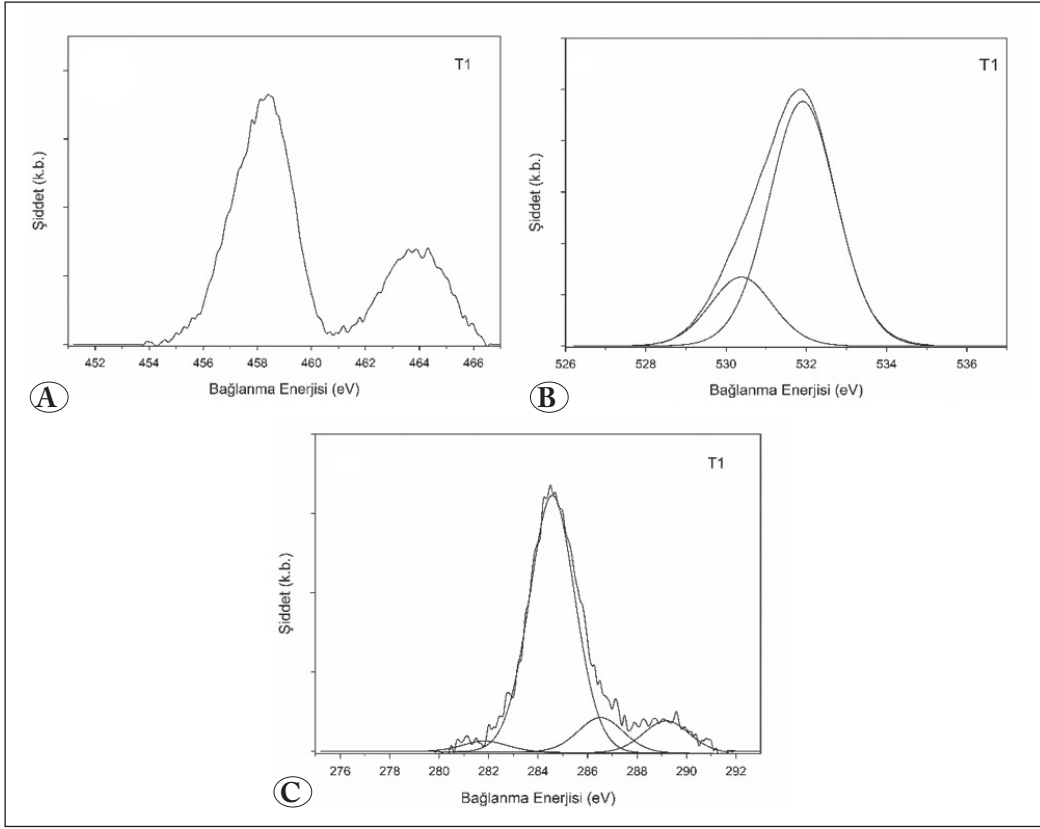


**Şekil 3.** T1 filmine (A) ve T2 filmine (B) ait genel tarama XPS spektrumları.

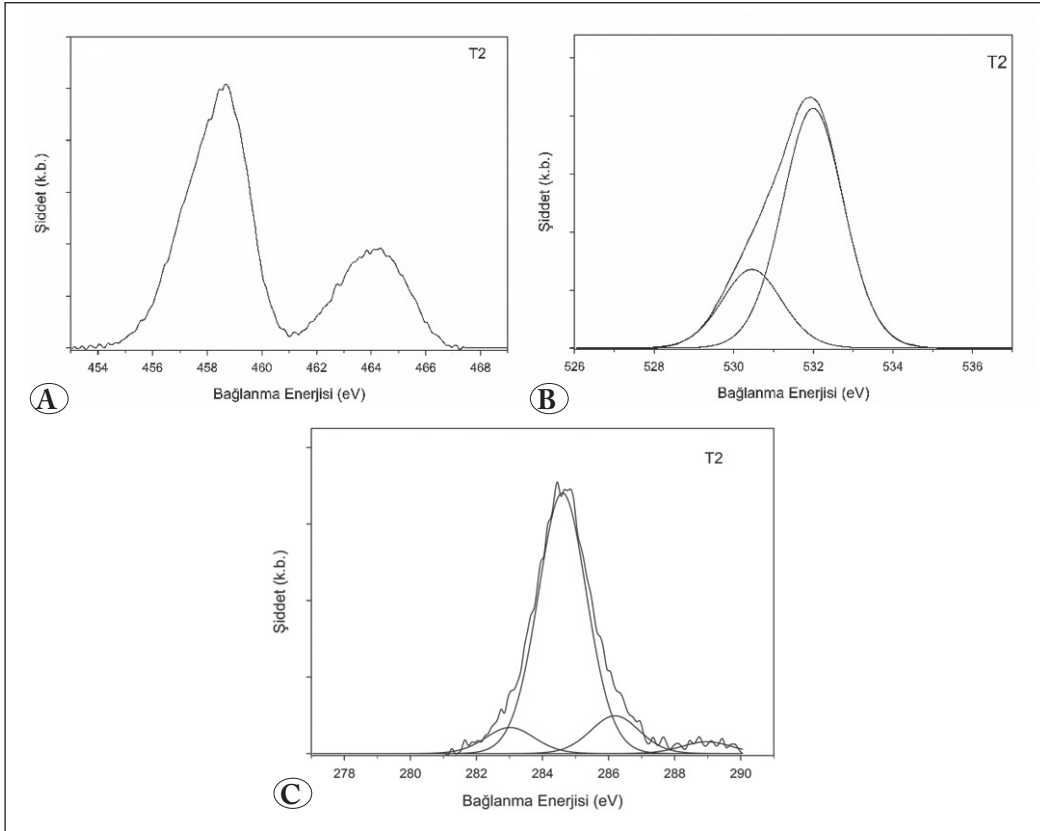
releme gerçekleştirilmemiştir. Diğer yandan, titanyum ve karbonun birlikte olduğu kompozitlerde, TiC fazının oluşması söz konusu olabilir. Ancak bu faza karşılık gelen 455,3 eV'teki karakteristik pik gözlenmediğinden TiC fazının oluşmadığı söylenebilir (Lin vd., 2013). O 1s spektrumunda (Şekil 4B), filtreleme sonucunda 530.4 eV ve 532.0 eV konumunda iki pik gözlenmiştir. Bu pikler sırasıyla TiO<sub>2</sub>'deki Ti-O bağına ve hidroksil gruplarına atfedilmektedir. vd., 2017). Burada Ti-O piki referans değerlerinden daha yüksek değerlere kaymıştır ve bu kayma TiO<sub>2</sub>'de karbon katkısına atfedilir. TiO<sub>2</sub>'deki karbon katkısı O 1s bağlanma enerjisini de etkilemiştir. Şekil 4C'de C 1s spektrumuna filtreleme uygulanmış ve 281.9; 284.5; 286.5 ve 289.2 eV'da konumlanan 4 pik bulunmuştur. Buna göre 281.9 eV'daki pik TiO<sub>2</sub> örgüsüne katkılanarak O-Ti-C bağı oluşturan karbona atfedilir (He vd., 2013; Sullivan vd., 2014; Huang, vd., 2008). 284.5 eV'daki pik C-C bağına (elementel kar-

bon), 286.5 ve 289.2'deki pikler de sırasıyla C-OR(H) ve C-OOR(H) bağlarına karşılık gelmektedir (Basman vd., 2018; Ma vd., 2017; Park vd., 2009; Yan vd., 2004; Yu & Zhang, 2009). Her ne kadar bazı kaynaklar 284.5 eV civarındaki piki safsızlık olarak gelen karbona atfetmeler de, bizim çalışmamızda bu durum söz konusu değildir. Çünkü aynı gerilimde sadece metanolün elektroliz edildiği durumda, metanol kaynaklı karbon; altlık üzerine birikerek film oluşturmaktadır (Basman vd., 2015). Ayrıca görüldüğü üzere pik şiddetli ve keskindir ve karbon oranı yüksektir. Bu sebeple, 284.5 eV'da görülen pik, EBK matrisin karbonuna atfedilmektedir (Ma vd., 2017). 50 µl titanyum(IV) isopropoksit eklenerek hazırlanan bu filmde karbon miktarı titanyum miktarının yaklaşık üç katıdır. Yani bu filmde her ne kadar TiO<sub>2</sub> örgüsü içinde yer alan karbon atomu bulunsada da asıl matris EBK filmidir. Dolayısıyla elde edilen film, TiO<sub>2</sub> katkılı elmas benzeri film olarak değerlendirilmektedir.

T2 filmine ait Ti 2p, O 1s ve C 1s spektrumları sırasıyla Şekil 5A,B ve C'de verilmiştir. Filtreleme işlemine tabi tutulan O 1s ve C 1s pikleri yine Şekil 5B ve C'de verilmiştir. Ti 2p spektrumunda, 458.6 ve 464.2 eV'da yer alan pikler sırasıyla Ti 2p<sub>1/2</sub> ve Ti 2p<sub>3/2</sub> pikleridir. Bu piklerde simetrik olduğundan filtreleme gerçekleştirilmemiştir. Piklerin konumları arasındaki 5.6 eV'luk fark, titanyumun Ti<sup>+4</sup> yükseltgenme durumunda olduğunu göstermektedir (Bharti vd., 2016; Chen vd., 2017; Nezar vd., 2017). 455,3 eV'teki Ti-C karakteristik piki görülmediğinden, bu filmde de TiC fazının oluşmadığı söylenebilir (Lin vd., 2013). O 1s spektrumunda (Şekil 5B), filtreleme sonucunda 530.5 eV ve 532.0 eV konumunda iki pik gözlenmiştir. Bu iki band sırasıyla TiO<sub>2</sub>'deki Ti-O bağına ve hidroksil gruplarına atfedilmektedir. (Bharti vd., 2016; Ennaceri vd., 2017; Nezar vd., 2017). Bu filmde de TiO<sub>2</sub>'de ki karbon katkısından dolayı, Ti-O piki referans değerlerinden daha yüksek değerlere kaymıştır. Şekil 5C'de C 1s spektrumuna filtreleme uygulanmış ve 283.0; 284.6; 286.2 ve 289.0 eV'da konumlanan 4 pik bulunmuştur. Buna göre, 283.0 eV'daki pik TiO<sub>2</sub> örgüsüne katkılanarak O-Ti-C bağı oluşturan karbona atfedilir (He vd., 2013; Sullivan vd., 2014; Huang, vd., 2008). 284.6 eV'daki pik C-C bağına (elementel karbon), 286.2 ve 289.0 eV'daki pikler de C-OR(H) ve C-OOR(H) bağlarına karşılık gelmektedir (Basman vd., 2018; Ma vd., 2017; Park vd., 2009; Yan vd., 2004; Yu & Zhang, 2009). Yine 284.6 eV civarındaki pik şiddetli ve keskindir. Bu pik EBK matrisin karbonuna atfedilmektedir (Ma vd., 2017). Her ne kadar Ti miktarı T1 filmine göre fazla olsa da, bu filmde TiO<sub>2</sub> katkılı EBK film olarak kabul edilebilir.



Şekil 4. T1 filmine ait yüksek çözünürlüklü Ti 2p (A), O 1s (B) ve C 1s (C) spektrumları.



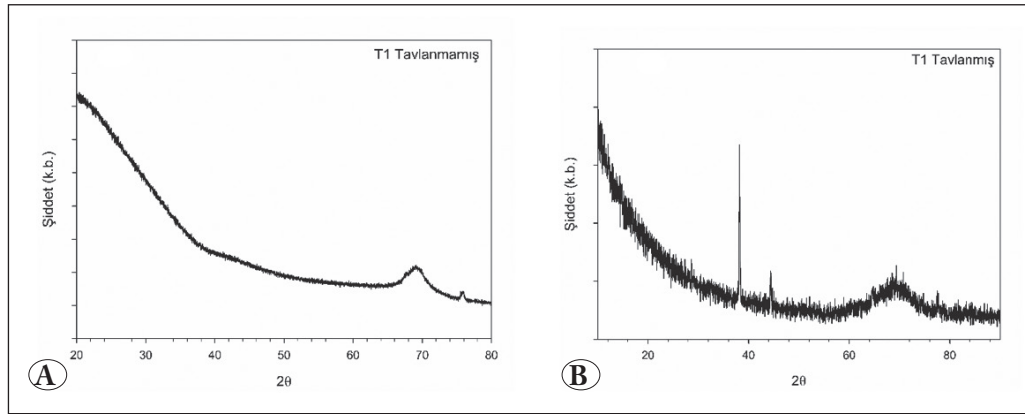
Şekil 5. T2 filmine ait yüksek çözünürlüklü Ti 2p (A), O 1s (B) ve C 1s (C) spektrumları.

### 3.3. XRD Analizleri

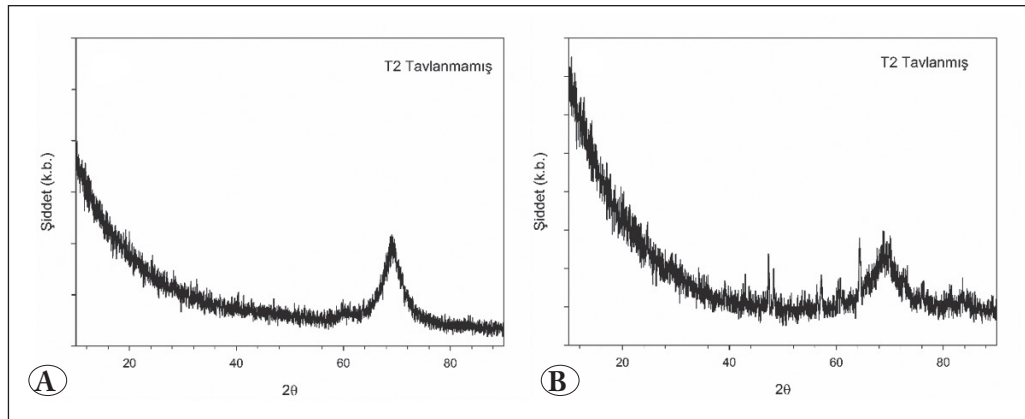
Üretilen filmlerin kristal yapı analizleri X-Işını Kırınım (XRD) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Tavlamanın TiO<sub>2</sub>'nin ve EBK filmin kristal yapısında bir değişikliğe neden olup olmayacağını anlamak için, XRD analizleri filmler tavlama öncesi ve filmler 600 °C'de tavlandıktan sonra yapılmıştır. Şekil 6A ve B, T1 filminin tavlama öncesi ve tavlandıktan sonraki XRD desenini sırasıyla göstermektedir. Silisyum (100) tek kristalli 69.9°'de keskin bir pik gösterir. T1 filminin tavlama öncesi XRD spektrumunda 70° dolaylarında gözlenen geniş pik silisyum altlıkta kaynaklanmaktadır. Fakat altlık film kaplı olduğu için, pik keskin olarak gözlenmediği düşünülmektedir. Diğer taraftan 2θ'nın 75.9° değerinde gözlenen pik (022) elmas karbona karşılık gelmektedir (JCPDS No: 98-006-7787). TiO<sub>2</sub>'ye ait herhangi bir pike rastlanmaması, TiO<sub>2</sub>'nin amorf yapısından ve karbonun yüksek oranından kaynaklanmaktadır (Warkhade et al., 2017). T1 filminin tavlandıktan sonraki XRD spektrumunda; 2θ'nın 44.4 ve 77.62 değerlerinde görülen pikler grafit piklerine (JCPDS No: 96-120-0018) ve 38.18°'de görülen pik moissanite (SiC) pikine (JCPDS No: 96-901-1662) karşılık gelmektedir. SiC pi-

kinden, tavlama ile silisyum ile karbon arasında SiC fazının oluştuğu anlaşılmaktadır. Tavlama sonrası XRD deseninde yeni grafit piklerinin gözlenmesinden tavlama ile filmin içeriğindeki elmasın grafitize olduğu anlaşılmaktadır. EBK filmlerin tavlama ile grafitize oldukları literatürde yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Dolayısıyla burada gözlenen durum literatür ile uyum içerisindedir. Ayrıca, tavlama sonrasında da TiO<sub>2</sub> piki gözlenmemiştir.

Şekil 7A ve B, T2 filminin tavlama öncesi ve tavlandıktan sonraki XRD desenini sırasıyla göstermektedir. Şekil 7A'da 69° civarında gözlenen pik silisyum altlığına aittir. Bu pik dışında diğer fazlara ait bir pik gözlenmemesi filmin amorf yapısına atfedilmektedir. Şekil 7B aynı filmin 600 °C'de tavlandıktan sonra ki, XRD pikini göstermektedir. Tavlama sonrası XRD spektrumunda bazı pikler belirmiştir. 2θ'nın 47.32° ve 60.38° değerlerinde görülen pikler CO fazına karşılık gelirken (JCPDS No: 96-151-7803), 42.99°'de görülen pik grafitik karbona karşılık gelmektedir (JCPDS No: 96-901-2591). 57.2° ve 64.3° civarındaki pikler ise SiC pikleridir. T1 ve T2 filmleri farklı miktarda titanyum ve karbon içerdiklerinden XRD desenleri de birbirinden farklıdır.



Şekil 6. T1 filminin tavlama öncesi (A) ve tavlandıktan sonraki (B) XRD desenleri.



Şekil 7. T2 filminin tavlama öncesi (A) ve tavlandıktan sonraki (B) XRD desenleri.

Biyomedikal metal/metal alaşımların biyouyumluluğunu, korozyon direncini ve antibakteriyel özelliklerini arttırmak için EBK ve nankompozit EBK kaplama çalışmaları literatürde devam etmektedir. EBK filmlerin, TiO<sub>2</sub> ile katkılanmalarında biyo-uyumluluklarının iyileştiği ve antibakteriyel özelliklerinin arttığı rapor edilmiştir. Ancak TiO<sub>2</sub>'nin EBK filmlere katkılanması için yapılan çalışmalarda genellikle KBB ve plazma iyon implantasyon tekniği kullanılmıştır. Bu çalışmamızda KBB ve plazma iyon implantasyon yöntemlerine göre son derece ucuz ve basit ekipman gerektiren elektrokimyasal biriktirme yöntemiyle TiO<sub>2</sub> katkılı EBK filmler üretilmiştir. Bu çalışma, TiO<sub>2</sub> katkılı EBK filmlerin elektrokimyasal yöntemle üretilebileceğini göstermesi açısından önemlidir. Ayrıca, uygulanan gerilim ve TTIP konsantrasyonu gibi deney parametreleri değiştirilerek yapılabilecek yeni çalışmalar içinde yol göstericidir.

#### 4. Teşekkür

Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2015-75737790-03 numaralı proje ile desteklenmiştir.

#### 5. Kaynaklar

- Amin, M. S., Randeniya, L. K., Bendavid, A., Martin, P. J., Preston, E. W. 2009.** Diamond & Related Materials Amorphous carbonated apatite formation on diamond-like carbon containing titanium oxide. *Diam. Relat. Mater.*, 18(9): 1139–1144. Doi:10.1016/j.diamond.2009.02.034
- Basman, N., Aslan, N., Uzun, O., Cankaya, G., Kolemen, U. 2015.** Electrical characterization of metal/diamond-like carbon/inorganic semiconductor MIS Schottky barrier diodes. *Microelectron. Eng.*, 140: 18–22. Doi:10.1016/j.mee.2015.05.001
- Basman, N., Uzun, R., Gocer, E., Bacaksiz, E., Kolemen, U. 2018.** Electrodeposition of Si–DLC nanocomposite film and its electronic application. *Microsyst. Technol.*, 24(5): 2287–2294. Doi:10.1007/s00542-017-3635-y
- Basman, N., Varol, S. F. 2019.** High Temperature Characterization of a MIS Schottky Diode Based on Diamond-Like Carbon Nanocomposite Film. *J. Electron. Mater.*, 48(12): 7874–7881. Doi:10.1007/s11664-019-07621-9
- Basman, N. 2020.** TiO<sub>2</sub> Katkılı Elmas-Benzeri Karbon Nanokompozit Filmin Elektrokimyasal Yöntemle Biriktirilmesi. *Karaelmas Fen ve Müh. Derg.*, 10: 94–99. Doi: 10.7212/zkufbd.v10i1.1373
- Bharti, B., Kumar, S., Lee, H. N., Kumar, R. 2016.** Formation of oxygen vacancies and Ti<sup>3+</sup> state in TiO<sub>2</sub> thin film and enhanced optical properties by air plasma treatment. *Scientific Reports.*, 6: 1–12. Doi:10.1038/srep32355
- Bootkul, D., Saenphinit, N., Supsermpol, B., Aramwit, C., Intarasiri, S. 2014.** Synthesis of Ti-doped DLC film on SS304 steels by Filtered Cathodic Vacuum Arc (FCVA) technique for tribological improvement. *Appl. Surf. Sci.*, 310: 293–299. Doi:10.1016/j.apsusc.2014.04.053
- Bouabibsa, I., Alhussein, A., Lamri, S., Sanchette, F., Rtimi, S. 2020.** Biological responses at the interface of Ti-doped diamond-like carbon surfaces for indoor environment application. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 27(25): 31120–31129. Doi:10.1007/s11356-020-09376-x
- Caschera, D., Federici, F., Pandolfi, L., Kaciulis, S., Sebastiani, M., Bemporad, E., Padeletti, G. 2011.** Effect of composition on mechanical behaviour of diamond-like carbon coatings modified with titanium. *Thin Solid Films*, 519(10): 3061–3067. Doi:10.1016/j.tsf.2010.12.031
- Chen, S. Y., Ou, K. L., Huang, W. C., Chu, K. T., Ou, S. F. 2013.** Phase transformation of diamond-like carbon/silver composite films by sputtering deposition. *Ceram. Intern.*, 39(3): 2575–2580. Doi:10.1016/j.ceramint.2012.09.019
- Chen, X., Kuo, D. H., Lu, D. 2017.** Visible light response and superior dispersed S-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles synthesized via ionic liquid. *Adv. Powder Technol.*, 28(4): 1213–1220. Doi:10.1016/j.appt.2017.02.007
- Dai, W., Ke, P., Wang, A. 2013.** Influence of bias voltage on microstructure and properties of Al-containing diamond-like carbon films deposited by a hybrid ion beam system. *Surf. Coat. Technol.*, 229: 217–221. Doi:10.1016/j.surfcoat.2012.03.076
- Ennaceri, H., Boujnah, M., Taleb, A., Khaldoun, A., Sáez-Araoz, R., Ennaoui, A., El Kenz, A., Benyoussef, A. 2017.** Thickness effect on the optical properties of TiO<sub>2</sub>-anatase thin films prepared by ultrasonic spray pyrolysis: Experimental and ab initio study. *Int. J. Hydrog. Energy*, 42(30): 19467–19480. Doi:10.1016/j.ijhydene.2017.06.015
- Erdemir, A., Donnet, C. 2006.** Tribology of diamond-like carbon films: Recent progress and future prospects. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 39(18): 311–327. Doi:10.1088/0022-3727/39/18/R01
- He, Z., Que, W., Chen, J., He, Y., Wang, G. 2013.** Surface chemical analysis on the carbon-doped mesoporous TiO<sub>2</sub> photocatalysts after post-thermal treatment: XPS and FTIR characterization. *J. Phys. Chem. Solids* 74(7): 924–928. Doi:10.1016/j.jpccs.2013.02.001
- Isildak, O., Özbek, O. 2020.** Application of potentiometric sensors in real samples. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 1-14. Doi: 10.1080/10408347.2019.1711013
- Khun, N. W., Liu, E., Zeng, X. T. 2009.** Corrosion behavior of nitrogen doped diamond-like carbon thin films in NaCl solutions. *Corros. Sci.*, 51(9): 2158–2164. Doi:10.1016/j.corsci.2009.05.050



- Lin, Y. T., Weng, C. H., Lin, Y. H., Shiesh, C. C., Chen, F. Y. 2013.** Effect of C content and calcination temperature on the photocatalytic activity of C-doped TiO<sub>2</sub> catalyst. *Sep. Purif. Technol.*, 116: 114–123. Doi:10.1016/j.seppur.2013.05.018
- Lopes, F. S., Oliveira, J. R., Milani, J., Oliveira, L. D., Machado, J. P. B., Trava-Airoldi, V. J., Lobo, A. O., Marciano, F. R. 2017.** Biom mineralized diamond-like carbon films with incorporated titanium dioxide nanoparticles improved bioactivity properties and reduced biofilm formation. *Mater. Sci. Eng. C*, 81(May): 373–379. Doi:10.1016/j.msec.2017.07.043
- Ma, Y., Han, L., Ma, H., Wang, J., Liu, J., Cheng, L., Yang, J., Zhang, Q. 2017.** Improving the visible-light photocatalytic activity of interstitial carbon-doped TiO<sub>2</sub> with electron-withdrawing bidentate carboxylate ligands. *Catal. Commun.*, 95: 1–5. Doi:10.1016/j.catcom.2017.02.025
- Marciano, F. R., Lima-Oliveira, D. A., Da-Silva, N. S., Diniz, A. V., Corat, E. J., Trava-Airoldi, V. J. 2009.** Antibacterial activity of DLC films containing TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.*, 340(1): 87–92. Doi:10.1016/j.jcis.2009.08.024
- Nezar, S., Saoula, N., Sali, S., Faiz, M., Mekki, M., Laoufi, N. A., Tabet, N. 2017.** Properties of TiO<sub>2</sub> thin films deposited by rf reactive magnetron sputtering on biased substrates. *Appl. Surf. Sci.*, 395: 172–179. doi:10.1016/j.apsusc.2016.08.125
- Park, Y., Kim, W., Park, H., Tachikawa, T., Majima, T., Choi, W. 2009.** Carbon-doped TiO<sub>2</sub> photocatalyst synthesized without using an external carbon precursor and the visible light activity. *Appl. Catal. B. Environ.*, 91(1–2): 355–361. Doi:10.1016/j.apcatb.2009.06.001
- Robertson, J. 2002.** Diamond-like amorphous carbon.pdf. *Mater. Sci. Eng. R Rep.*, 37: 129–281. Doi:10.1016/S0927-796X(02)00005-0
- Sullivan, J. A., Neville, E. M., Herron, R., Thampi, K. R., Macelroy, J. M. D. 2014.** Routes to visible light active C-doped TiO<sub>2</sub> photocatalysts using carbon atoms from the Ti precursors. *J. Photochem. Photobiol. A*, 289: 60–65. Doi:10.1016/j.jphotochem.2014.05.009
- Thorwarth, G., Hammerl, C., Kuhn, M., Assmann, W., Schey, B., Stritzker, B. 2005.** Investigation of DLC synthesized by plasma immersion ion implantation and deposition. *Surf. Coat. Technol.*, 193(1–3 SPEC. ISS.): 206–212. Doi:10.1016/j.surfcoat.2004.07.061
- Wachesk, C. C., Pires, C. A. F., Ramos, B. C., Trava-Airoldi, V. J., Lobo, A. O., Pacheco-Soares, C., Marciano, F. R., Da-Silva, N. S. 2013.** Cell viability and adhesion on diamond-like carbon films containing titanium dioxide nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.*, 266: 176–181. Doi:10.1016/j.apsusc.2012.11.124
- Wachesk, C. C., Trava-Airoldi, V. J., Da-Silva, N. S., Lobo, A. O., Marciano, F. R. 2016.** The Influence of Titanium Dioxide on Diamond-Like Carbon Biocompatibility for Dental Applications. *J. Nanomater.*, 2016: 8194516. Doi:10.1155/2016/8194516
- Warkhade, S. K., Gaikwad, G. S., Zodape, S. P., Pratap, U., Maldhure, A. V., Wankhade, A. V. 2017.** Low temperature synthesis of pure anatase carbon doped titanium dioxide: An efficient visible light active photocatalyst. *Mater. Sci. Semicond Process.*, 63: 18–24. Doi:10.1016/j.mssp.2017.01.011
- Xu, W., Zhou, K. S., Lin, S., Dai, M., Shi, Q., Wei, C. 2018.** Structural properties of hydrogenated Al-doped diamond-like carbon films fabricated by a hybrid plasma system. *Diam. Relat. Mater.*, 87(June): 177–185. Doi:10.1016/j.diamond.2018.06.012
- Y. Huang, W. Ho, S. Lee, L. Zahng, Y. Li, J. Y. 2008.** Effect of Carbon Doping on the Mesoporous Structure of Nanocrystalline Titanium Dioxide and Its Solar-Light-Driven Photocatalytic Degradation of NO<sub>x</sub>. *Langmuir*, 24(7): 3510–3516. Doi: 10.1021/la703333z
- Yan, X. B., Xu, T., Yang, S. R., Liu, H. W., Xue, Q. J. 2004.** Characterization of hydrogenated diamond-like carbon films electrochemically deposited on a silicon substrate. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 37(17): 2416–2424. Doi:10.1088/0022-3727/37/17/012
- Yu, Y., & Zhang, J. 2009.** Electrodeposition and characterization of Pd nanoparticles doped amorphous hydrogenated carbon films. *Solid State Sci.*, 11(11), 1929–1932. Doi:10.1016/j.solidstatesciences.2009.07.012



# An Analytical Solution to Conformable Fractional Fokker-Planck Equation

## *Conformable Anlamında Kesirli Mertebeden Fokker-Planck Denkleminin Analitik Çözümü*

Muammer Ayata\* , Ozan Özkan 

Selcuk University, Faculty of Science, Department of Mathematics, Konya, Turkey

### Abstract

It is the first time in this work that a newly defined conformable Laplace decomposition method (CLDM) is applied to nonlinear fractional Fokker Planck (FP) equation which has a major role in statistical physics. This new algorithm combines conformable Laplace transform and Adomian decomposition method. First, some basic theorems and definitions of fractional derivative are given in conformable sense. Then, the general algorithm of CLDM is presented. After that, the presented method is supported by numerical example by the aid of figures. As is seen from the numerical example, conformable Laplace decomposition method is strong, easy to use, reliable and applicable to a wide variety of fractional PDEs.

**Keywords:** Conformable fractional derivative, Fokker Planck equation, Laplace decomposition method

### Öz

Bu çalışmada, istatistiksel fizikte önemli bir role sahip olan doğrusal olmayan kesirli Fokker Planck (FP) denklemi, yeni tanımlanmış olan conformable Laplace ayrıştırma metodu (CLAM) ile ilk kez çözülmektedir. Bu yeni algoritma, conformable Laplace dönüşümü ile Adomian ayrıştırma yöntemini birleştirmektedir. Çalışmamızda ilk olarak, kesirli türevin bazı temel tanımları ve teoremleri conformable anlamında verilmiştir. Ardından CLAM' in genel algoritması anlatılmıştır. Bundan sonra, kullanılan metod grafikler yardımıyla sayısal örneklerle desteklenmiştir. Sayısal örnekten görüldüğü üzere, conformable Laplace ayrıştırma yöntemi güçlü, güvenilir, kullanımı kolay ve kesirli mertebeden çok çeşitli kısmi türevli diferensiyel denklemlere uygulanabilir özelliklere sahiptir.

**Anahtar Kelimeler:** Conformable kesirli türev, Fokker Planck denklemi, Laplace ayrıştırma metodu

## 1. Introduction

In real life, many events can be modeled in a more accurate way in fractional analysis than classical analysis and also in fractional analysis it is possible to discuss various real world problems modeled. So fractional calculus started to get much attention lately (Podlubny 1998, Atangana et al. 2015). Some of the application areas of fractional calculus are; thermodynamics, entropy in dynamical systems, control theory of dynamical systems, mechanics, economics, motion, control problem, systems identification, signal processing, fluid flow, viscoelastic materials, polymers, dif-


fusion problems, potential fields and many other areas of sciences (Atangana 2015, Miller and Ross 1993).

With the advances in technology, many physical and engineering problems gained an opportunity in modelling with the help of fractional differential equations. Until recently, Riemann-Liouville (RL) and Caputo were the most commonly used fractional derivative definitions for finding approximate solutions of differential equations. But some of the properties that must be in fractional derivative were not satisfied in these definitions. Some of them are as follows (Atangana 2015):

- Derivative of constant in RL does not equal to zero if the order of derivative is not a natural number.
- In order to get the Caputo derivative of a function, it is necessary to get the classical derivative of that function.
- Caputo and RL derivatives do not provide chain rule, product and quotient rules.

\*Corresponding author: [muammerayata55@gmail.com](mailto:muammerayata55@gmail.com)

Muammer Ayata  [orcid.org/0000-0001-9436-6414](https://orcid.org/0000-0001-9436-6414)

Ozan Özkan  [orcid.org/0000-0001-6430-1126](https://orcid.org/0000-0001-6430-1126)



- In Caputo and RL definitions, integer order derivatives do not give the same results as in classical derivatives.

Recently definition of conformable fractional derivative is presented by Khalil et al. (2014) which provides the fractional derivative properties that Caputo and RL definitions do not.

Now let us give some definitions and theorems of conformable fractional derivative that we are going to use.

**Definition 1.1.**

Consider a function  $g$  with  $g: [0, \infty) \rightarrow \mathbb{R}$ . When  $t > 0$ ,  $\eta \in (0, 1)$  in conformable sense,

- $\eta$ -order fractional derivative belongs to  $g$  is defined as 
$$D_t^\eta(g)(t) = \lim_{\lambda \rightarrow 0} \frac{g(t + \lambda t^{1-\eta}) - g(t)}{\lambda} \quad (1)$$
- $D_t^\eta(g)(0) = \lim_{t \rightarrow 0} D_t^\eta(g)(t)$  if  $g$  is  $\eta$ -differentiable in  $(0, d)$  for some  $d > 0$  and if  $\lim_{t \rightarrow 0} D_t^\eta(g)(t)$  exists (Khalil et al., 2014).

**Theorem 1.1.**

Assume  $s, h$  be  $\eta$ -differentiable functions at some point  $t > 0$  and  $\eta \in (0, 1]$ . Then, (Khalil et al. 2014).

1.  $D_t^\eta(hp + sk) = pD_t^\eta(h) + kD_t^\eta(s)$  for any real  $k, p$  constants.
2.  $D_t^\eta(d) = 0$  for any constant function  $s(t) = d$ .
3.  $D_t^\eta(hs) = D_t^\eta(h)s + h D_t^\eta(s)$ .
4.  $D_t^\eta(\frac{h}{s}) = \frac{D_t^\eta(h)s - hD_t^\eta(s)}{s^2}$ .
5.  $D_t^\eta(t^m) = mt^{m-\eta}$  for any real  $m$ .
6.  $D_t^\eta(hog) = h'(s(t))D_t^\eta(s)(t)$  when  $h$  is differentiable at  $s(t)$ .

**Definition 1.2.**

Consider a function  $w: [d, \infty) \rightarrow \mathbb{R}$  with  $a \in \mathbb{R}$  and  $0 < \eta \leq 1$ . Then  $\eta$ -order conformable for the function  $w$ , Abdeljawad (2015) defines Laplace transform as

$$\begin{aligned} \mathcal{L}_\eta^d[w(t)](s) &= \int_d^\infty e^{-s \frac{(t-d)^\eta}{\eta}} w(t) d_\eta(t, d) \\ &= \int_d^\infty e^{-s \frac{(t-d)^\eta}{\eta}} w(t) (t-d)^{\eta-1} dt \end{aligned} \quad (2)$$

**Theorem 1.2.**

Consider a differentiable function  $p: (r, \infty) \rightarrow \mathbb{R}$  with  $r \in \mathbb{R}$  and  $0 < \eta \leq 1$ . Then (Abdeljawad 2015)

$$\mathcal{L}_\eta^r[D_t^\eta(p(t))] = s\mathcal{L}_\eta^r[p(t)] - h(r). \quad (3)$$

**2. Material and Methods**

There are many studies in the literature to show that conformable fractional derivative definition is very useful, effective and powerful. Some of these studies are as follows: Abdeljawad (2015) showed that conformable fractional derivative definition provides power series expansions, Laplace transform, integration by parts, chain rule. Hammad and Khalil (2014) presented the Wronskian form of linear conformable fractional differential equations. Tayyan and Sakka (2020) employed Lie analysis in searching properties of nonlinear conformable time-space fractiolanl PDEs. Eslami and Rezazadeh (2016) used first integral method in solving fractional conformable Wu-Zhang system. Awan et al. (2017) used preinvex functions on getting refinements of conformable fractional Hermite-Hadamard inequalities. Qi and Wang (2020) discussed the asymptotical stability of fractional system solution in conformable sense. Kurt et al. (2017) employed G'/G expansion and homotopy analysis method to find new solutions to fractional system of Nizhnik-Novikov-Veselov in conformable sense. Ayata and Ozkan (2020) found analytical solutions for conformable fractional Newell-Whitehead-Segel equation using conformable Laplace decomposition method. Zafar et al. (2019) explored conformable fractional mKdV equations by the help of  $\exp(-\phi(\tau))$  expansion method. Zhao and Luo (2017) generalized fractional derivative in conformable sense when describing real world problems. Ladrani and Cherif (2020) examined whether the damping conformable fractional equations have oscillating solutions or not. Chung (2015) studied harmonic, damped and forced oscillator problems in Newton mechanics with conformable fractional derivative. Ozkan and Kurt (2018a, 2018b) proved the existence of conformable Laplace transform and introduced conformable double Laplace transform. Özkan and Kurt (2019) also found new exact solutions for some conformable fractional PDE systems.

Due to the wide application areas of fractional analysis, many analytical and numerical methods such as homotopy perturbation method (Momani and Odibat 2007), Kudryashov method (Ray 2016), sub-equation method

(Zhang and Zhang 2011), first integral method (Eslami and Rezazadeh 2016), variational iteration method (Wu and Lee 2010) and Adomian decomposition method (Ray and Bera 2005) have been developed on the solutions of these fractional PDEs.

ADM is an effective method to solve linear-nonlinear PDE's (Rach 1984). For a better accuracy and convergence, there are so many modifications and hybrid forms of ADM. Some of which are Fourier Transform ADM (Nourazar et al. 2013), spectral ADM (Hosseini and Abbasbandy 2015), Legendre polynomials combined with ADM (Keyanpour and Mahmoudi 2012), combination of reproducing kernel method and ADM (Geng and Cui 2011). Here, CLDM we propose for conformable fractional systems is also one of those hybrid forms (Ayata and Özkan 2020). In CLDM, Laplace transform is combined with ADM in conformable sense.

Here we consider fractional FP equation in conformable sense. Andrian Daniel Fokker (1914) and Max Karl Planck (1917) are the first to use FP equation in describing the Brownian motion of particles (Risken and Frank 1989). This FP equation examines the change in the probability density function belongs to velocity and position of an article (Jordan et al. 1998). It has a central role in a large variety of areas some of which are; surface physics, neurosciences, laser physics, nonlinear hydrodynamics, psychology, plasma physics, pattern formation, etc (Frank 2004).

In this work we employ CLDM to nonlinear fractional PDEs. Let's give the CLDM algorithm in details.

Consider the following general fractional systems of PDE's in the operator form

$$D_t^\eta v + H(v) + P(v) = g(x,t) \quad 0 < \eta \leq 1, x > 0, t > 0 \quad (4)$$

with the initial condition

$$v(x,0) = h(x). \quad (5)$$

Here  $D_t^\eta$  represents the linear derivative operator of  $\eta$ -order with respect to  $t$  in conformable sense.  $H$  represents linear operator,  $P$  represents nonlinear operator and  $g$  represents the nonhomogeneous part.

When conformable Laplace transform  $\mathcal{L}_\eta$  is implemented to both sides of Equation 4, it turns into

$$\mathcal{L}_\eta[D_t^\eta v] + \mathcal{L}_\eta[H(v)] + \mathcal{L}_\eta[P(v)] = \mathcal{L}_\eta[g] \quad (6)$$

Using differential property of conformable Laplace transform (Abdeljawad 2015), Equation 6 becomes

$$\mathcal{L}_\eta[v] = \frac{1}{s}(v(x,0) + \mathcal{L}_\eta[g]) - \frac{1}{s}(H(v)) - \frac{1}{s}(P(v)) \quad (7)$$

When inverse of the conformable Laplace transform is implemented to Equation 7, we obtain the solution we are looking for as,

$$v = \mathcal{L}_\eta^{-1}[\frac{1}{s}(v(x,0) + \mathcal{L}_\eta[g])] - \mathcal{L}_\eta^{-1}[\frac{1}{s}(H(v))] - \mathcal{L}_\eta^{-1}[\frac{1}{s}(P(v))] \quad (8)$$

According to the ADM, we decompose the  $v(x,t)$  solution in the Equation 4, nonlinear term

$P(x,t)$  and Adomian Polynomials  $E_n$  as an infinite series given below (Rach 1984, Adomian 1990, Cherruault et al. 1992),

$$v(x,t) = \sum_{n=0}^{\infty} v_n, \quad (9)$$

$$P(v(x,t)) = \sum_{n=0}^{\infty} E_n, \quad (10)$$

$$E_n = \frac{1}{n!} \frac{d^n}{d\lambda^n} [P(v_0 + \sum_{i=1}^n \lambda^i v_i)] \lambda = 0 \quad , \quad n = 0, 1, 2, \dots \quad (11)$$

If Equation 9., Equation 10. and Equation 11. are put in the Equation 8. and both sides are matched, the following iterative algorithm is obtained

$$v_0 = \mathcal{L}_\eta^{-1}[\frac{1}{s}(v(x,0) + \mathcal{L}_\eta[g])] \quad (12)$$

$$v_{n+1} = -\mathcal{L}_\eta^{-1}[\frac{1}{s}(H(v_n))] - \mathcal{L}_\eta^{-1}[\frac{1}{s}(P(v_n))]. \quad (13)$$

When the desired number of  $v_n$  components are calculated, approximate analytical solutions of  $v(x,t)$  can be found from Equation 13.

### 3. Results and Discussion

Let us give a numerical example of fractional PDE systems to conformable Laplace decomposition method.

Consider the given non-linear conformable fractional Fokker Planck PDE below (Eslami and Taleghani 2019)

$$\frac{\partial^\eta v}{\partial t^\eta} = [-\frac{\partial}{\partial x}(3v - \frac{x}{2}) + \frac{\partial^2}{\partial x^2}(xv)]v \quad , \quad x, t > 0 \quad , \quad 0 < \eta \leq 1 \quad (14)$$

with the initial condition

$$v(x,0) = x. \quad (15)$$

To solve this problem above using CLDM presented and initial values given in Equation 14. and Equation 15. we obtain



$$\begin{aligned}
 v_0 &= x, \\
 v_1 &= x \frac{t^\eta}{\eta}, \\
 v_2 &= x \frac{t^{2\eta}}{\eta^2 2!}, \\
 v_3 &= x \frac{t^{3\eta}}{\eta^3 3!}, \\
 v_4 &= x \frac{t^{4\eta}}{\eta^4 4!}, \\
 &\vdots
 \end{aligned}
 \tag{16}$$

Hence the solution  $v(x, t)$  is obtained as follows

$$\begin{aligned}
 v(x, t) &= v_0 + v_1 + v_2 + v_3 + \dots \\
 &= x \left( 1 + \frac{t^\eta}{\eta} + \frac{t^{2\eta}}{\eta^2 2!} + \frac{t^{3\eta}}{\eta^3 3!} + \frac{t^{4\eta}}{\eta^4 4!} + \dots \right)
 \end{aligned}
 \tag{17}$$

with the closed form of

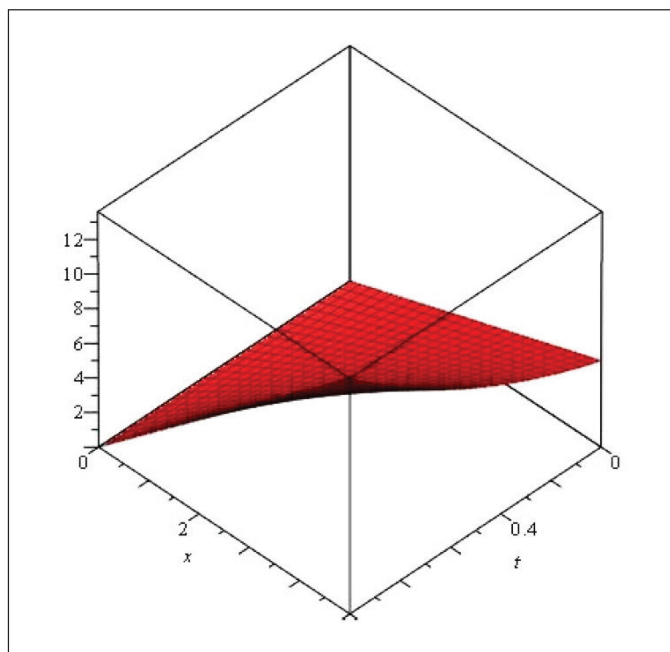
$$v(x, t) = x e^{\frac{t^\eta}{\eta}}.
 \tag{18}$$

For  $\eta = 1$ , the solution becomes

$$v(x, t) = x e^t.
 \tag{19}$$

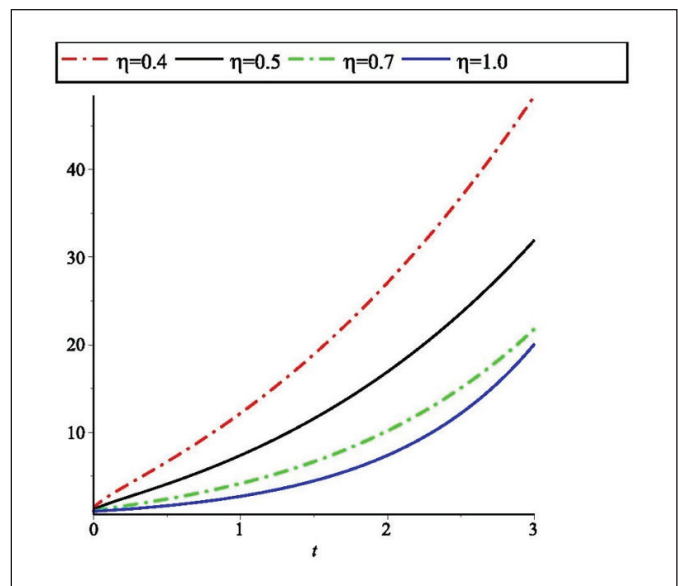
that overlaps with the exact solution in (Eslami and Taleghani 2019).

In Figure 1, it is seen how CLDM solution behave for  $\eta = 1$  when  $0 \leq t \leq 1$  and  $0 \leq x \leq 5$ . In Figure 2,

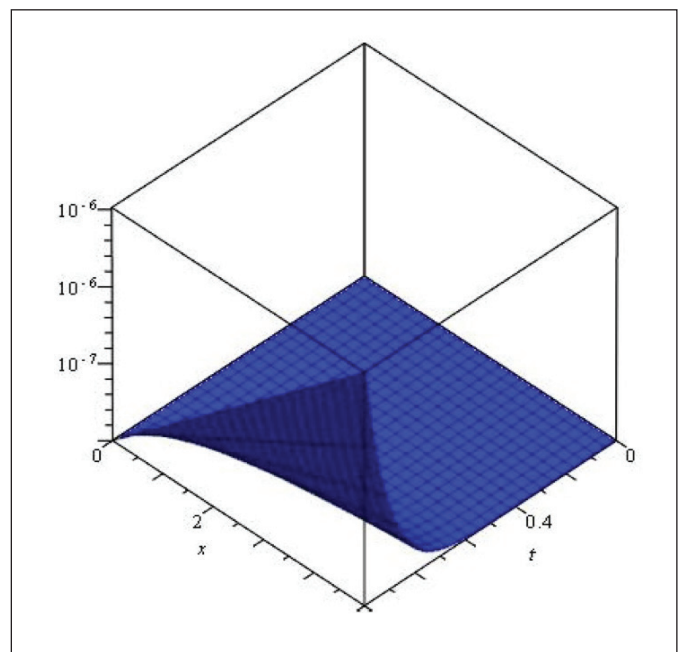


**Figure 1.** CLDM (exact) solution of  $v(x, t)$  for  $\eta = 1$  when  $0 \leq t \leq 1$  and  $0 \leq x \leq 5$ .

CLDM solution is given for different  $\eta$  values at  $x = 1$  and  $0 \leq t \leq 3$ . Here it is aimed to show how the change in derivative order affects the solution. In Figure 3, the error between 10-step CLDM solution and the exact solution for  $\eta = 1$  is given when  $0 \leq t \leq 1$  and  $0 \leq x \leq 5$ . Here it is seen that CLDM gives us a very close result to the exact solution even in 10-step.



**Figure 2.** CLDM solution of  $v(x, t)$  for different  $\eta$  values when  $x = 1$  and  $0 \leq t \leq 3$ .



**Figure 3.** Error between 10-step CLDM solution and exact solution of  $v(x, t)$  for  $\eta = 1$  when  $0 \leq t \leq 1$  and  $0 \leq x \leq 5$ .

In this study the applicability of the new CLDM to nonlinear fractional PDEs is aimed to be demonstrated. In this new CLDM, there is no need of any restrictive assumptions and discretizations. Since the method does not need any discretization, it does not contain round of errors in calculations. As is seen from the numerical example, the solution obtained can be expressed as an infinite power series that can be expressed in closed form. As a result it can be said that CLDM is a powerful mathematical tool in solving nonlinear fractional PDEs and also it is a guide for researchers in that it offers analytical and numerical solutions to a large class of fractional PDEs.

#### 4. References

- Abdeljawad, T. 2015.** On Conformable Fractional Calculus. *J. Comput. Applied Mathematics*. 279: 57-66, DOI: 10.1016/j.cam.2014.10.016
- Adomian, G. 1990.** A Review of the Decomposition Method and Some Recent Results for Nonlinear Equations. *Math. Comp. Modelling*, 13(7): 17-43, DOI: 10.1016/0895-7177(90)90125-7
- Atangana, A. 2015.** Derivative with a New Parameter: Theory, Methods and Applications. *Academic Press*. DOI: <https://doi.org/10.1016/c2014-0-04844-7>
- Atangana, A., Baleanu, D., Alsaedi, A. 2015.** New Properties of Conformable Derivative. *Open Math.*, DOI: 10.1515/math-2015-0081
- Awan, MU., Noor, MA., Mihai, MV., Noor, KI. 2017.** Conformable Fractional Hermite-Hadamard Inequalities via Preinvex Functions. *Tbilisi Math. J.*, 10(4): 129-141, DOI: 10.1515/tmj-2017-0051
- Ayata, M., Özkan, O. 2020.** A New Application of Conformable Laplace Decomposition Method for Fractional Newell-Whitehead-Segel Equation. *AIMS Math.*, 5(6): 7402-7412, DOI: 10.3934/math.2020474
- Cherruault, Y., Saccomandi, G., Some, B. 1992.** New Results for Convergence of Adomian's Method Applied to Integral Equations. *Math. Comp. Mod.*, 16(2): 85-93, DOI: 10.1016/0895-7177(92)90009-A
- Chung, WS. 2015.** Fractional Newton Mechanics with Conformable Fractional Derivative. *J. Comp. Appl. Math.*, 290, 150-158, DOI: 10.1016/j.cam.2015.04.049
- Eslami, M., Rezazadeh, H. 2016.** The First Integral Method for Wu-Zhang System with Conformable Time-Fractional Derivative. *Calcolo*, 53(3), 475-485, DOI: 10.1007/s10092-015-0158-8
- Eslami M, Taleghani SA, 2019.** Differential Transform Method for Conformable Fractional Partial Differential Equations. *Iranian J. Numerical Anal. Opt.*, 9(2), 17-29, DOI: 10.22067/IJNAO.V9I2.67976
- Frank, TD. 2004.** Stochastic Feedback, Nonlinear Families of Markov Processes, and Nonlinear Fokker-Planck Equations. *Physica A: Statistical Mech. its Appl.*, 331(3-4), 391-408, DOI: 10.1016/j.physa.2003.09.056
- Geng, F., Cui, M. 2011.** A Novel Method for Nonlinear Two-Point Boundary Value Problems: Combination of ADM and RKM. *Appl. Math. Comp.*, 217(9), 4676-4681, DOI: 10.1016/j.amc.2010.11.020
- Hammad, MA., Khalil, R. 2014.** Abel's Formula and Wronskian for Conformable Fractional Differential Equations. *Inter. J. Diff. Eqns. Appl.*, 13(3), DOI: 10.12732/ijdea.v13i3.1753
- Hosseini, SG., Abbasbandy, S. 2015.** Solution of Lane-Emden Type Equations By Combination Of The Spectral Method and Adomian Decomposition Method. *Math. Probl. Eng.*, 2015, DOI: 10.1155/2015/534754
- Jordan, R., Kinderlehrer, D., Otto, F. 1998.** The Variational Formulation of the Fokker-Planck Equation. *SIAM J. Math. Anal.*, 29(1), 1-17, DOI: 10.1137/S0036141096303359
- Keyanpour, M., Mahmoudi, A. 2012.** A Hybrid Method for Solving Optimal Control Problems. *IAENG Int. J. Appl. Math.*, 42(2), 80-86
- Khalil, R., Al Horani, M., Yousef, A., Sababheh, M. 2014.** A New Definition of Fractional Derivative. *J. Comput. Appl. Math.*, 264, 65-70, DOI: 10.1016/j.cam.2014.01.002
- Kurt, A., Tasbozan, O., Baleanu, D. 2017.** New Solutions for Conformable Fractional Nizhnik-Novikov-Veselov System via G'/G Expansion Method and Homotopy Analysis Methods. *Optic. Quantum Elect.*, 49(10), 333, DOI: [doi.org/10.1007/s11082-017-1163-8](https://doi.org/10.1007/s11082-017-1163-8)
- Ladrani, FZ., Cherif, AB. 2020.** Oscillation Tests for Conformable Fractional Differential Equations with Damping. *Punjab Univ. J. Math.*, 52(2), 73-82
- Miller, KS., Ross, B. 1993.** An Introduction to the Fractional Calculus and Fractional Differential Equations. *Wiley*
- Momani, S., Odibat, Z. 2007.** Homotopy Perturbation Method for Nonlinear Partial Differential Equations of Fractional Order. *Physics Letters A*, 365(5-6), 345-350, DOI: 10.1016/j.physleta.2007.01.046
- Nourazar, S., Ramezanpour, M., Doosthoseini, A. 2013.** A New Algorithm to Solve the Gas Dynamics Equation: An application of the Fourier Transform Adomian Decomposition Method. *Appl. Math. Sci.*, 7(86), 4281-4286, DOI: 10.12988/ams.2013.33147

- Özkan, O., Kurt, A. 2018a.** The Analytical Solutions for Conformable Integral Equations and Integro-Differential Equations by Conformable Laplace Transform. *Opt. Quantum Elect.*, 50(2), 81, DOI: 10.1007/s11082-018-1342-2
- Özkan, O., Kurt, A. 2018b.** On Conformable Double Laplace Transform. *Opt. Quantum Elect.*, 50(2), 103. DOI: 10.1007/s11082-018-1372-9
- Özkan, O., Kurt, A. 2019.** Exact Solutions of Fractional Partial Differential Equation Systems with Conformable Derivative. *Filomat*, 33(5), 1313-1322, DOI: 10.2298/FIL1905313O
- Podlubny, I. 1999.** Fractional Differential Equations: An Introduction to Fractional Derivatives, Fractional Differential Equations, to Methods of Their Solution and Some of Their Applications. *Elsevier*, DOI: 10.1016/s0076-5392(99)x8001-5
- Rach, R. 1984.** A Convenient Computational Form for the Adomian Polynomials. *J. Math. Anal. Appl.*, 102(2), 415-419, DOI: 10.1016/0022-247X(84)90181-1
- Ray, SS., Bera, RK. 2005.** An Approximate Solution of a Nonlinear Fractional Differential Equation by Adomian Decomposition Method. *Appl. Math. Comput.*, 167(1), 561-571, DOI: 10.1016/j.amc.2004.07.020
- Ray, SS. 2016.** New Analytical Exact Solutions of Time Fractional Kdv-Kzk Equation By Kudryashov Methods. *Chinese Physics B*, 25(4), 040204, DOI: 10.1088/1674-1056/25/4/040204
- Risken, H., Frank, T. 1989.** Methods of Solution and Applications. *Springer Series Synergetics*, 18
- Qi, Y., Wang, X. 2020.** Asymptotical Stability Analysis of Conformable Fractional Systems. *J. Taibah Univ. Sci.*, 14(1), 44-49, DOI: 10.1080/16583655.2019.1701390
- Tayyan, BA., Sakka, AH. 2020.** Lie Symmetry Analysis of Some Conformable Fractional Partial Differential Equations. *Arabian J. Math.*, 9(1), 201-212, DOI: 10.1007/s40065-018-0230-8
- Wu, GC., Lee, EWM. 2010.** Fractional Variational Iteration Method and its Application. *Physics Letters A*, 374(25): 2506-2509, DOI: 10.1016/j.physleta.2010.04.034
- Zafar, A., Rezazadeh, H., Bekir, A., Malik, A. 2019.** Exact Solutions of 3-Dimensional Fractional mKdV Equations in Conformable Form via  $\exp(-\phi(\tau))$  Expansion Method. *SN Appl. Sci.*, 1(11), 1436, DOI: 10.1007/s42452-019-1424-1
- Zhang, S., Zhang, HQ. 2011.** Fractional Sub-Equation Method and its Applications to Nonlinear Fractional PDEs. *Physics Letters A*, 375(7), 1069-1073, DOI: 10.1016/j.physleta.2011.01.029
- Zhao, D., Luo, M. 2017.** General Conformable Fractional Derivative and its Physical Interpretation. *Calcolo*, 54(3), 903-917, DOI: 10.1007/s10092-017-0213-8



# $Ni_N$ (N=6-55) Kümelerinin Geometrik Büyümesi ile Erime Davranışı İlişkisinin İncelenmesi

*The Investigation of the Relationship Between Geometrical Growth and Melting Behavior of  $Ni_N$  (N=6-55) Clusters*

Meral Eryürek\*

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Zonguldak, Türkiye

## Öz

$Ni_N$  (N=6-55) kümelerinin her bir atom eklendiğinde elde edilen minimum enerjili geometrik yapılarının büyüme davranışı ile birlikte erime davranışı incelenmiştir. Bunun için parçacıklar arası etkileşimlerde Sutton-Chen potansiyelinin kullanıldığı mikrokanonik Moleküler Dinamik (MD) simülasyon yönteminden faydalanılmıştır. MD simülasyonundan elde edilen bağ uzunluğundaki dalgalanmaların kare ortalamasının karekökü  $\delta(rms)$  ile çoklu histogram yöntemi kullanılarak hesaplanan ısı kapasitesi eğrilerinin, atom sayısı arttığında nasıl bir davranış gösterdikleri ve kümelerin en kararlı geometrileri ile olan ilişkileri belirlenmiştir.  $\delta(rms)$  lerin faz geçiş bölgesine karşılık gelen, ısı kapasitesi eğrilerinin maksimumları ve global minimumları ile birinci izomerlerinin enerji farklarının atom sayısına bağlı değişim grafikleri incelenmiş ve N=13, 19, 38, 48, 50, 55 kümelerinin en kararlı yapıda olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kümeler, Nikel, Erime, Moleküler dinamik, Termodinamik, Sutton-chen potansiyeli, Çoklu histogram yöntemi

## Abstract

The melting behavior of  $Ni_N$  (N=6-55) clusters was studied, as well as the growing behavior of geometric shapes with the lowest energy acquired when each atom was added. This was accomplished using the microcanonical Molecular Dynamics (MD) simulation approach, which employs the Sutton-Chen potential in interparticle interactions. The heat capacity curves were calculated using the multiple histogram method with the caloric curves from MD simulation and the square root of the mean squared ( $\delta(rms)$ ) of the bond-length fluctuations. How do the heat capacity curves which calculated using the multiple histogram method behave when the atomic number increases and the relations of the clusters with the most stable geometries were determined. The maximums of heat capacity curves corresponding of  $\delta(rms)$  phase transition region and the graph of change by atomic number for the energy difference between global minimum and first isomers have been investigated and N=13, 19, 38, 48, 50, 55 clusters were found to be the most stable sizes.

**Keywords:** Clusters, Nickel, Melting, Molecular dynamics, Thermodynamics, Sutton-chen potential, Multiple histogram methods

## 1. Giriş

Son yıllarda özellikle ikili, üçlü alaşım kümeleri ile ilgili araştırmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmalarda, alaşım kümelerinin kompozisyonları oluşturulurken kararlı geometrik yapıların seçimi öne çıkmaktadır. Bunun için özellikle tek atomlu kümelerin en kararlı geometrik yapılarının ve erime davranışının incelendiği çalışmalardan yararlanılmaktadır.

$Ni$  kümelerinin yüksek kimyasal ve katalitik reaktiviteleri, benzersiz özellikleri ve nano malzemelerdeki çoklu uygulamaları nedeniyle, birçok araştırma alanında önemli bir yer tutmaktadır (Lyalin vd. 2009, Li vd. 2018, Kaatz ve Buthe-el 2018, Wei vd. 2016, Hewage vd. 2012).  $Ni_N$  (N=2-150) kümelerinin yapısal, elektronik ve erime davranışı ile ilgili birçok çalışma vardır (Yuyang vd. 2007, Wei vd. 2012.). Bu çalışmalarda  $Ni$  kümelerinin ikosahedral, kesik oktahedron ve Mackay yapılarında minimum enerjili geometrilere doğru bir gidişat izlediği vurgulanmaktadır.

Bu çalışmada amaç  $Ni_N$  (N=6-55) e kadar olan kümelelerin, her bir atom eklendiğinde nasıl bir geometrik büyüme eğilimi gösterdiğini, bu sürecin katı-sıvı faz geçişinin karakteristiklerine olan etkilerini araştırmaktır. Bunun için

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: meral.eryurek@beun.edu.tr

Meral Eryürek orcid.org/0000-0001-7826-3829





Sutton-Chen etkileşme potansiyelinin kullanıldığı mikrokantonik Moleküler Dinamik simülasyonundan yararlanılmıştır. Erime dinamiğinin analizi için bağ uzunluğundaki dalgalanmaların kare ortalamasının kare kökü  $\delta(\text{rms})$  ve çoklu histogram yönteminden ısı kapasiteleri elde edilmiş ve küme boyutuna göre davranışları incelenmiştir (Lu vd. 2009, Eryürek ve Güven 2008, Cezar vd. 2019, Oderji ve Ding 2011).  $\delta(\text{rms})$  eğrilerindeki katı-sıvı faz geçişi bölgesine karşılık gelen ısı kapasitelerinin maksimumları ( $C_{V_{\text{max}}}$ ) ile her bir kümenin birinci yerel minimumlarının, global minimuma göre enerji farkları ( $\Delta E_{\text{min}} = E_{\text{yerel}} - E_{\text{global}}$ ) elde edilmiştir. Bu niceliklerin atom sayısına bağlı değişim grafiklerinde, komşu kümelerine göre maksimumlarının bire bir uyumlu olduğu görülmüştür (Franz 2001, Noya vd. 2007).

## 2. Gereç ve Yöntemler

### 2.1. Termal Minimizasyon

Kümelerin en düşük enerjili geometrik yapıları ve potansiyel enerji yüzeyi taranırken faz geçiş bölgesine karşılık gelen minimum enerjili geometrileri ve izomerleri, mikrokantonik Moleküler Dinamik (MD) termal minimizasyon yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bu yöntem, sistemin toplam enerjisinin tamamı potansiyel enerji oluncaya kadar, yavaşça toplam enerjinin azaltılmasıyla en düşük enerjili geometriyi elde etmeye dayanır. Bu süreç soğutma işlemi olarak adlandırılır ve enerjideki azaltma miktarı çok küçük tutularak, soğutmanın yavaşça gerçekleştirilmesi sağlanır. Potansiyel enerji, minimum değere ulaşıncaya kadar son koordinat başlangıç koordinatı olacak şekilde hesaplamaya devam edilir (Lloyd ve Johanston 1998, Kirkpatrick vd. 1983).

### 2.2. Potansiyel Enerji

Parçacıklar arası etkileşmeleri veren kuvvet alanı olarak Sutton-Chen potansiyeli kullanılmıştır.

Potansiyel enerji ifadesi

$$V = \xi \left[ \sum_{i < j}^N \left( \frac{a}{r_{ij}} \right)^n - c \sum_i \rho_i^{1/2} \right] \quad (1)$$

$$\rho_i = \sum_{j \neq i} \left( \frac{a}{r_{ij}} \right)^m \quad (2)$$

olup,  $r_{ij} = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|$  olmak üzere  $i$  ve  $j$ . atomlar arasındaki uzaklık,  $a$  örgü sabiti,  $c$  boyutsuz bir parametre,  $x$  enerji boyutunda bir parametre iken  $n$  ve  $m$  birer tamsayıdır. Eşitlikteki birinci terim ikili etkileşmeleri, ikinci terim ise gömme enerjisini tanımlar. Gömme fonksiyonu  $r_i$ ,  $i$  noktasındaki elektronik yük yoğunluğudur ve Eş. 2 den hesaplanır. Nikel kümesi

için  $a$ ,  $c$ ,  $x$ ,  $m$  ve  $n$  parametreleri sırasıyla 3.52Å, 39.432,  $1.5707 \times 10^{-2} \text{eV}$ , 6 ve 9 dur (Nayak vd. 1997).

### 2.3. Moleküler Dinamik Simülasyonu

Mikrokantonik MD simülasyonunda, hesaplamalarda Hamilton Hareket denklemlerinin Hamming'in modifiye dördüncü dereceden predictor corrector algoritması kullanılmıştır (Hamming 1959). Her bir küme için hesaplamalarda, hareket yörüngesinin başlangıç değeri olarak minimum enerjili geometriye karşılık gelen koordinatlar verilmiş, aynı zamanda açıl ve çizgisel momentum bileşenleri sıfırlanmıştır. Adım süresi  $5 \times 10^{-15} \text{s}$  olmak üzere, simülasyonlarda ilk 10000 adım sistemin termal dengeye gelmesi için kullanılırken, toplam 510000 simülasyon adımı atılmıştır. Sistemin toplam enerjideki artış miktarı

$$\Delta E = (3N-6)k\Delta T \quad (3)$$

bağıntısından elde edilmiştir. Burada  $\Delta T = 200 \text{K}$  olarak seçilmiştir. Her bir enerji artışı için bir önceki hesabın son koordinatları ile birlikte son açıl ve çizgisel momentum bileşenleri, başlangıç değeri olarak alınmış ve bu şekilde 20 simülasyon gerçekleştirilerek erime davranışı ile ilgili kinetik ve termodinamik nicelikler hesaplanmıştır.

### 2.4. Çoklu Histogram Yöntemi

MD simülasyonlarında her bir toplam enerji için elde edilen potansiyel enerjilerin dağılımlarından konfigürasyonel entropiler, Çoklu Histogram Yöntemi ile hesaplanmış ve mikrokantonik sistemler için tanımlanan termodinamik denklemler kullanılarak; iç sıcaklık, ısı kapasitesi değerleri elde edilmiştir (Eryürek 2005, Calvo ve Labastie 1995, Labastie ve Whetten 1990).

### 2.5. Kinetik ve Termodinamik Niceliklerin Hesaplanması

Bağ uzunluğundaki dalgalanmaların kare ortalamasının karekökü  $\delta(\text{rms})$

$$\delta(\text{rms}) = \frac{2}{N(N-1)} \sum_{i < j} \frac{(\langle r_{ij}^2 \rangle - \langle r_{ij} \rangle^2)^{1/2}}{\langle r_{ij} \rangle} \quad (4)$$

eşitliğinden hesaplanmıştır. İfadedeki  $\langle \dots \rangle$  sembolü ortalama alındığını,  $N$  parçacık sayısını ve  $r_{ij}$   $i$ . parçacık ile  $j$ . parçacık arasındaki uzaklığı tanımlamaktadır.  $\delta(\text{rms})$  in sıcaklığa bağlı değişim eğrilerindeki ani artışın başladığı sıcaklık değerinden itibaren, yapının erimeye başladığı anlaşılır. Bu davranış genellikle  $\delta(\text{rms})$ 'in 0.1 ile 0.2 aralığında değere sa-

hip olduğu duruma karşılık gelir ki bu Lindemann kriteri olarak bilinmektedir.

Histogram yönteminden hesaplanan konfigürasyonel entropi değerleri, mikrokanonik topluluk için tanımlanan termodinamik denklemlerde

$$\frac{1}{T} = \frac{dS}{dE} \quad \text{ve} \quad -\frac{1}{T^2 C_V} = \frac{d^2 S}{dE^2} \quad (5)$$

kullanılarak sırasıyla iç sıcaklık ve ısı kapasitesi hesaplanmıştır.

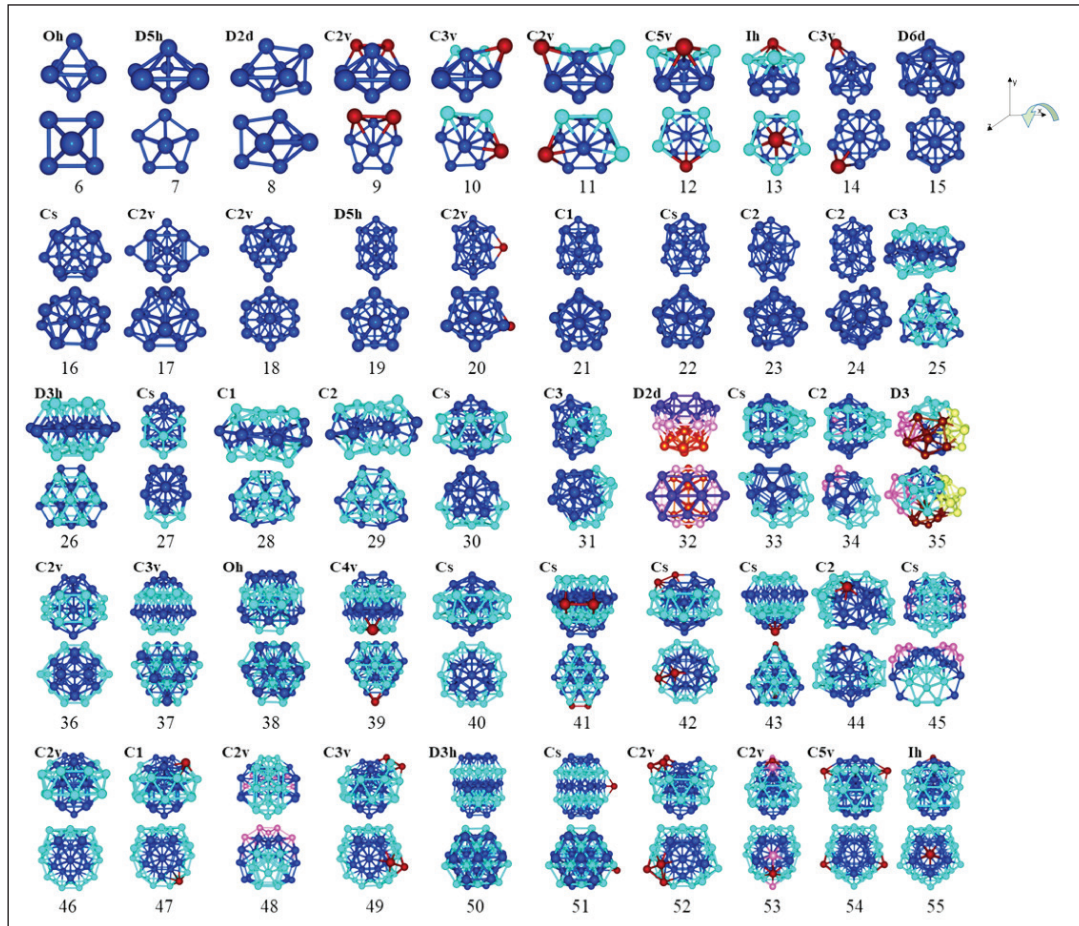
### 3. Bulgular

#### 3.1. Minimum Enerji Geometrileri

Ni<sub>N</sub> (N=6-55) kümelerinin minimum enerjili geometrileri Sutton-Chen Potansiyelinin kullanıldığı MD termal minimizasyon yöntemi ile elde edilmiş ve sonuçları Şekil 1 de sunulmuştur. Geometriler ve enerji değerleri literatürle (Doye ve Wales 1997) karşılaştırılmış ve uyumlu olduğu görülmüştür.

N=6 dan N=55 e giderken her bir atom eklendiğinde geometrik yapının nasıl bir büyüme davranışı gösterdiği anlaşıl-maya çalışılmıştır. Bunun için sistematik bir yol izlenmiştir. İlk olarak, eklenen atom kendisinden bir önceki en yakın geometrik yapıya göre belirgin ve anlaşılır ise kırmızı renkte gösterilmiştir. İkinci olarak, ardışık olmasa da aynı geometriye sahip kümelerin davranışı anlaşılabilir diye birden fazla renk kullanılmıştır (Şekil 1).

Minimum enerjili geometrisi ikili dörtgen piramit olan Ni<sub>6</sub> kümesi hariç, diğer kümelerin ardışık geometrik yapıları izlendiğinde bilinen ve simetrisi en yüksek olan ikosahedral, oktahedron, kesik oktahedron ve ikili Mackay yapıları doğru büyüme eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Bu yapıların ayrıntılı görünüşleri Şekil 2 de sunulmuştur. Geometrilerin en önemli özelliği beşgen ya da altıgen halkalardan oluşan katmanlar içermesidir. Bunun yanı sıra Mackay geometrinin dış katmanı on atomlu beşgen halka ya da ongen halkadan oluşmaktadır. Ardışık kümeler incelendiğinde simetrisi düşük geometrilerin büyüme davranışında; beşgen halkaların, altıgen halkalara dönüşme eğiliminde olduğu fark edilmiş-



**Şekil 1.** Ni<sub>N</sub> (N=6-55) kümelerinin global minimum geometrileri ve nokta grupları. Birinci satırda yapıların karşından, ikinci satırda ise üstten görünüşleri sunulmuş ve her bir atom eklendiğinde geometrik gelişimlerinin belirlenebilmesi için farklı renkler kullanılmıştır.

tir. Yani eklenen atom, bir önceki yapının yanal yüzeyine yerleşmek yerine ikosahedral gövdedeki beşgen halkaları altıgen oluşturma eğilimi gösterdiği, bu davranışın da düzensiz geometrilerin oluşmasına yol açtığı anlaşılmıştır.

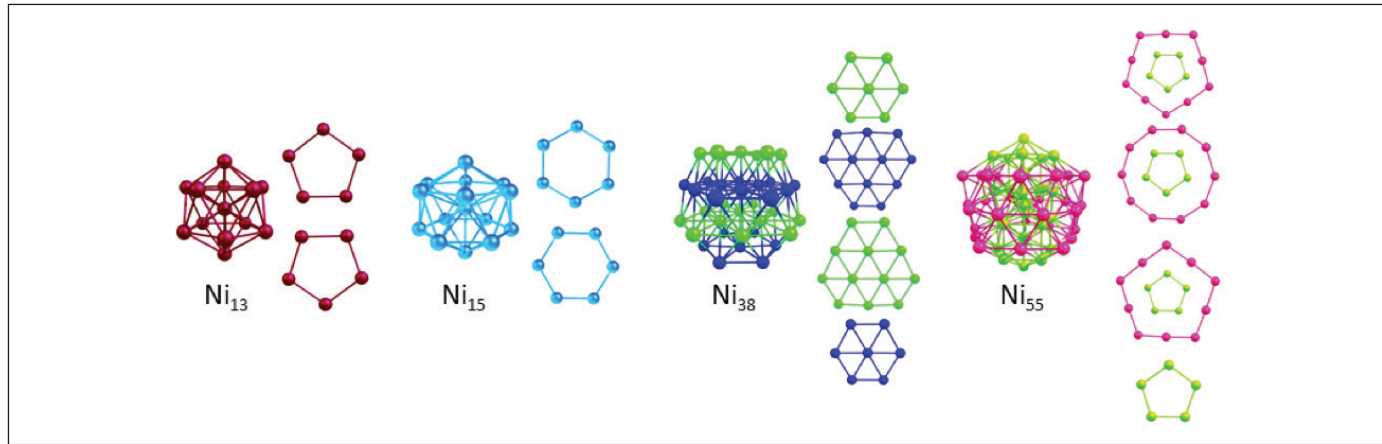
Ni<sub>N</sub> (N= 7, 9-14, 19, 20, 40, 46, 47, 49, 52-55) kümelerinin beşgen halkalar içeren ikosahedral ve Mackay geometrilere doğru büyüme eğilimi gösterdiği, Ni<sub>N</sub> (N=26, 37-39, 41, 43, 50, 51) kümelerinin kesik oktahedron yapıyı tercih ettiği tespit edilmiştir. 33, 34, 45 ve 48 atomlu kümelerin ise Mackay benzeri geometrik yapıda olduğu anlaşılmıştır. Bu kümelerden Ni<sub>48</sub> in ayrıntılı görünümü Şekil 3 de sunulmuştur. Bu yapıda büyüme eğiliminin, Mackay yapıda olduğu gibi on atomlu halkalar oluşturmak yerine, ikili ikosahedral benzeri (Şekil 4 mavi renk) geometriden, bir yönde dışa doğru (Şekil 4 kırmızı ve yeşil renk) genişlediği görülmüştür. Geriye kalan kümelerden N=16-18, 21-24, 30-32, 36, 44 atomlu olanlar incelendiğinde, ikili ikosahedral veya iç gövdesi ikili ikosahedral olan Mackay geometriye doğru büyürken; eklenen atomun, ana yapıyı bozacak şekilde beşgen halkaların içine girmeye çalışarak, gidişattaki düzenin bozulmasına yol

açtığı anlaşılmıştır. N=25, 28 ve 29 düzensiz kesikli oktahedron benzeri yapılarda iken, N=32 ve 35 hiçbir geometriye uymayan bir yapıda olduğu tespit edilmiştir.

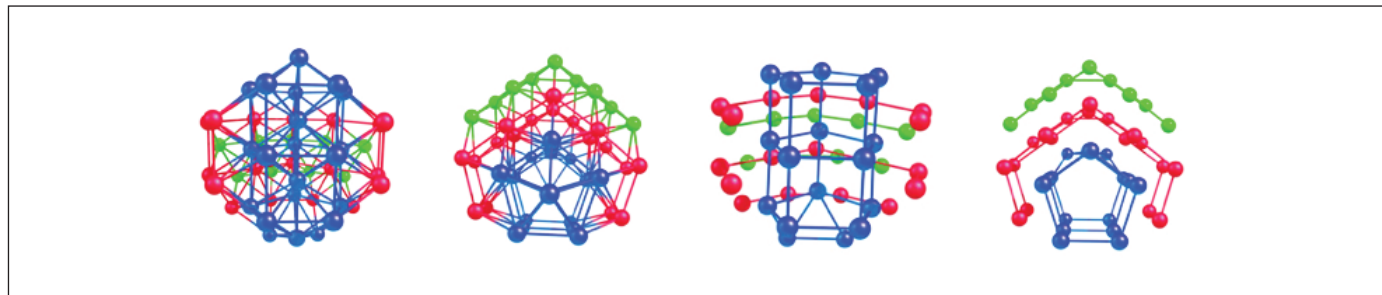
### 3.2. $\delta(rms)$ ve Isı Kapasitesi Eğrileri

Şekil 4 de sıcaklığa bağlı olarak verilen Ni<sub>N</sub> (N=6-55) kümelerinin  $\delta(rms)$  ve mikrokronik ısı kapasitesi eğrileri kümelerin kararlılığını tanımlamak için kullanılmıştır. (Agua-do ve Jarrold 2011 Lyalin 2009, Cezar vd. 2019, Oderji ve Ding 2011))

$\delta(rms)$  eğrileri, ısı kapasiteleri ile birlikte ele alındığında kümelerin erime davranışını tanımlamak için faydalı bir yöntemdir (Eryürek ve Güven 2008, Karabacak vd. 2002, Haberland 2000, Lu vd. 2009, Cezar vd. 2019, Teng vd. 2007). Global minimumları daha kararlı olan Ni<sub>N</sub> (13, 19, 38, 48, 50, 52-55) kümelerin ısı kapasitesi eğrilerinin maksimumlarının daha keskin ve  $\delta(rms)$  nin ani artışına karşılık gelen faz geçiş bölgesinde olduğu görülmüştür. Global minimumları düzensiz veya kararsız olan kümelerin ise ısı kapasitelerinin maksimumlarının komşu kümelerine göre daha küçük veya



**Şekil 2.** Sırasıyla ikosahedral, oktahedron, kesik oktahedron ve ikili Mackay Geometriler ve ayrıntılı görünümleri. Burada, katmanlar anlaşılabilir diye merkez atomlar gösterilmemiştir.



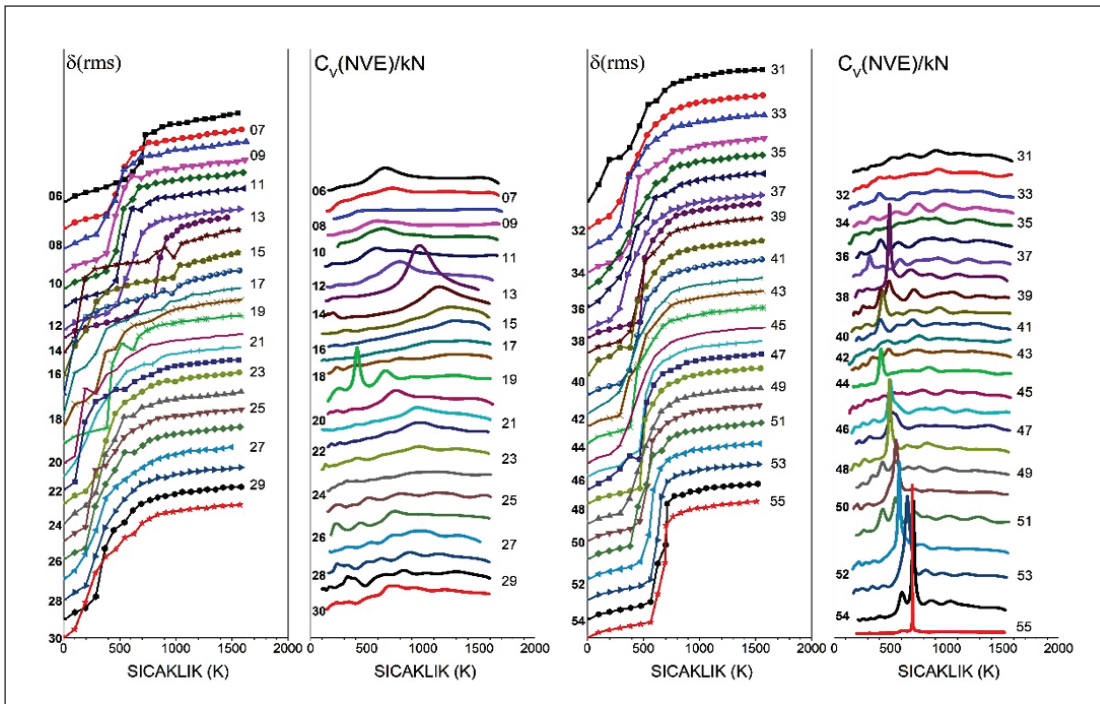
**Şekil 3.** Ni<sub>48</sub> kümesinin Mackay benzeri geometrisi. Bu yapıda dış katmandaki on atomlu beşgen katmanlar oluşmadan (kırmızı atomlar), büyüme yanal yüzeyde bir yönde üçüncü bir katman (yeşil atomlar) oluşturacak şekilde gerçekleşmiştir. Bir diğer farklılık da ikosahedral gövdedeki (mavi atomlar) beşgen halkaların köşelerinin aynı hizada oluşudur.



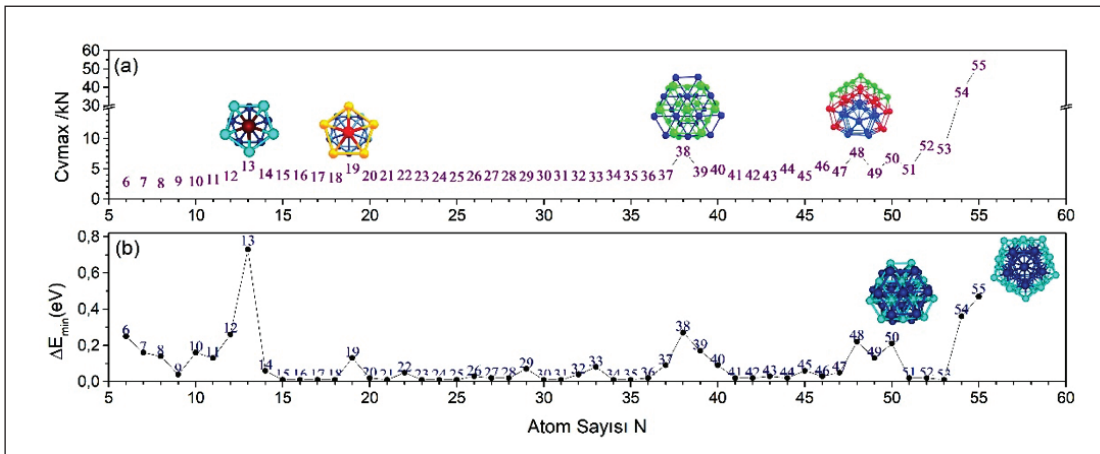
ısı kapasitesi eğrilerinin yayvan olduğu tespit edilmiştir. Bu kümelerin  $\delta(\text{rms})$  eğrileri incelendiğinde, katı faz bölgesinde fazla bulunmadığı ve hızla ani artışa geçtiği anlaşılmıştır. Bu durum yapının kararsızlığının da bir ölçüsüdür (Cezar vd. 2019, Teng vd. 2007).

Ni<sub>N</sub> (N=6-55) kümelerinin ısı kapasitelerinin maksimum değerleri,  $\delta(\text{rms})$  in Lindemann kriteri de dikkate alınarak elde edilmiş ve Şekil 5.a da sunulmuştur. Global minimumların kararlılığı hakkında daha kesin bir sonuca ulaşabilmek için, MD simülasyonunda her bir toplam enerji değerine karşılık gelen faz uzayı hesaplamalarında, kaydedilen koordinatların minimizasyonundan elde edilen, global minimum

ma en yakın izomerin enerji farkları  $\Delta E_{\text{min}}$  un, atom sayısına bağlı değişim grafiği de çizilmiş ve Şekil 5.b de sunulmuştur. Bu grafikler birlikte ele alındığında komşu kümelerine göre Ni<sub>N</sub>-(N=13, 19, 38, 48, 50, 55) kümelerinin, hem  $C_{V\text{max}}$  ları hem de  $\Delta E_{\text{min}}$  ları daha büyüktür. Bu sonuç aynı zamanda ilgili kümelerin diğerlerine göre geometrik kararlılığının doğruluğunu da desteklemiştir (Frantz 2001, Noya vd. 2007). Bu kümelerin global minimumları, en çok bilinen yüksek simetriye sahip sırasıyla ikosaedral, ikili ikosaedral, kesik oktahedron, Mackay benzeri, ikili kesik oktahedron ve ikili Mackay olan en kararlı geometrilerdir (Şekil 2 ve 3).



Şekil 4. Ni<sub>N</sub> (N=6-50) kümelerinin erime davranışına ait sırasıyla  $\delta(\text{rms})$  ve mikrokanonik Isı Kapasitesi Eğrileri (y-eksenleri normalize edilmiştir.). Kümelerin atom sayıları eğrilerin yan tarafında belirtilmiştir.



Şekil 5. Ni<sub>N</sub> (N=6-55) kümelerinin (a) Isı kapasitelerinin maksimum değerlerinin (b) global minimumları ile birinci izomerlerinin enerji farklarının atom sayısına bağlı değişim grafikleri.



#### 4. Sonuçlar ve Öneriler

Ni<sub>N</sub> (6-55) kümelerinin sırasıyla her bir atom eklendiğinde büyüme davranışı ayrıntılı olarak ele alınmış ve yüksek simetriye sahip kümeler (ikosahedral, ikili ikosahedral, Mackay ve ikili Mackay yapılar) sırasıyla tespit edilmiştir. Ni<sub>8</sub> hariç N=7, 9-13 e kadar her bir atom eklendiğinde yapı ikosahedral geometriye doğru büyüme göstermiştir. Ni<sub>14</sub>, ikosahedral olan Ni<sub>13</sub>'ün yanal yüzeyine bir atomun eklendiği yapıda iken, 15-18 e kadar ikosahedral yapı bozulmuş onun yerine altıgen halkanın tercihli olduğu geometrilere rastlanmıştır. Ni<sub>19</sub> yüksek simetriye sahip ikili ikosahedral geometride olduğu halde N=40 a kadar Mackay geometriye doğru net bir gidişata rastlanmamıştır. Ni<sub>40</sub> son katmanı beşgen yerine altıgen olan Mackay geometride olup, 46, 47, 49, 52-55 e kadar atomlar eklendikçe global minimumlar ikili Mackay geometriye doğru; 37-39, 41, 43, 50, 51 kümeleri ise kesik oktahedron, ikili kesik oktahedrona doğru büyüme eğilimi göstermiştir. Sonuç olarak etkileşim potansiyeli olarak Sutton-Chen Potansiyelinin kullanıldığı Ni<sub>N</sub> (N=6-55) kümelerinin büyüme davranışı belirli bir düzende gerçekleşmemiştir. Buna benzer bir çalışma daha önce yapılmadığı için 6-55 aralığındaki Nikel kümelerinin global minimumlarının geometrik davranışı ile ilgili yapılan bu detaylı analiz, alaşım kümeleri ile ilgili çalışmalara önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Ardışık olarak kümelerin erime davranışı ile ilgili  $\delta(\text{rms})$  ve ısı kapasiteleri incelenerek global minimumu en kararlı olan kümeler belirlenmiştir. Isı kapasitelerinin,  $\delta(\text{rms})$  eğrilerinin faz geçiş bölgesine karşılık gelen maksimumların  $C_{V_{\text{max}}}$  değerleri elde edilmiş, her bir kümenin kendisine en yakın yerel minimumunun  $\Delta E_{\text{min}}$  grafikleri karşılaştırmalı olarak ele alınmış ve birbirleri ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Kümelerin global minimumları ne kadar kararlı ise (N=13, 19, 38, 48, 50, 55),  $\Delta E_{\text{min}}$  değerleri o kadar büyük ve  $C_{V_{\text{max}}}$  pikleri daha keskin ve daha büyüktür. Sonuç olarak ısı kapasitelerinin maksimumlarının keskin ve değerinin büyük olması, ilgili kümenin global minimumunun kararlılığının bir ölçüsüdür.

Franz (2001), Lennard-Jones kümeleri ile ilgili yaptığı çalışmada  $C_{V_{\text{max}}}$  ve erime sıcaklığının atom sayısına bağlı değişimlerini karşılaştırılmış ve benzerliğin nedeni olarak kümelerin geometrik kararlılığını öne sürmüştür. Bunun yanı sıra kümelerle ilgili sihirli sayı davranışı olarak bilinen çalışmalarda (Doye ve Meyer 2005, Noya vd. 2007, Wu vd. 2012), komşu kümelerin global minimumlarının, birinci ve ikinci mertebeden enerji farklarının atom sayısına bağlı değişimlerini elde etmek ve buradan kararlı yapıları

belirlemek de yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada; ısı kapasitelerinin,  $\delta(\text{rms})$  in faz-geçiş bölgesine karşılık gelen  $C_{V_{\text{max}}}$  değerleri ile her bir kümenin birinci izomeri ile global minimumu arasındaki enerji farkının atom sayısına bağlı değişimleri karşılaştırılmış ve benzer bir ilişki bulunmuştur.

Oderji ve Ding (2011) alaşım kümeleri ile ilgili erime geçişi çalışmalarında belirttikleri gibi,  $\delta(\text{rms})$  ve ısı kapasitelerinin birlikte ele alındığı analizlerden; düzensiz global minimumları olan kümelerin, ısı kapasitesi eğrilerinin komşu kümelerine göre yayvan olması, belirgin maksimumlarının olmaması, erime davranışlarını belirlemede zorluk oluşturmaktadır. Bu zorluğu gidermek için faz-geçiş bölgesinde, simülasyon sürecinde potansiyel enerji yüzeyini tarayarak, kümenin hangi minimumlara gittiğini, geometrinin ne şekilde değiştiğini araştırmak da bir çözüm üretebilir.

#### 5. Teşekkür

Bu çalışmaya maddi destek sağlayan Bülent Ecevit Üniversitesi'ne (BAP 2014-22794455-01) teşekkürlerimi sunarım.

#### 6. Kaynaklar

- Aguado, A., Jarrold, M.F. 2011.** Melting and Freezing of Metal Clusters. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 62: 151-72. <https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-032210-103454>.
- Calvo, F., Labastie, P. 1995.** Configurational density of states from molecular dynamics simulations. *Chem. Phys. Lett.*, 247: 395-400. [https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(95\)01226-5](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(95)01226-5).
- Cezar, H.M., Rondina, G.G., Silva, J.L.F. 2019.** Thermodynamic properties of 55-atom Pt-based nanoalloys: Phase changes and structural effects on the electronic properties *J. Chem. Phys.*, 151: 204301. <https://doi.org/10.1063/1.5125689>.
- Doye, J.P.K., Meyer, L. 2005.** Mapping the magic numbers in binary Lennard-Jones clusters. *Phys Rev Lett.* 95(6): 063401. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.95.063401>.
- Doye, J.P.K., Wales, D.J., 1998.** Global minima for transition metal clusters described by Sutton-Chen potentials. *New J. Chem.*, 22: 733-744. <https://doi.org/10.1039/A709249K>.
- Eryürek, M. 2005.** Simülasyon Yöntemleriyle Kümelerin Termodinamik Niceliklerinin Belirlenmesi. *Doktora Tezi*, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 20s. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tarama.jsp>, tez no: 168576.
- Eryürek, M., Güven, M.H. 2008.** Peculiar thermodynamic properties of LJ N (N = 39-55) clusters. *Eur. Phys. J. D*, 48 (2): 221-228. <https://dx.doi.org/10.1140/epjd/e2008-00094-2>.

- Frantz, D.D., 2001.** Magic number behavior for heat capacities of medium-sized classical Lennard-Jones clusters. *J. Chem. Phys.*, 115: 6136. <https://doi.org/10.1063/1.1397329>.
- Guvenc, Z.B., Jellinek, J., Voter, A.F. 1991.** Phase changes in nickel clusters from an embedded-atom potential. *Int. Symp. on the Phys. and Chem. of finite sys.: from clusters to crystals*, Richmond, VA (United States). <https://doi.org/10.1021/jp962720r>.
- Güvenç, Z.B., Güvenç, D., Jellinek, J. 1999.** Structural Forms and Energies of NiN, N=12-14, Clusters. *Math. Com. App.*, 4(1): 75-81. <https://doi.org/10.3390/mca4010075>.
- Haberland, H. 2000.** Melting of Clusters. Springer, Les Houches, Session LXXIII pp. 3-26.
- Hamming, R.W. 1959.** Predictor-Corrector Methods for Ordinary Differential Equations. *J. ACM*, 6 (1): 37-47. <https://doi.org/10.1145/320954.320958>.
- Hewage1, J.W., Rupika, W.L., Amar, F.G. 2012.** Structure, dynamic and energetic of mixed transition metal clusters: A computational study of mixed clusters of silver and nickel. *Eur. Phys. J. D*, 66: 282. <https://doi.org/10.1140/epjd/e2012-20691-6>.
- Kaatz, F. H., Bultheel, A. 2018.** Size, shape, and compositional effects on the order-disorder phase transitions in Au-Cu and Pt-M (M = Fe, Co, and Ni) nanocluster alloys. *Nanotechnology* 29: 345701. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/aac6b4>.
- Kirkpatrick, S., Gelatt, C. D., Vecchi, Jr., M. P. 1983.** Optimization by Simulated Annealing. *Science*, 220 (4598): 671-680. <http://dx.doi.org/10.1126/science.220.4598.671>.
- Labastie, P., Whetten, R.L. 1990.** Statistical Thermodynamics of the Cluster Solid-Liquid Transition. *Phys. Rev. Lett.* 65: 1567-1570. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.65.1567>.
- Li, T.T., He, C., Zhang, W.X., Cheng, M. 2018.** Structural and melting properties of Cu-Ni clusters: A simulation study. *J. All. Com.* 752:76-84. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.04.145>.
- Lloyd, L.D., Johnston, R.L. 1998.** Modelling aluminium clusters with an empirical many-body potential. *Chem. Phys.*, 15:107-121. [https://doi.org/10.1016/S0301-0104\(98\)00180-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0104(98)00180-3).
- Lu, S., Zhang, J., Duan, H. 2009.** Melting behaviors of CoN (N = 13, 14, 38, 55, 56) clusters. *Chem. Phys.*, 363: 7-12. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2009.06.010>.
- Lyalin, A., Hussien, A., Solov'ov, A.V., Greiner, W. 2009.** Impurity effect on the melting of nickel clusters as seen via molecular dynamics simulations. *Phys. Rev. B*, 79: 165403. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.79.165403>.
- Nayak, Saroj K., Khanna, S. N., Rao, B. K., Jena, P. 1997.** Physics of Nickel Clusters: Energetics and Equilibrium Geometries. *Phys. Chem. A*, 101 (6): 1072-1080. <https://doi.org/10.1021/jp962720r>.
- Noya, E.G., Doye, J.P.K., Wales, D.J., Aguado, A. 2007.** Geometric magic numbers of sodium clusters: Interpretation of the melting behaviour. *Eur. Phys. J. D* 43(1):57-60. <https://doi.org/10.1140/epjd%2Fe2007-00092-x>.
- Oderji, H.Y., Ding, H. 2011.** Determination of melting mechanism of Pd24Pt14 nanoalloy by multiple histogram method via molecular dynamics simulations. *Chem. Phys.*, 388: 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2011.07.011>.
- Teng, Y., Zeng, X., Zhang, H., Sun, D. 2007.** Melting and Glass Transition for Ni Clusters. *J. Phys. Chem. B*, 111 (9): 2309-2312. <https://doi.org/10.1021/jp070061k>.
- Wei, C., Zhao, Z., Fisher, A., Zhu, J., Cheng, D. 2016.** Theoretical Study on the Structures and Thermal Properties of Ag-Pt-Ni Trimetallic Clusters. *J. Clust. Sci.*, 27:1849-1861. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10876-016-1068-x>.
- Wu, X., Chen, S., Sun, S., Chen, Y. 2012.** Geometrical structures of gold clusters on Gupta and Sutton-Chen potentials. *Com. Theor. Chem.*, 1002 (15): 43-48 <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2012.10.001>.
- Yıldırım, E.K., Atış, M., Güvenç, Z.B. 2005.** Structure and dynamical properties of AuN, N=12-14 clusters: Molecular dynamics simulation. *Int. J. Mod. Phys. C*, 16(01): 99-116. <https://doi.org/10.1142/S0129183105006966>.



# İçme Suyu Kaynaklarının Klor ve Klor Dioksit ile Dezenfeksiyonu Sonucu Meydana Gelen Dezenfeksiyon Yan Ürünleri Oluşumunun Araştırılması: İstanbul Örneği

*Investigation of Disinfection By-Products Formation in Disinfection of Drinking Water Sources with Chlorine and Chlorine Dioxide: Istanbul Case Study*

Kadir Özdemir\*

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Zonguldak, Türkiye

## Öz

Bu çalışmada içme suyu kaynaklarının klor ( $Cl_2$ ) ve klor dioksit ( $ClO_2$ ) ile oksidasyonu sonucu meydana gelen sırası ile trihalometan (THM), klorit ( $ClO_2^-$ ) ve klorat ( $ClO_3^-$ ) gibi dezenfeksiyon yan ürünleri (DYÜ) araştırılmıştır. Bu çalışmada analiz edilen su örnekleri İstanbul'un içme suyu kaynakları olan Terkos Gölü (TRG), Büyükçekmece Gölü (BÇG) ve Ömerli Baraj (ÖLB) sularından toplanmıştır. Su örnekleri  $Cl_2$  ve  $ClO_2$  ile oksitlenerek verilen reaksiyon süreleri sonunda meydana gelen THM oluşumları tespit edilmiştir. TRG, BÇG ve ÖLB su örneklerinde doğal organik madde (DOM) içeriği ise toplam organik karbon (TOK), 254 nm'deki ultraviyole absorban (UV254) ve spesifik ultraviyole absorban (SUVA) parametrelerinin ölçümleri ile ortaya konulmuştur. Klorlanan su numunelerinde 24 saatlik reaksiyon süresi sonunda ve oda sıcaklığında (25 °C) ölçülen en yüksek THM konsantrasyonu (235,65 µg/l) TRG ham sularında gözlemlenmiştir.  $Cl_2$  ile oksitlenen sulardaki THM miktarlarında artış meydana gelirken  $ClO_2$  ile oksitlenen su numunelerinde ise azalma trendi gözlenmiştir. Diğer yandan bu çalışmada su örneklerinin  $ClO_2$  ile oksitlenmesi sonucu meydana gelen  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  gibi inorganik yan ürünlerin oluşumları değerlendirilmiştir.  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  oluşum yüzdeleri sırası ile TRG'de %68,51-%13,21, BÇG'de %61,05-%12,28 ve ÖLB'de ise %69,87-%15,67 olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Klor dioksit, Klorlama, Trihalometan, Klorit, Klorat, İstanbul

## Abstract

In this study, formation of disinfection byproducts (DBPs), namely, trihalomethane (THM) during chlorine ( $Cl_2$ ) and chlorine dioxide ( $ClO_2$ ) oxidizing was investigated with reference to key controlling parameters. Terkos Lake Water (TRG), Büyükçekmece Lake Water (BÇG) and Ömerli Dam (OLB) were used as drinking water source in present study. Water samples were oxidized with  $Cl_2$  and  $ClO_2$  doses at the end of given reaction times to observe the formation of THMs in water sources. The structures of natural organic matter (NOM) in TRG, BÇG and ÖLB samples were revealed to the organic parameters, namely, total organic carbon (TOC), ultraviolet absorbance at 254 nm wavelength (UV254) and specific ultraviolet absorbance (SUVA). Among to the chlorinated drinking water sources, the highest THM concentration was observed as (235,65 µg/l) in TRG samples with dose of  $Cl_2$  (10 mg/l) at the end of reaction time of 24 h. Although THM amounts increased in waters oxidized with  $Cl_2$ , the trend of decreasing THM amounts with oxidized  $ClO_2$  was observed. On the other hand, formation of inorganic DBPs such as chlorate ( $ClO_3^-$ ) and chlorite ( $ClO_2^-$ ) was evaluated during  $ClO_2$  oxidizing.  $ClO_2^-$  and  $ClO_3^-$  levels were determined as 68,51%-13,21% for TRG, 61,05% -12,28% for BÇG and 69,87% -15,67% for OLB.

**Keywords:** Chlorine dioxide, Chlorination, Trihalomethane, Chlorite, Chlorate, İstanbul

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: [kadirozdemir73@yahoo.com](mailto:kadirozdemir73@yahoo.com)

Kadir Özdemir [orcid.org/0000-0003-1464-7078](https://orcid.org/0000-0003-1464-7078)



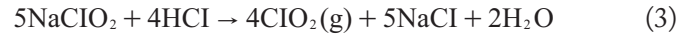
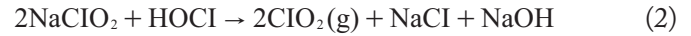
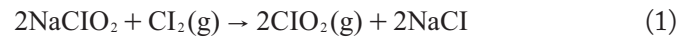
## 1. Giriş

Klorlama dünyada sadece içme suyu kaynaklarının dezenfeksiyonu için değil aynı zamanda termik santralleri, rafineriler, petrokimya endüstrisi ve kimyasal işletme tesisleri gibi endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanan kirlenmenin önüne geçmek için de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Satpathy vd. 2019). Bununla beraber dünyada içme suyu ihtiyacı, kullanım amacı ve miktarına bağlı olarak göl, nehir ve tatlı su rezervuarları gibi farklı doğal su kaynaklarından karşılanmaktadır. Dezenfeksiyon, göl ve nehir gibi yüzeyel su kaynaklarından patojen mikroorganizmaları bertaraf ederek daha güvenli ve kaliteli bir su üretmek için gerçekleştirilmektedir (Agusa vd. 2009, Chowdury vd. 2014, Wang vd. 2018). İçme suyu kaynaklarının klorla dezenfeksiyonu sonucunda trihalometanlar (THMs) ve Haloasetik asitler (HAAs) gibi önemli dezenfeksiyon yan ürünleri meydana gelmektedir (Dickenson vd. 2008, Sadiq ve Rodriguez 2004). Amerika Birleşik Devletleri Çevre koruma Ajansı (USEPA 2006) tarafından insan sağlığı üzerinde kanserojen etkilere sahip olan THMs ve HAAs'ın içme sularında kontrolü için maksimum kirletici limit konsantrasyon değerleri sırası ile 80 µg/l ve 60 µg/l olarak belirlenmiştir. 17 Şubat 2005 tarihli resmi gazetede yayınlanan İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik'te Toplam THM konsantrasyonu için belirlenen limit değer 100 µg/l'dir (Anonim 2005).

Son yıllarda içme suyu arıtımında söz sahibi olan ülkelerde klorlama sonrası meydana gelen DYÜ'nün oluşumunun minimize edilmesi ve kontrol altına alınması için, kloraminler, ozon (O<sub>3</sub>) ve klor dioksit (ClO<sub>2</sub>) gibi alternatif dezenfektanlar kullanılması düşünülmüştür (Han ve Zhang 2018). Bu oksidantlara kıyasla, kullanıldığı zaman önemli derecede THM ve HAA oluşumuna engel olan ClO<sub>2</sub>'in kullanımı daha fazla ön plana çıkmıştır (Gan vd. 2016). Aynı zamanda ClO<sub>2</sub> yüksek okside etme gücüne bağlı olarak, geniş pH aralıklarında (pH 2-10) sudaki patojenleri gidermede klora göre daha etkili bir dezenfektandır (Periera vd. 2008). Diğer yandan klorit (ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>) ve klorat (ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ClO<sub>2</sub> ile gerçekleştirilen dezenfeksiyon işlemi sonucunda meydana gelen inorganik yan ürünlerdir (Gordon vd. 1990, Plewa vd. 2004). ClO<sub>2</sub> ile oksidasyon süresince ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> oluşumu ham su kaynağının kalitesine göre değişmektedir. Genellikle içme sularının dezenfeksiyonunda kullanılan ClO<sub>2</sub>'in yaklaşık % 60'ı ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> iyonuna %10'luk kısmı da ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonuna dönüşmektedir (Al-Otoum vd. 2016). Bununla beraber sulara ClO<sub>2</sub> oksidasyonu sonucu görülen ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> ve

ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonlarının insan sağlığı üzerinde akut, kronik ve nörolojik etkileri bulunmaktadır (Gill vd. 1989, WHO 2011). Bu nedenle USEPA (1998) içme sularında ClO<sub>2</sub>'in sulara bulunması gereken limit değeri 0,8 mg/l, ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> iyonunu ise 1,0 mg/l olarak tayin etmiştir.

İçme sularının dezenfeksiyonunda kullanılan ClO<sub>2</sub> genellikle sodyum klorit (NaOCl<sub>2</sub>) çözeltisi kullanılarak elde edilmektedir. ClO<sub>2</sub> klor gazı (Cl<sub>2</sub>(g)), hipokloröz asit (HOCl) veya hidroklorik asit (HCl) çözeltileri ile NaCl<sub>2</sub> çözeltisinin su içerisindeki reaksiyonları sonucunda elde edilebilmektedir (Aieta ve Berg 1986). Bu reaksiyonlar sırası ile Eşitlik 1, Eşitlik 2 ve Eşitlik 3 olarak verilmiştir;



Bu çalışmada, Cl<sub>2</sub>'ye alternatif olarak içme suyu kaynaklarının ClO<sub>2</sub> ile oksidasyonu sonucunda meydana gelen DYÜ'nün (THM, ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>) oluşum miktarları araştırılmıştır. Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> ile oksitlenen ham su örnekleri ise çalışma alanı olarak daha önce literatürde organik madde içerdiği bilinen Terkos Gölü (TRG), Büyükçekmece Gölü (BÇG) ve Ömerli Barajı (ÖLB) içme suyu kaynaklarından alınmıştır (Avsar vd. 2015; Uyak vd. 2014; Avsar vd. 2014).

İçme suyu dezenfeksiyonunda ClO<sub>2</sub> ve Cl<sub>2</sub> kullanılarak farklı miktarlardaki DYÜ oluşumu analizleri ile ilgili olarak yapılan bu çalışma ulusal ve uluslararası bilimsel literatüre dezenfeksiyon yan ürünleri ile ilgili önemli bir katkı sağlamakla beraber özellikle içme suyu arıtma tesislerinin optimizasyonu ile ilgili böyle bir araştırma yapılması bu çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır.

## 2. Gereç ve Yöntemler

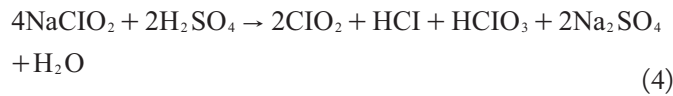
### 2.1. Numune Toplama

Bu çalışmada deneysel çalışmalarda kullanılan ham su örnekleri sırası ile TRG, BÇG ve ÖLB sularından toplanmıştır. TRG, BÇG ve ÖLB İstanbul ilinin önemli içme suyu kaynakları olup, bu rezervuarlarından yaklaşık olarak günde 2,5 milyon m<sup>3</sup> su konvansiyonel arıtmadan geçtikten sonra içme suyu olarak kullanılmaktadır. Söz konusu içme suyu kaynaklarından tekil numune olarak toplanan su numuneleri deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere, herhangi bir mikrobiyal aktiviteyi engellemek için +4°C'de laboratuvar ortamında bulunan buzdolabında saklanmıştır.



## 2.2. Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> ile Oksidasyon İşlemleri

İçme suyu kaynaklarından toplanan su numunelerinin Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> ile oksidasyon işlemleri 500 ml'lik kahverengi cam şişelerde gerçekleştirilmiştir. TRG, BÇG ve ÖLB numunelerinde pH düzenlenmesi, 5 mM'lik fosfat tampon çözeltisi ile pH 7'ye getirilerek yapılmıştır. Klorlama deneyleri APHA (2005)-5710-B'de yer alan iyodemetrik titrasyon metoduna göre %4'lük NaOCl ile 5 mg/ml'lik hazırlanan stok klor çözeltisinden 500 ml'lik şişelere 5 ve 10 mg/l'lik klor dozu ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. Diğer yandan bu çalışmada su numunelerinin ClO<sub>2</sub> ile oksitlenmesinde kullanılan 1000 mg/l'lik stok ClO<sub>2</sub> çözeltisi aşağıdaki Eşitlik 4'e göre üretilmiştir;



1000 mg L<sup>-1</sup>'lik stok ClO<sub>2</sub> çözeltisinden 2, 5, 8 ve 10 mg/l'lik çalışma dozları hazırlanarak ham su numuneleri oksitlenmiştir. Farklı ClO<sub>2</sub> dozları ile oksitlenen TRG, BÇG ve ÖLB numuneleri belirtilen reaksiyon sürelerinde (1-24 saat) meydana gelecek olan DYÜ oluşumunu tespit etmek amacı ile karanlık bir ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir.

## 2.3. Analitik İşlemler

Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> ile oksitleme işlemlerinden önce TRG, BÇG ve ÖLB suyu örnekleri 0,45 µm'lik membran filtre kâğıdından geçirilmiştir. Laboratuvar ortamında gerçekleştiren bütün deneysel işlemlerde ve analizlerde kullanılan standart çözel-

tileri hazırlamada ultra saf su (Sartorius Co., Germany) kullanılmıştır. TOK ölçümleri APHA (2005)-3510-B'de belirtilen yüksek sıcaklıkta yakma metoduna göre Shimadzu-5000A TOK analiz cihazı kullanılarak yapılmıştır. Bununla beraber UV<sub>254</sub> ölçümleri ise Shimadzu 1601 UV Visible spektrofotometre cihazı ile yapılmıştır. THM bileşiklerini içeren analizler EPA 551 metodunda yer alan sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemine göre; DB-1 kapiler kolona sahip (30 m×0.32 mm I.D.×1.0 µm, J&W Science) GC µECD (Hewlett Packard Gas, 6890 Seri 2) cihazıyla yapılmıştır. Bu çalışmada su örneklerindeki ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> ile Br<sup>-</sup> iyonları miktarları USEPA 300.1 metoduna göre AS-19 analitik kolon ve AG-19 guard kolondan oluşan Dionex ICS-3000 iyon kromatografi cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Bakiye oksidant konsantrasyonları ise DPD- kolorometrik metodu ile tespit edilmiştir (Chang vd. 2010; Yang vd. 2017).

## 3. Bulgular ve Tartışma

Çizelge 1'de TRG, BÇG ve ÖLB suları ile ilgili su kalite parametre değerleri verilmiştir. Çizelge 1'de görüldüğü üzere her bir içme suyu kaynağından toplanan su örnekleri üzerinde yapılan su kalite parametre analizlerinin neticesinde; pH: 6,88-8,43; Bulanıklık: 1,8-7,7 NTU; İletkenlik: 220-687 µS cm<sup>-1</sup>; Toplam sertlik: 85-194 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; Bromür: 60-270 µg L<sup>-1</sup> ve sıcaklık parametresinin ise 5.4-26.9°C arasında değiştiği gözlenmiştir.

Buna göre TRG, BÇG ve ÖLB alınan su örneklerinde sıcaklık parametresi değer aralıklarının birbirine yakın oldu-

Çizelge 1. Ham su kalite parametre değerleri.

Parametreler	Birim	Terkos Gölü		B.Çekmece Gölü		Ömerli Barajı	
		(TRG)		(BÇG)		(ÖLB)	
		Min-Maks.	Ortalama	Min-Maks.	Ortalama	Min-Maks.	Ortalama
pH	-	7,50-8,13	7,74	7,97-8,43	8,13	6,88-7,53	7,29
Bulanıklık	NTU	3,1-8,6	4,2	1,8-7,7	3,7	1,7-4,6	3,1
İletkenlik	µS/cm	285-596	423	311-687	522	220-375	265
Alkalinite	mg/l CaCO <sub>3</sub>	88-132	118	104-139	130	67-102	89
Toplam Sertlik	mg/l CaCO <sub>3</sub>	123-171	135	132-194	149	85-113	98
Sıcaklık	°C	5,3-25,8	15,8	7,4-26,9	16,4	6,5-24,2	15,3
Klorür	mg/l	41-75	54	63-125	79	25-58	38
Bromür	µg/L	83-210	140	110-270	200	60-110	80
TOK	mg/l	4,15-6,27	5,47	3,81-6,32	4,85	3,38-4,85	4,02
UV <sub>254</sub>	cm <sup>-1</sup>	0,09-0,15	0,12	0,07-0,13	0,1	0,05-0,1	0,07
SUVA	L/mg.m	2,17-3,61	2,85	1,88-3,41	2,55	1,52-2,95	2,11

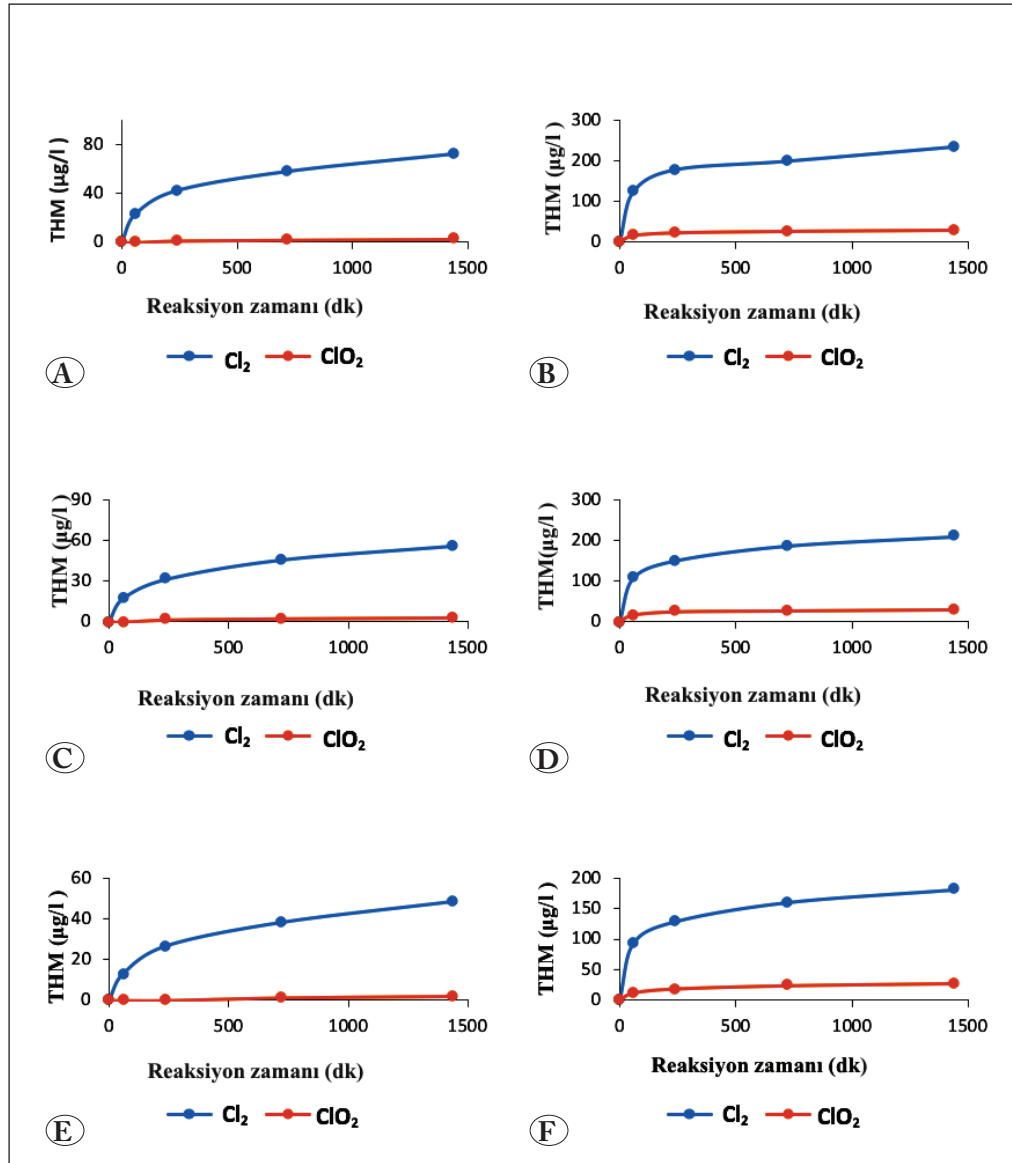
ğu görülmekte olup bunun yanında en yüksek pH değeri BÇG ham su numunelerinde görülmüştür. Klorür ve bromür miktarları ise Marmara denizine kıyısı en yakın olan ve dolayısı ile diğer su kaynaklarına göre tuzluluk girişi daha fazla olan BÇG ham sularında gözlenmiştir. Uyak vd. (2008) tarafından İstanbul iline içme suyu sağlayan su kaynaklarının klorlanması ile ilgili gerçekleştirilen çalışmada BÇG su kaynağının Marmara Denizine yakın olması sebebi ile tuzlu su girişinin fazla olduğu ve dolayısı ile bromür ve klorür konsantrasyonlarının yükseldiği tespit edilmiştir. Bu bölgede konu ile ilgili geçmişte yapılan araştırmalar bu sonucu doğrulamaktadır (Uyak ve Toröz 2005). TRG ve ÖLB ham su örneklerinde ise en yüksek klorür miktarları 75 mg/l ve 58 mg/l olarak, bromür miktarları ise 210 µg/l ve 110 µg/l olarak ölçülmüştür. Diğer yandan, söz konusu içme suyu kaynaklarında DOM'u temsil eden TOK parametresinin ortalama değerleri sırası ile 5,47 mg/l, 4,85 mg/l ve 4,02 mg/l olarak tespit edilmiştir. En yüksek TOK ve UV<sub>254</sub> değeri (6,32 mg/l – 0,15 cm<sup>-1</sup>) TRG ham sularında görülürken, en düşük TOK ve UV<sub>254</sub> değeri (3,38 mg/l – 0,05 cm<sup>-1</sup>) ÖLB ham sularında gözlenmiştir. BÇG ham su numunelerinde ise en yüksek TOK ve UV<sub>254</sub> değerleri 6,27 mg/l ile 0,13 cm<sup>-1</sup>, en düşük TOK ve UV<sub>254</sub> değeri ise 3,81 mg/l ve 0,07 cm<sup>-1</sup> olarak ölçülmüştür. En yüksek SUVA (SUVA=UV<sub>254</sub> \*100/TOK) değeri ise 3,61 L mg. m olarak TRG ham su örneklerinde bulunmuştur. BÇG ve ÖLB sularında bulunan en yüksek SUVA değerleri ise 3,41 L/mg.m ve 2,95 L/mg.m'dir. TOK, UV<sub>254</sub> ve SUVA parametreleri içme suyu kaynaklarındaki DOM miktarlarını ve yapısını temsil etmek için kullanılan organik parametrelerdir. TOK, su içerisindeki DOM konsantrasyonunu (mg/l) gösterirken UV<sub>254</sub>, 254 nm dalga boyunda DOM'un yapısındaki aktif fonksiyonel organik bileşiklerin absorban değerini gösteren önemli bir organik parametredir. Bu çalışmada olduğu gibi literatürde de bazı araştırmacılar DOM konsantrasyonunda meydana gelen değişimleri yerinde ve sürekli olarak izlemek için UV<sub>254</sub> ve TOK ile DOM arasındaki korelasyonlardan faydalanmışlardır (Benjamin vd. 1997, Özdemir vd. 2015). Diğer yandan konu ile ilgili literatürde yapılan çalışmalarda farklı DOM karakterine sahip su kaynaklarındaki UV<sub>254</sub> değerlerinin klorlama prosesi sonucunda meydana gelen THM miktarlarını önemli ölçüde etkilediği görülmüştür (Matilainen vd. 2002, Guary vd. 2005). SUVA, DOM'un organik içeriğinin tahmininde en fazla kullanılan organik bir parametre olup, aynı zamanda DOM içeren suların klorlanması sonucu oluşan THM gibi DYÜ oluşum potansiyelinin de önemli bir göstergesidir (Yoon vd. 2012, Özdemir vd. 2015). Literatürde konu ile ilgili yapılan su kalitesi çalışma-

larında da SUVA değeri 4–5 L/ mg.m olan sular da DOM daha çok yüksek moleküler ağırlığa sahip aromatik bileşiklerden meydana geldiğini göstermektedir (Elshorbagy vd. 2000, Özdemir 2016). İçeriğinde DOM bulunan yüzeysel sular da yüksek SUVA değerleri (SUVA > 3), DOM içeriğinin özellikle fenol ve karboksil gibi aktif fonksiyonel gruplara sahip yüksek moleküler ağırlığa sahip hidrofobik organiklerden meydana geldiğini gösterirken, düşük SUVA değerleri (SUVA < 3) alifatik organikler, karboksilik asit ve aminoasitler gibi hidrofilik yapıların daha yüksek oranda bulunduğunu göstermektedir (Edzwald vd. 1985, Uyak vd. 2007). Dolayısı ile; bu çalışmada TRG, BÇG ve ÖLB su kaynaklarında bulunan DOM'u temsil eden organik parametre değerlerinin literatürde yapılan çalışmalarla da uyumlu olduğu görülmektedir.

### 3.1. THM Oluşumlarının Araştırılması

Şekil 1'de TRG, BÇG ve ÖLB su örneklerinin 5 ve 10 mg/l'lik Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> dozu ile pH 7'de oksitlenmesi sonucunda, 1 ile 24 saat bekletme süreleri sonunda meydana gelen THM miktarları gösterilmektedir. Buna göre klorlanan ham su örneklerinde yaklaşık 1 saatlik reaksiyon süresi sonunda THM oluşumunun %50'sinin gerçekleştiği gözlenmektedir. 24 saatlik reaksiyon süresi sonunda klorlanan içme suyu kaynakları içerisinde en yüksek THM miktarı (235,65 µg/l) SUVA değeri (3,61 L/mg.m) en yüksek olan başka bir ifade ile; organik karbonu hidrofobik bileşiklerden meydana gelmiş TRG ham sularında gözlenmiştir.

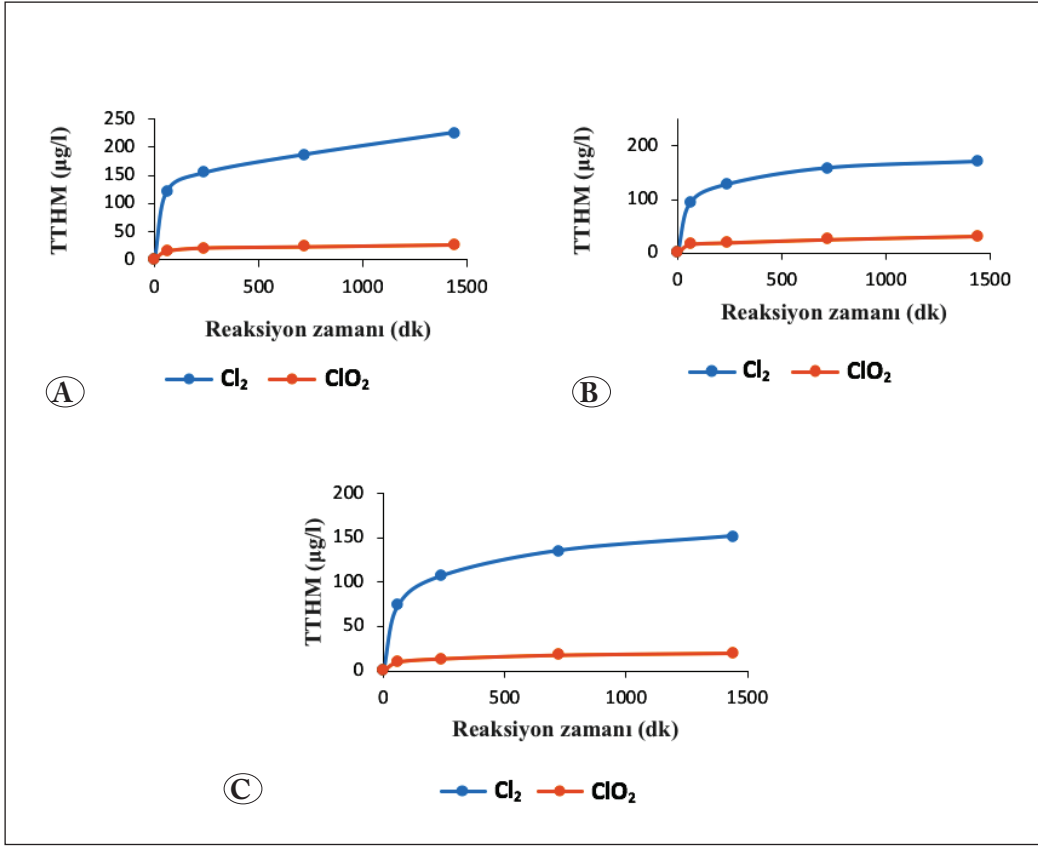
24 saatlik reaksiyon süresi sonunda en az THM konsantrasyonu (48,51 µg/l) SUVA değeri (1,52 L/mg.m) en düşük olan organik karbonu hidrofilik bileşiklerden oluşmuş ÖLB su numunelerinde tespit edilmiştir. 5 ve 10 mg/l'lik Cl<sub>2</sub> dozları ile oksitlenen BÇG ham su numunelerinde ise 24 saatlik reaksiyon süresi sonunda meydana gelen THM miktarları ise sırası ile, 56,04 µg/l ve 210,35 µg/l olarak ölçülmüştür. Diğer yandan ClO<sub>2</sub> ile oksidasyonda, 24 saatlik reaksiyon süresi sonunda en düşük ve en yüksek ClO<sub>2</sub> dozu ile oksitlenen TRG, BÇG ve ÖLB su örneklerinde tespit edilen THM miktarları sırası ile, 2,78–30,21 µg/l, 3,1–31,03 µg/l ve 1,86–28,14 µg/l olarak ölçülmüştür. Başka bir ifade ile; Cl<sub>2</sub>'a kıyasla ClO<sub>2</sub> ile oksidasyon prosesi sonucunda, TRG, BÇG ve ÖLB su numunelerindeki THM oluşum miktarlarında sırası ile yaklaşık %84, %75 ve %81 oranında bir azalma olduğu görülmüştür. Linder vd. (2006) tarafından yapılan çalışmalarda farklı su kaynaklarından alınan su örneklerini Cl<sub>2</sub> yerine ClO<sub>2</sub> ile oksitlenmesi sonucunda THM ve HAA konsantrasyonlarında önemli bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Diğer yandan bu çalışmada fark-



Şekil 1. Klor ve Klor dioksit ile oksidasyon sonucunda meydana gelen THM konsantrasyonları (Oksidant dozu = sırası ile; 5 ve 10 mg/l, pH =7, Sıcaklık = 25°C, Reaksiyon zamanı =1-24 saat); A, B) TRG; C, D) BÇG; E, F) ÖLB.

lı su kaynaklarından alınan su numunelerinin Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> ile oksitlenmesi neticesinde elde edilen sonuçlar geçmiş literatür çalışmaları ile karşılaştırılması sonrasında literatürü destekler şekilde olduğu görülmüştür (Ramavandi vd. 2015, Yu vd. 2015). Şekil 2'de 5 mg/l Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> dozu kullanılarak TRG, BÇG ve ÖLB su numunelerinin oksidasyonu süresince 40 °C'de ve 24 saatlik reaksiyon sonunda meydana gelen THM miktarları gösterilmektedir. Bu sonuç aynı zamanda DOM içeren yüzey sularının klorlanması neticesinde reaksiyon süresi ve klor dozu arttıkça meydana gelen THM konsantrasyonlarında da önemli bir artış meydana geldiğini göstermiştir. Daha önce benzer konu ile yapılmış çalışmalarda elde edilen sonuçlar bu bulgunun doğruluğunu ortaya koymaktadır (Manafsi vd. 2016, Yang vd. 2017).

Söz konusu çalışmanın sonuçları Şekil 1 ile karşılaştırıldığında, su sıcaklığındaki artış ile orantılı olarak her üç içme suyu kaynağının klorlanması sonucunda meydana gelen THM konsantrasyonlarında belirgin bir artış olmasına karşılık ClO<sub>2</sub> ile gerçekleştirilen oksidasyon neticesinde önemli bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir. Başka bir ifade ile; su sıcaklığı 25°C'den 40°C'ye yükseltildiğinde 24 saatlik reaksiyon süresi sonunda sırası ile klorlu TRG, BÇG ve ÖLB su numunelerinde THM oluşumlarının yaklaşık %33, %36 ve %30 oranında yükseldiği tespit edilmiştir. Diğer yandan ClO<sub>2</sub> ile oksitlenen TRG, BÇG ve ÖLB su numunelerinde analiz edilen THM konsantrasyonlarında ise sadece 1 ile 2 µg/l arasında bir değişim olduğu gözlemlenmiştir. Benzer sonuçlar, Hong vd. (2017) tarafından Çin'de Jin Lan içme



Şekil 2. Klor ve Klor dioksit ile oksidasyon sonucunda meydana gelen THM konsantrasyonları (Oksidant dozu = 5 mg/l, Sıcaklık = 40°C, pH = 7, Reaksiyon zamanı = 1–24 saat; A) TRG, B) BÇG, C) ÖLB.

suyu kaynağından alınan örneklerin farklı miktarlarda Cl<sub>2</sub> ve ClO<sub>2</sub> ile oksitlenmesi ile su sıcaklığının 20°C'den 30°C'ye çıkarılması sonucunda meydana gelen THM oluşum miktarlarındaki artışın değerlendirilmesi ile ortaya konulmuştur. Konu ile ilgili yapılan benzer literatür çalışmaları incelendiğinde bu çalışmada elde edilen sonucu desteklediği anlaşılmaktadır (Ammar vd. 2014). Bununla beraber, sıcaklık artışı ile klorlanmış TRG ve ÖLB su numunelerine oranla BÇG su numunelerinde meydana gelen THM oluşumunun biraz daha fazla olduğu görülmektedir. Bu bulgu, BÇG su örneklerinde bromür seviyesinin yüksek olması neticesinde klorlama işlemi ile meydana gelen HOBr iyonunun daha yüksek sıcaklıklarda klorla oksidasyon reaksiyonundan ziyade organik bileşiklerle daha hızlı bir şekilde yer değiştirme reaksiyonları oluşturması sayesinde daha fazla THM oluşumuna neden olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda diğer içme suyu kaynaklarına kıyasla daha yüksek bromür konsantrasyonuna sahip ClO<sub>2</sub> ile oksitlenmiş BÇG örneklerinde ClO<sub>2</sub> ile DOM arasında gerçekleşen hidroliz ve diğer bozunma reaksiyonlarına bağlı olarak ClO<sub>2</sub> miktarında daha fazla bir azalmanın meydana gelebileceğini göstermektedir. Bu sonucu ilgili literatürde yapılmış çalışmalarda elde edilen benzer sonuçlar desteklemektedir (Zhang vd. 2015)

### 3.2. Bakiye ClO<sub>2</sub>, ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> Oluşumunun İncelenmesi

Şekil 3'de farklı ClO<sub>2</sub> dozlarında (2–10 mg/l) oksitlenen TRG, BÇG ve ÖLB su numunelerinde 24 saatlik reaksiyon süresi sonundaki bakiye ClO<sub>2</sub> miktarları gösterilmiştir. En düşük ClO<sub>2</sub> dozu ile oksitlenen TRG su örneklerinde bakiye ClO<sub>2</sub> seviyeleri 0,05 mg/l, BÇG su numunelerinde 0,03 mg/l ve ÖLB su örneklerinde ise 0,08 mg/l; en yüksek ClO<sub>2</sub> dozu ile oksitleme işlemi gerçekleştirildiğinde bu miktarlar sırası ile 0,49 mg/l, 0,35 mg/l ve 0,58 mg/l olarak tespit edilmiştir

24 saatlik reaksiyon süresi içinde uygulanan tüm ClO<sub>2</sub> dozlarında ÖLB ve TRG numunelerine göre en yüksek bakiye ClO<sub>2</sub> konsantrasyonu ÖLB örneklerinde gözlenmiştir. Buna göre farklı ClO<sub>2</sub> dozları ile oksitlenen su kaynaklarında organik madde konsantrasyonu yüksek olan TRG su numunelerinde daha fazla miktarda ClO<sub>2</sub> tüketimi görülürken en az ClO<sub>2</sub> tüketimi TOK konsantrasyonu en düşük olan ÖLB su örneklerinde tespit edilmiştir. Avşar vd. (2017) tarafından üç farklı su kaynağının en düşük ve en yüksek (0,25–1,5 mg/l) ClO<sub>2</sub> ile oksitlenmesi neticesinde ClO<sub>2</sub> bakiye konsantrasyonlarının 0,03–0,6 mg/l arasında olduğu



gözlenirken, en yüksek bakiye konsantrasyonun TOK değeri en az olan numunelerinde görüldüğü tespit edilmiştir. Aynı zamanda geçmişte konu ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen benzer sonuçlar bu bulgunun geçerliliğini doğrulamaktadır (Hsu vd. 2016).  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  içme suyu kaynaklarının  $ClO_2$  ile oksidasyonu sonucunda meydana gelen inorganik yan ürünlerdir.  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  oluşumu

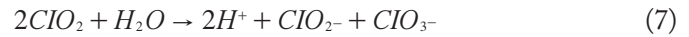
oksitlenme reaksiyonunda pH değerine göre değişmektedir. pH 7'de suların oksidasyonu neticesinde  $ClO_2^-$  oluşumu Eşitlik 5 ile verilmektedir (Avşar vd. 2017);



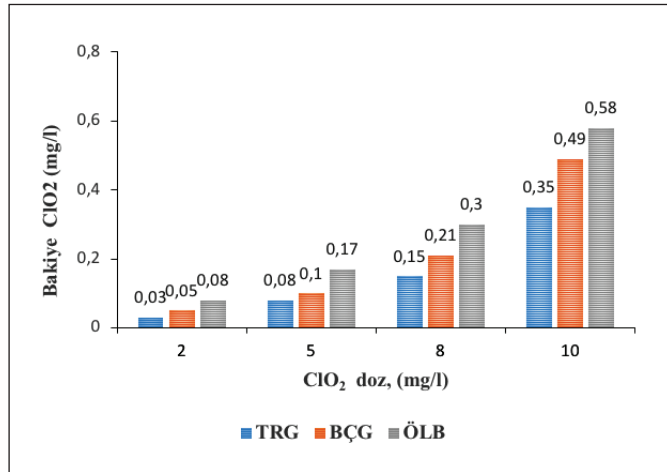
Eşitlik 6 da gösterildiği gibi asidik pH ( $pH < 3$ ) değerlerinde ise  $ClO_2^-$  iyonu  $Cl^-$  iyonuna dönüşmektedir.



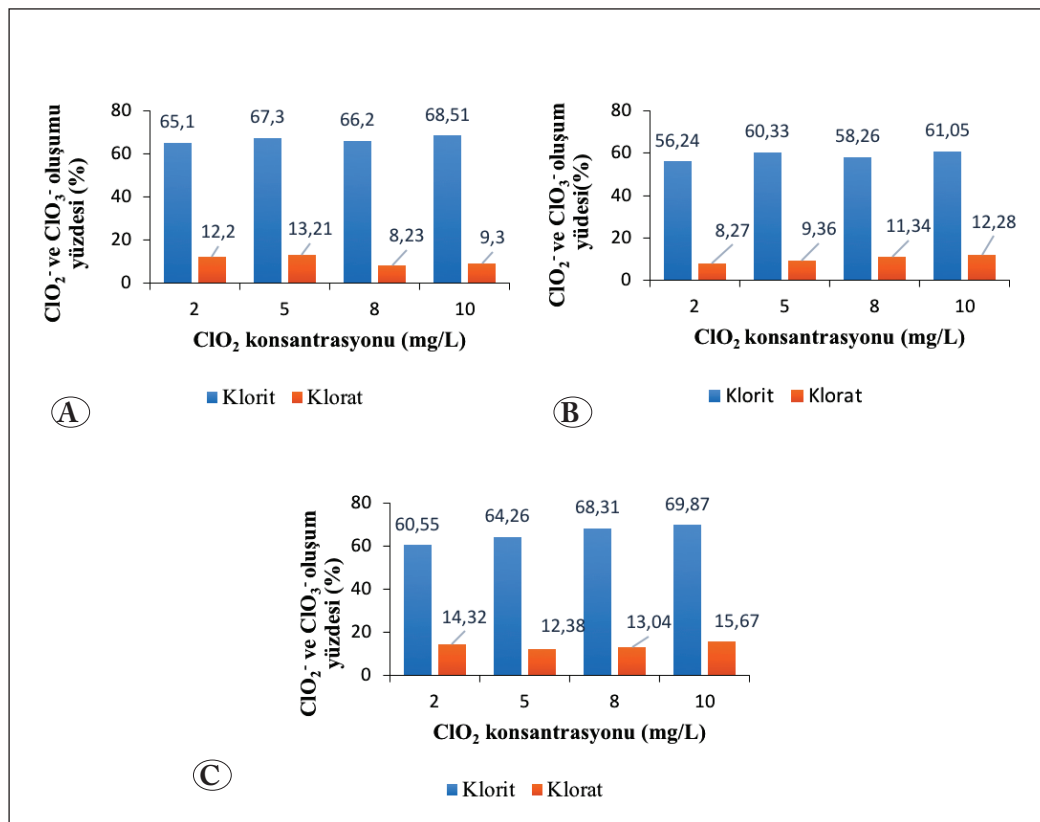
Yüksek pH değerlerinde ( $pH = 10$ ) ise  $ClO_2$  direkt olarak Eşitlik 7 de verildiği gibi klorit ve klorata dönüşmektedir.



Şekil 4'de her bir içme suyu kaynağından alınan su numunelerinin 2 ile 10 mg/l  $ClO_2$  ile oksitlendiğinde meydana gelen  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  oranları verilmektedir. Buna göre verilen  $ClO_2$  dozlarında  $ClO_3^-$  oluşumunun  $ClO_2^-$ 'den daha düşük olduğu gözlenmektedir. En yüksek  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  oluşumu en yüksek  $ClO_2$  dozunda sırası ile, %69,7 ve %15,67 olarak ÖLB suyu numunelerinde görülmüştür. Bu sonuç aynı zamanda meydana gelen  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  oluşumlarının uygulanan  $ClO_2$  ile su kaynaklarının içerdiği doğal organik maddenin yapısı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Konu ile ilgili literatürde yapılmış çalışmalarda elde edilen benzer



Şekil 3.  $ClO_2$  oksitlenmesi sırasında görülen bakiye  $ClO_2$  konsantrasyonları: (Reaksiyon zamanı = 24 saat,  $pH = 7$ ).



Şekil 4.  $ClO_2$  ile oksitlenmesi sonucunda görülen  $ClO_2^-$  ve  $ClO_3^-$  oluşumları; A) TRG, B) BÇG, C) ÖLB. ( $ClO_2$  dozları: 2–10 mg/l, Reaksiyon zamanı = 24 saat,  $pH = 7$ ).

sonuçlar bulunmaktadır (Geter vd. 2004, Chu vd. 2011). Diğer yandan, analiz edilen klorür konsantrasyonuna bağlı olarak BÇG ham sularında gözlemlenen  $\text{ClO}_2^-$  oluşumunun TRG ve ÖLB’de meydana gelen  $\text{ClO}_2^-$  oluşumundan biraz daha düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Başka bir ifade ile; klorür konsantrasyonundaki artış  $\text{ClO}_2^-$  oluşum miktarının azalmasına neden olmaktadır. Sathpathy vd. (2019) tarafından Hindistan’da denizden, Palar nehrinden ve Suwanee rezervuarından alınan su örnekleri farklı dozlarda (1–25 mg/l)  $\text{ClO}_2$  ile oksitlenmiş olup, en düşük  $\text{ClO}_2^-$  oluşumu klorür konsantrasyonu (19000 mg/l) en yüksek olan deniz suyu örneklerinde gözlenmiştir. Bu çalışmada en düşük  $\text{ClO}_3^-$  oluşumları ise sırası ile %8,23 ve %8,27 ile TRG ve BÇG örneklerinde tespit edilmiştir. Bu çalışmanın da bir sonucu olarak normal koşullar altında (pH = 7)  $\text{ClO}_2$  oksidasyonu sırasında Eşitlik (5) de verildiği gibi genellikle su numunelerinde  $\text{ClO}_2^-$  baskın inorganik yan ürün olarak görülmektedir, Buna karşılık, Eşitlik 6 ve Eşitlik 7 de belirtildiği üzere asidik ve bazik pH değerlerinde  $\text{ClO}_2$  oksidasyonu sırasında ise su numunelerinde  $\text{ClO}_2^-$  oluşumu ile beraber daha yüksek oranlarda  $\text{ClO}_3^-$  iyonu oluşumunun da görülebileceği literatürde ilgili çalışmalarla da desteklenmektedir (Stanford vd. 2011).

Bu sonuçlar, 2–10 mg/l arasında  $\text{ClO}_2$  dozlarında oksitlenen TRG, BÇG ve ÖLB suyu numunelerinde genellikle  $\text{ClO}_2$ ’in  $\text{ClO}_2^-$ ’e dönüşümünün %60’dan daha fazla,  $\text{ClO}_2$ ’in  $\text{ClO}_3^-$ ’a oranının ise %8 ile %15 arasında olduğunu ortaya koymaktadır. Al-Gouti vd. (2016) tarafından Katarda desalinasyon tesisleri çıkışlarından, içme suyu rezervuarlarından ve musluk sularından alınan örneklerin farklı dozlarda  $\text{ClO}_2$  ile oksitlenmesi sonucunda  $\text{ClO}_2$ ’in  $\text{ClO}_2^-$ ’e dönüşüm oranının %50–%70 arasında,  $\text{ClO}_3^-$ ’e dönüşüm oranının ise %7–%10 arasında olduğu ortaya koyulmuştur. Konu ile ilgili literatürde yapılan önceki çalışmalarda farklı dozlarda  $\text{ClO}_2$  ile oksitlenen su numunelerinde  $\text{ClO}_2$ ’nin %60 ile %70’i  $\text{ClO}_2^-$ , %10–20’ sinin ise  $\text{ClO}_3^-$ ’e dönüştüğü bilgisi yer almaktadır (Sorlini vd. 2014, Han vd. 2017).

Bu çalışmada her bir içme suyu kaynağının içerdiği DOM’un yapısının THM oluşumunda önemli bir yerinin olduğu ortaya konulmuştur.  $\text{Cl}_2$  ile oksitlenen ham su numunelerinde meydana gelen THM miktarları sırası ile; TRG > BÇG > ÖLB olarak gözlemlenmiş olup,  $\text{ClO}_2$  ile yapılan oksitleme sonucunda ise THM miktarlarında belirgin bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Diğer yandan her bir su kaynağının  $\text{ClO}_2$  ile oksitlenmesi sonucunda ortamda  $\text{ClO}_2^-$  iyonunun en baskın olarak görülen inorganik yan ürün olduğu

tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışma, dezenfeksiyon işleminin klora alternatif olarak klor dioksit ile gerçekleştirilmesi halinde, insan sağlığı üzerinde kanserojen etkisi olan THM gibi DYÜ’nün minimize edilerek ülkemizdeki içme suyu arıtma tesislerinde daha kaliteli bir içme suyu üretiminin elde edileceği potansiyelini sonuçları ile ortaya koymaktadır.

#### 4. Kaynaklar

- Agusa, E., Nikolay A.N., David, V. 2009.** Disinfection by-products and their potential impact on the quality of water produced by desalination system. *Desalination*, 237: 214-237. DOI: 10.1016/J.DESAL.2007.11.059.
- Aieta, EM., Berg, JD. 1986.** A Review of Chlorine Dioxide in Drinking Water Treatment. *J. Am. Water Works Assoc.*, 78(6): 62-72. DOI: 10.1002/j.1551-8833.1986.tb05766.x
- Al-Otoum, F., Al-Ghouti, M.A., Ahmed, TA., Abu-Dieyeh, M., Ali, M. 2016.** Disinfection by-products of chlorine dioxide (chlorite, chlorate, and trihalomethanes): occurrence in drinking water in Qatar. *Chemosphere*, 164: 649-656. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.008
- Ammar, T.A., Abid, K.Y., El-Bindary, A.A., El-Sonbati, A.Z. 2014.**  $\text{ClO}_2$  bulk decay prediction in desalinated drinking water. *Desalination*, 352: 45-51. DOI: 10.1016/j.desal.2014.08.010
- Anonim, 2005.** 17 Şubat 2005 tarihli resmi gazetede yayınlanan İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik. Ankara, <http://mevzuat.gov.tr/>.
- APHA, 2005.** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22th ed. American Public Health Association, Washington DC. <http://www.apha.org/>
- Avşar, E., Karadağ, SG, Toröz, I., Hanedar, A, 2017.** İstanbul Ömerli ham suyunda dezenfeksiyon amaçlı klor dioksit kullanımının dezenfeksiyon yan ürün (DYÜ) oluşumuna etkisinin araştırılması. *J. Eng. Sci.*, 23(3): 297-302. DOI: 10.5505/pajes.2016.27132
- Avşar, E., Toröz İ., Hanedar A., Yılmaz M., 2014.** Chemical characterization of natural organic matter and determination of disinfection by-product formation potentials in surface waters of Istanbul (Omerli and Buyukcekmece water dam), Turkey. *Fresenius Environ. Bull.*, 23: 494-501.
- Avşar, E., Toröz İ., Hanedar A., 2015.** Physical characterisation of natural organic matter and determination of disinfection by-product formation potentials in Istanbul surface waters. *Fresenius Environ. Bull.*, 24: 2763-2770.
- Benjamin, M.M., Li, C.W. and Korshin, G.V. 2000.** Use of UV Spectroscopy to characterize the reaction between NOM and free chlorine. *Environ. Sci. Technol.* 34(12): 2570-2575. DOI: 10.1021/es990899o.

- Chang, H.H., Tung, H.H., Chao, C.C., Wang, G.S., 2010.** Occurrence of haloacetic acids(HAAs) and trihalomethanes (THMs) in drinking water of Taiwan. *Environ Monit. Assess.* 162, 237e250. DOI: 10.1007/s10661-009-0792-1
- Chowdhury, S., Alhooshani K., Karanfil, T. 2014.** Disinfection byproducts in swimming pool: occurrences, implications and future needs. *Water Res.* 53: 68-109. DOI: 10.1016/j.watres.2014.01.017.
- Chu, W.-H., Gao, N.-Y., Deng, Y., Templeton, M.R., Yin, D.-Q. 2011.** Formation of nitrogenous disinfection by-products from pre-chloramination. *Chemosphere*, 85: 1187-1191. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.07.011.
- Dickenson, E R V., Summers, R.S., Crou'e, J-P., Gallard, H. 2008.** Haloacetic acid and trihalomethane formation from the chlorination and bromination of aliphatic -Dicarbonyl acidmodel compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 42(9): 3226–3233. DOI: 10.1021/es0711866.
- Edzward, J. K., Becker, W. C., Wattier, K. L. 1985.** Surrogate parameters for monitoring organic matter and THM precursors. *J. Am. Water Work Assoc.* 77(4): 122–132. DOI: 10.1002/j.1551-8833.1985.tb05521.x
- Elshorbagy, WE., Abu-Qadai, H., Elsheamy, MK. 2000.** Simulation of THM species in water distribution systems. *Water Res* 34:3431–9. DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00231-1
- Gan, W., Huang, H., Yang, X., Peng, Z., Chen, G. 2016.** Emerging investigators series: disinfection by-products in mixed chlorine dioxide and chlorine water treatment. *Environ. Sci. Water Res. Technol.*, 2: 838-847. DOI: 10.1039/c6ew00061d.
- Geter, D.R., George, M.H., Moore, T.M., Kilburn, S., Huggins-Clark, G., DeAngelo, A.B. 2004.** Vehicle and mode of administration effects on the induction of aberrant crypt foci in the colons of male F344/N rats exposed to bromodichloromethane. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 67: 23-29. DOI: 10.1080/15287390490253642.
- Gill, TI., Smith, GJ., Wissler, RW., Kunz, HW. 1989.** The rat as experimental animal, *Science*, 254: 269-276. DOI: 10.1126/science.2665079.
- Gordon, G., Slotmaekers, B., Tachiyashiki, S., Delmer, III WW. 1990.** Minimizing chlorite Ion and chlorate ion in water treated with whlorine dioxide. *J. Am. Water.Works. Assoc.*, 82: 160-165. DOI: 10.1002/j.1551-8833.1990.tb06947.x
- Guary, C., Rodriquez, M. and Serodes, J. 2005.** Using ozonation and chloramination to reduce the formation of trihalomethanes and haloacetic acids in drinking water, *Desalination*, 176: 229-240. DOI: 10.16/j.desl.2004.10.015.d 10.1016/j.desal.2004.10.015
- Han, J., Zhang, X. 2018.** Evaluating the comparative toxicity of DBP mixtures from different disinfection scenarios: a new approach by combining freeze-drying or rotoevaporation with a marine polychaete bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, 52: 10552-10561. DOI:10.1021/acs.est.8b02054.
- Hong, H., Yan, X., Song, X., Qin, Y., Sun, H., Lin, H., Chen, J., Liang, Y. 2017.** Bromine incorporation into five DBP classes upon chlorination of water with extremely low SUVA values. *Sci. Total Environ.* 590 (591): 720-728. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.032.
- Hsu, M., Wu, MY., Huang, T., Liao, CH. 2016.** Efficacy of chlorine dioxide disinfection to non-fermentative gram-negative bacilli and non-tuberculous mycobacteria in a hospital water system. *J.Hosp. Infect.* 93(1): 22-28, 2016. DOI: 10.1016/j.jhin.2016.01.005.
- Linder, K., Lew, J., Carter, B., Brauer, R. 2006.** Avoiding chlorite:chlorine and ClO<sub>2</sub> together to form fewer DBPs. *Opflow*, 32 (8): 24–26. DOI: 10.1002/j.1551-8701.2006.tb01886.x.
- Manasfi, T., De M\_eo, M., Coulomb, B., Di Giorgio, C., Boudenne, J.L. 2016.** Identification of disinfection by-products in freshwater and seawater swimming pools and evaluation of genotoxicity. *Environ. Int.* 88: 94-102. DOI: 10.1016/j.envint.2015.12.028.
- Matilainen, A., Ludqvist, N., Korhonen, S. and Tuhkanen, T. 2002.** Removal of NOM different stages of the water treatment process, *Environ. Int.*, 28: 457-465. DOI: 10.1016/s0160-4120(02)00071-5.
- Özdemir, K., Uyak,V., Toröz, İ. 2014.** Relationship Among Chlorine Dose, Reaction Time and Bromide Ions on Trihalomethane Formation in Drinking Water Sources in Istanbul, Turkey. *Asian. J. Chem.*, 26 (20): 6935-6939. DOI: 10.14233/ajchem.2014.17463.
- Özdemir, K., Uyak,V., Toröz, İ. 2015.** Experimental Investigation of trihalomethane formation and its modeling in drinking waters. *Asian. J. Chem.*, 27 (3): 984-990. DOI: 10.14233/ajchem.2015.17893.
- Özdemir, K. 2016.** The use of carbon nanomaterials for removing natural organic matter in drinking water sources by a combined coagulation process. *Nanomater Nanotechnol.*,6: 1-12. DOI: 10.1177/1847980416663680.
- Pereira, T., Pereira, AO., Costa, JT., Silva, MBO., Schuchard, W., Osaki, SC., Castro, EA., Paulino, RC., Soccol, VT. 2008.** Comparing the efficacy of chlorine, ClO<sub>2</sub>, and ozone in the inactivation of cryptosporidium parvum in water from parana state, southern Brazil. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 151: 464-473. DOI: 10.1007/s12010-008-8214.

- Plewa, M.J., Wagner, E.D., Richardson, S.D., Thruston Jr, A.D., Woo, Y.T., McKague, A.B. 2004. Chemical and biological characterization of newly discovered iodoacid drinking water disinfection byproducts. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 4713-4722. DOI: 10.1021/es049971v.
- Ramavandi, B., Farjadfard, S., Ardjmand, M., Dobaradaran, S. 2015. Effect of water quality and operational parameters on trihalomethanes formation potential in Dez River water, Iran. *Water Resour. Ind.* 11: 1-12. DOI: 10.1016/j.wri. 2015.03.002.
- Sadiq, R., Rodriguez, M J. 2004. Disinfectionby-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: a review. *Sci.Total. Environ.*, 321 (1-3): 21-46. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2003.05.001.
- Satpathy, K.K., Subramanian, S., Padhi, R.K. 2019. Effect of biofouling on the cooling water quality of a nuclear power plant. *Chemosphere*, 218: 540-50. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.100.
- Sorlini, S., Gialdini, F., Biasibetti, M., Collivignarelli, C. 2014. Influence of drinking water treatments on chlorine dioxide consumption and chlorite/chlorate formation. *Water Res.* 54: 44-52. DOI: 10.1016/j.watres.2014.01.038.
- Stanford, B.D., Pisarenko, A.N., Snyder, S.A., Gordon, G. 2011. Perchlorate, bromate, and chlorate in hypochlorite solutions: guidelines for utilities. *J. Am. water Work Assoc.* 103: 1-13. DOI: 10.1002/j.1551-8833.2011.tb11474.x.
- USEPA (US Environmental Protection Agency), 1998. National primary drinking water regulations: disinfectants and disinfection byproducts notice of data availability. Fed. Regist. 63 (61): 15673-15692. <http://www.epa.gov/>.
- USEPA, 2006. National Primary Drinking Water Regulations: Stage 2 Disinfectants and Disinfection Byproducts Rule (final rule). <http://www.epa.gov/>.
- Uyak, V., Toröz, İ. 2005. Enhanced coagulation of disinfection by-products precursors in a main water supply of Istanbul. *Environ. Technol.*, 26: 261-266. DOI: 10.1080/09593332608618567.
- Uyak, V., Özdemir, K., Toröz, İ. 2007. Seasonal variations of disinfection by-productprecursors profile and their removal through surface water treatment plants. *Sci. Total. Environ.*390: 417-424. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.09.046.
- Uyak, V., Ozdemir, K., Toroz, İ. 2008. Seasonal variations of disinfection by-product precursors profile and their removal through surface water treatment plants. *Sci.Total. Environ*, 390: 417-424. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.02.041.
- Uyak, V., Soylu, S., Topal, T., Karapinar, N., Özdemir, K., Özeydin, S., Avsar, E. 2014. Spatial and Seasonal Variations of Disinfection Byproducts (DBPs) in Drinking Water Distribution Systems of Istanbul City, Turkey. *Environ. Forensics.* 15: 190-205. DOI: 10.1080/15275922.2014.890145.
- Wang, J., Hao, Z., Shi, F., Yin, Y., Cao, D., Yao, Z., Liu, J. 2018. Characterization of brominated disinfection byproducts formed during the chlorination of aquaculture seawater. *Environ. Sci. Technol.*, 52, 5662-5670. DOI: 10.1021/acs.est.7b05331.
- WHO (World Health Organization), 2011. Guidelines for drinking-water quality. In: Recommendations fourth ed. Geneva. <http://www.inchem.org/>.
- Yang, Z., Sun, Y.-X., Ye, T., Shi, N., Tang, F., Hu, H.Y., 2017. Characterization of trihalomethane, haloacetic acid, and haloacetonitrile precursors in a seawater reverse osmosis system. *Sci. Total. Environ.* 576: 391-397. DOI: 10. 1016/j.scitotenv.2016.10.139.
- Yoon, Y., Joseph, L., Flora, J.R.V., Saleh, H., Badawy, M., Park, Y.G. 2012. Removal of natural organic matter from potential drinking water sources by combined coagulation and adsorption using carbon nanomaterials. *Sep. Purif. Technol.*, 95: 64-72. DOI: 10.1016/j.seppur.2012.04.033.
- Yu, H.W., Oh, S.G., Kim, I.S., Pepper, I., Snyder, S., Jang, A. 2015. Formation and speciation of haloacetic acids in seawater desalination using chlorine dioxide as disinfectant. *J. Ind. Eng. Chem.* 26: 193-201. DOI: 10.1016/j.jiec.2014.10.046.
- Zhang, H., Dong, H., Adams, C., Qiang, Z., Luan, G., Wang, L. 2015. Formation and speciation of disinfection byproducts during chlor(am)ination of aquarium seawater. *J. Environ. Sci.* 33: 116-124. DOI: 10.1016/J.JES.2014.11.016.





## *Callinectes sapidus*'un (Mavi Yengeç) Hepatopankreas Esteraz (E. C. 3.1.1.1) Aktivitesine Metal İyonlarının ( $Zn^{+2}$ , $Co^{+2}$ , $Cd^{+2}$ , $Ni^{+2}$ ) *in Vitro* Etkilerinin Belirlenmesi

*Determination of in Vitro Effects of Metal Ions ( $Zn^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ) on the Hepatopancreas Esterase (E. C. 3.1.1.1) Activity of Callinectes sapidus (Blue Crab)*

Salih Görgün\* 

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Sivas, Türkiye

### Öz

Bu çalışmada insanlar tarafından besin olarak tüketilen bir yengeç türü olan *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896)'nın hepatopankreas esteraz (E. C. 3.1.1.1) aktivitesine çinko (Zn), kobalt (Co), kadmiyum (Cd), nikel (Ni) metallerinin etkileri *in vitro* olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; araştırılan tüm metal iyonlarının hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi sergilemekle birlikte,  $IC_{50}$  değerlerinin 0.83 mM (Cd) ile 32.21 mM (Co) arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Metal iyonlarının inhibisyon tipleri değerlendirildiğinde, Zn ve Co un-kompetitif inhibisyona neden olurken, Cd ve Ni karışık tip inhibisyon sergilemişlerdir. Elde edilen veriler, çevresel metal kirliliğinin belirlenmesinde mavi yengecin rolüne biyokimyasal veriler sunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Callinectes sapidus*, Hepatopankreas, Esteraz, Metal iyonları

### Abstract

In this study, *in vitro* effects of zinc (Zn), cobalt (Co), cadmium (Cd), nickel (Ni) on the hepatopancreas esterase (E. C. 3.1.1.1) activity of *Callinectes Sapidus* (Rathbun, 1896), a crab species consumed as a food by humans, were investigated. According to the obtained results;  $IC_{50}$  values were found to vary between 0.83 mM (Cd) and 32.21 mM (Co), in addition to the inhibition effect of all the metal ions investigated on the hepatopancreas esterase activity. When assessed the inhibition types of the metal ions investigated, while Zn and Co caused un-competitive inhibition, Cd and Ni had exhibited mixed type inhibition. The data obtained provide biochemical data on the role of blue crab in determination of environmental metal pollution.

**Keywords:** *Callinectes sapidus*, Hepatopancreas, Esterase, Metal ions


### 1. Giriş

Organizmalar metabolik fonksiyonlarını düzenlemek için çinko (Zn) gibi (esansiyel) bazı metallere gereksinim duyarlar. Bununla birlikte, kadmiyum gibi (esansiyel olmayan) metallerin organizmalarda metabolik rolünün bulunmadığı bildirilmektedir (Cresswell vd. 2015). Dekapod krustaselerde bakır (Cu) ve çinko gibi esansiyel metaller, organizmanın metale maruz kalmasına bakılmaksızın belirli bir dokuda metalin görece bir sabit konsantrasyonda kalmasına olanak

sağlayan biyokimyasal mekanizmalar ile bağdaştırılmaktadırlar. Bununla birlikte, esansiyel metallerin regüle edilmiş konsantrasyonlarında çeşitli faktörlere bağlı olarak bireysel bir organizmada ve bireyler arasında farklılıklar olabileceği de bildirilmektedir. Kadmiyum (Cd) ve civa (Hg) gibi esansiyel olmayan metaller söz konusu olduğunda, bu metaller metabolik olarak regüle edilmezler ve maruz kalmaya bağlı olarak dokulardaki konsantrasyonları değişiklik göstermektedir (Turoczy vd. 2001).

Ağır metaller önemli çevresel kirleticiler arasında yer alıp (Liu vd. 2014), akuatik omurgasızlardaki metal birikimi beslenme yoluyla insan sağlığını etkilemesi nedeniyle son dönemlerde dikkat çekici bir konu haline gelmiştir (Zhang vd. 2019). Metallerin biyolojik birikiminin (biyoakümülyasyon) doğasının, genellikle organizmanın belirli bir süreçte sadece bir metal yerine, birçok farklı metalin bir karışımına

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: [sgorgun@cumhuriyet.edu.tr](mailto:sgorgun@cumhuriyet.edu.tr)

Salih Görgün  [orcid.org/0000-0002-2121-2577](https://orcid.org/0000-0002-2121-2577)



maruz kalması nedeniyle oldukça karmaşık olduğu bildirilmiştir (Cresswell vd. 2015). Organizmalar tarafından alınan metallerin toksik etkilerini sarf edebilecekleri seviyeler metale göre ve organizmalar arasında farklılıklar göstermekle birlikte, akuatik omurgasızlarda bu metallerin alınış, biyokümülyasyon ve toksisite mekanizmaları Rainbow ve Luoma (2011) tarafından geniş bir şekilde tartışılmıştır. Akuatik dekapodlar arasında, nehir ağzı ve kıyı ekosistemlerinin anahtar türlerinden olan yengeçler tipik olarak bentik organizmalardır ve yüzey sedimentinde yaşamlarının yanı sıra, kontamine olmuş sedimentler arasında yaşayan organizmaları besin olarak kullanmaları (Zhao vd. 2012, Cheng vd. 2017, Cheng vd. 2018) ve insana kadar ulaşan akuatik besin ağında, toksik bileşenlerin daha üst trofik seviyelere taşınmalarından dolayı ekotoksikolojik çalışmaların odağındadırlar (Peterson vd. 2002). Bahsedilen bu ekolojik karakteristikleri nedeniyle yengeçler, çevresel metal kontaminasyonlarının izlenmesinde kullanılan önemli biyo-indikatör türler arasında yer alırlar (Arya vd. 2014). Çevresel kirlenici olarak metaller, krustaselerde enzim ve hormon sistemlerine etki ederek organizmanın hayatta kalma, gelişim ve üreme gibi faaliyetlerini etkilemektedirler. Bu esnada, özellikle asetilkolinesteraz ve esterazların da yer aldığı çeşitli enzimlerin aktivitelerinde değişimler saptanmaktadır (Elumalai vd. 2005). Bu enzimlerde çevresel kirliliğin izlenmesinde indikatör olarak kullanılan moleküler araçlardır.

Omurgasızlarda hepatopankreas, metabolik ve fizyolojik reaksiyonlar açısından son derece aktif bir organ olup, omurgalıların karaciğer, pankreas ve ince bağırsağına analogdur (Lima vd. 2013). Ayrıca hepatopankreas esteraz aktivitesinin krustaselerde detoksifikasyon başta olmak üzere, vitellogenizasyon, oogenezi, hormon metabolizması ve sinir impulsu kontrolü gibi çok önemli fizyolojik reaksiyonlar için esansiyel olduğu bildirilmektedir (Franceschini-Vicentini vd. 2009; Frasco vd. 2010; Lima vd. 2013). Ayrıca, ağır metallerin metabolik açıdan aktif organlar olan solungaç ve özellikle hepatopankreas dokusunda birikime uğradıkları belirtilmektedir (Çoğun vd. 2017).

*Callinectes sapidus* mavi yengeç olarak bilinmektedir ve protein açısından zengin olması nedeniyle son dönemlerde insanlar tarafından besinsel tüketimi ve ekonomik değerinin giderek arttığı anlaşılmaktadır. Literatürde mavi yengeç dahil diğer yengeç türlerinin çeşitli dokularındaki metal birikiminin seviyeleri ve metal kontaminasyonuna bağlı olarak bazı enzimlerin aktivitelerindeki değişimleri belirlemeye yönelik çalışmalar bulunmasına rağmen, biyo-indikatör olarak kullanılan enzimlerin inhibisyon kinetiğine dair çalışmalar

yok denecek kadar azdır. Bu nedenle, çalışmamızda, *C. sapidus*'un metabolik ve fizyolojik süreçlerinde kritik roller oynayan hepatopankreas esteraz aktivitesine Zn, Co, Cd ve Ni metallerinin etkilerinin *in vitro* olarak araştırılması ve sergiledikleri inhibisyon tiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntemler

### 2.1. *C. sapidus* Örneklerinin Sağlanması

Çalışmada kullanılan *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) örnekleri Muğla İli Köyceğiz Dalyan'ından elde edilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerin hepatopankreasları buzlu ortamda diseke edilmiş ve çalışılana kadar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da muhafaza edilmiştir.

### 2.2. Homojenat Hazırlanması

Homojenat hazırlanması Althalji ve Görgün (2019)'a göre bazı modifikasyonlar ile yerine getirilmiştir. Bu amaçla örneklerden elde edilen 5 gram hepatopankreas dokusu, Ultra-Turrax T 25 homojenizatörde 25.000 devir/dk hızda 3 dakika süresince 50 mM Tris-HCl (pH 7.40, 1 mM DTT, 1 mM EDTA) tamponunda homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmek suretiyle kaba partiküllerin çöktürülmesi sağlanmış ve üstteki süpernatant alınarak enzim aktivitesi çalışmalarında kullanılmıştır.

### 2.3. Enzim Aktivitesi Tayinleri

Esteraz aktivitesi ölçümleri 405 nm dalga boyunda ve 4-nitrofenil butirat (p-NPB) substratı kullanılarak çift ışın yollu spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Aktivite tüpü 20  $\mu\text{L}$  örnek, asetinitril içerisinde çözünmüş 50 mM p-NPB substratının 20  $\mu\text{L}$ 'si ve 960  $\mu\text{L}$  aktivite tamponundan (% 4 etanol içeren pH 8.0 Tris-HCl) oluşmuş ve 30  $^{\circ}\text{C}$ 'da aktivite ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Althalji ve Görgün, 2019). Kör tüpünde enzim çözeltisi yerine aynı hacimde aktivite tamponu kullanılmıştır. Hepatopankreas esteraz aktivitesi için değişen substrat konsantrasyonları (0.05 mM, 0.125 mM, 0.25 mM, 0.50 mM ile 1 mM final konsantrasyondaki beş farklı noktada) ile kadmiyum (0.3, 0.5 ve 0.8 mM), çinko (1.5, 2.5 ve 4 mM), kobalt (10, 15 ve 20 mM) ve nikel (5, 10 ve 20 mM) metalleri ile inkübe edilmiştir. Kör tüpü her bir ölçüm için örnek tüpündeki metal iyonunun konsantrasyonunu içermiştir. Belirtilen bu deney koşullarında esteraz aktivitesi rutin enzim aktivitesi tayinine göre belirlenmek suretiyle kontrol ve inhibitör bulunan tüplere ait elde edilen hızlardan Lineweaver-Burk eğrisi çizilerek her bir metal için inhibisyon kinetiği

belirlenmiştir. Ayrıca çalışılan metal iyonlarının farklı konsantrasyonları kullanılarak  $IC_{50}$  değerleri belirlenmiştir.

### 3. Bulgular

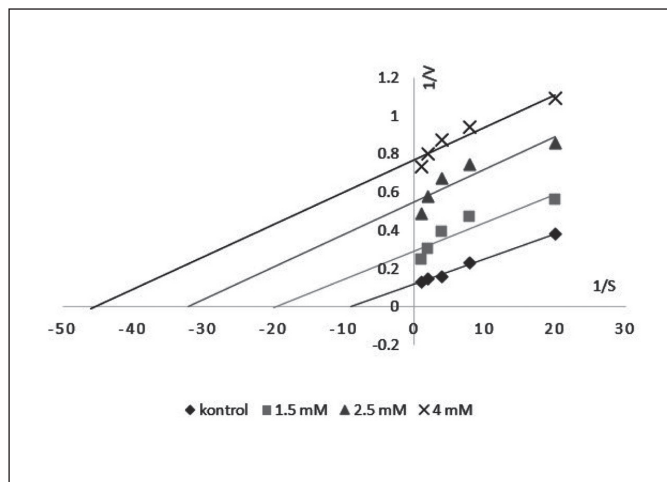
*C. sapidus* hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine Cd, Co, Zn, Ni metal iyonlarının inhibisyon tipleri,  $IC_{50}$  ve  $K_i$  değerleri Çizelge 1'de görülmektedir. Hepatopankreas dokusu esteraz aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi gösteren metal iyonlarının  $IC_{50}$  değerleri, 0.83 mM (Cd) ile 32.21 mM (Co) arasında olduğu belirlenmiştir. Bu veriler Çizelge 1 ve Şekil 5'te sergilenmiştir. Hepatopankreas kas dokusu esteraz aktivitesi üzerine metal iyonlarının sergilemiş oldukları  $K_i$  değerlerinin Zn için 0.508 mM (Şekil 1), Cd için 0.692 mM (Şekil 2), Ni için 8.672 mM (Şekil 3) ve Co için ise 14.651 mM (Şekil 4) olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine en yüksek inhibisyon etkisi gösteren metallerin çinko ve kadmiyum olduğu belirlenmiştir. En az inhibisyon etkisine sahip olan metallerin ise kobalt ve nikel olduğu görülmektedir.

### 4. Tartışma

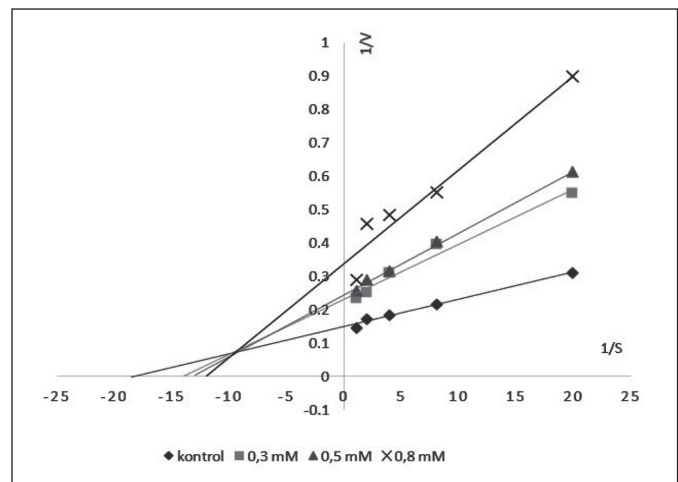
Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, insan beslenmesi, ekonomik ve ekolojik açıdan önemli konumdaki bir yengeç türü olan *C. sapidus*'un hepatopankreas esteraz aktivitesinin araştırmamızda kullanılan ağır metallere (Zn, Cd, Co ve Ni) duyarlı olduğunu göstermektedir. Bu duyarlılığın farklı metal iyonlarında farklı derecelerde olduğu göz önüne alındığında, çalışmamızda elde edilen veriler,  $IC_{50}$  değerlerinin, Çizelge 1 ve Şekil 5'te görüldüğü üzere, en düşükten en yükseğe doğru Cd, Zn, Ni ve Co sıralamasında olduğunu göstermektedir. Elde edilen bu bulguya göre, hepatopankreas esteraz aktivitesine en yüksek inhibisyon etkisine sahip olan metal iyonu kadmiyumdur. Esansiyel olmayan ve çok düşük konsantrasyonlarda dahi toksik olabileceği belirtilen (Soegianto vd. 2013; Zhang vd. 2019) bir metal iyonu olarak kadmiyum, yengeç dokuları tarafından metabolik olarak regüle edilememektedir. Ayrıca, ülkemiz sularından toplanan mavi yengeç örneklerinde değerlendirildiği üzere, çevresel kirliliğin belirlenmesinde önemli bir indikatör oldu-

**Çizelge 1.** *Callinectes sapidus* (mavi yengeç) hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine metal iyonlarının inhibisyon tipleri,  $IC_{50}$  ve  $K_i$  değerleri.

İnhibitör İyon	HEPATOPANKREAS		
	$IC_{50}$ (mM)	$K_i$ (mM)	İnhibisyon Tipi
$Cd^{2+}$	0.835	0.692	Karışık tip
$Zn^{2+}$	1.384	0.508	Un-kompetitif
$Ni^{2+}$	18.140	8.672	Karışık tip
$Co^{2+}$	32.210	14.651	Un-kompetitif



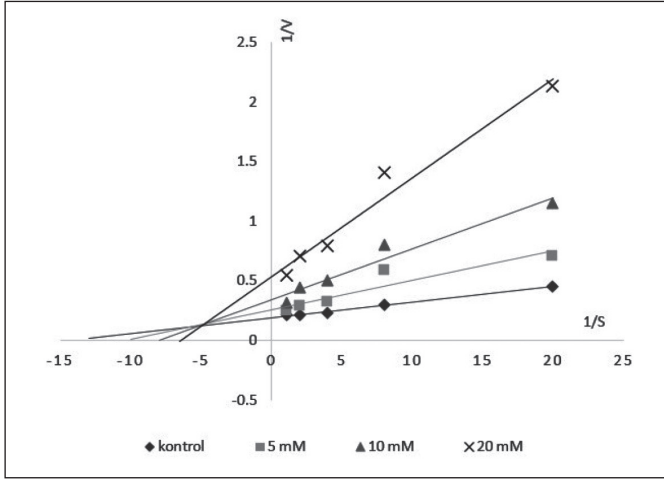
**Şekil 1.** Çinko'nun (Zn) farklı konsantrasyonlarının *C. sapidus* hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine etkisi.



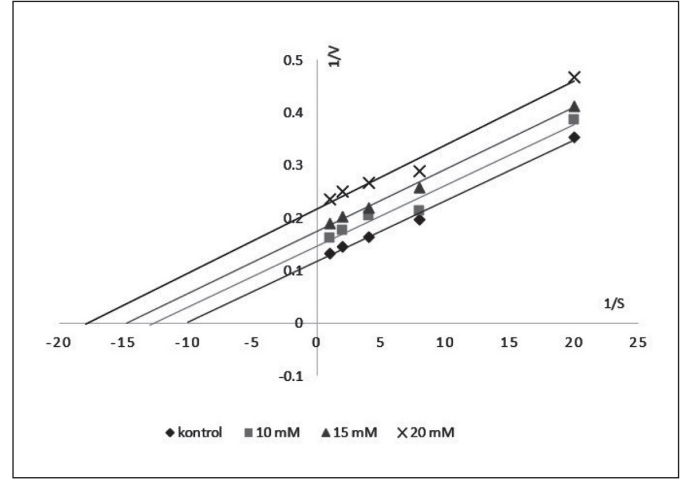
**Şekil 2.** Kadmiyum'un (Cd) farklı konsantrasyonlarının *C. sapidus* hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine etkisi.

ğu belirtilmektedir (Türkmen vd. 2006; Çoğun vd. 2017). Kadmiyumun birikimi *Pseudocarcinus gigas* (Turoczy vd. 2001), *Cancer irroratus* (Chou vd. 2002) ve *Eriocheir sinensis* (Cheng vd. 2018) gibi diğer yengeç türlerinden de değerlendirilmiştir.

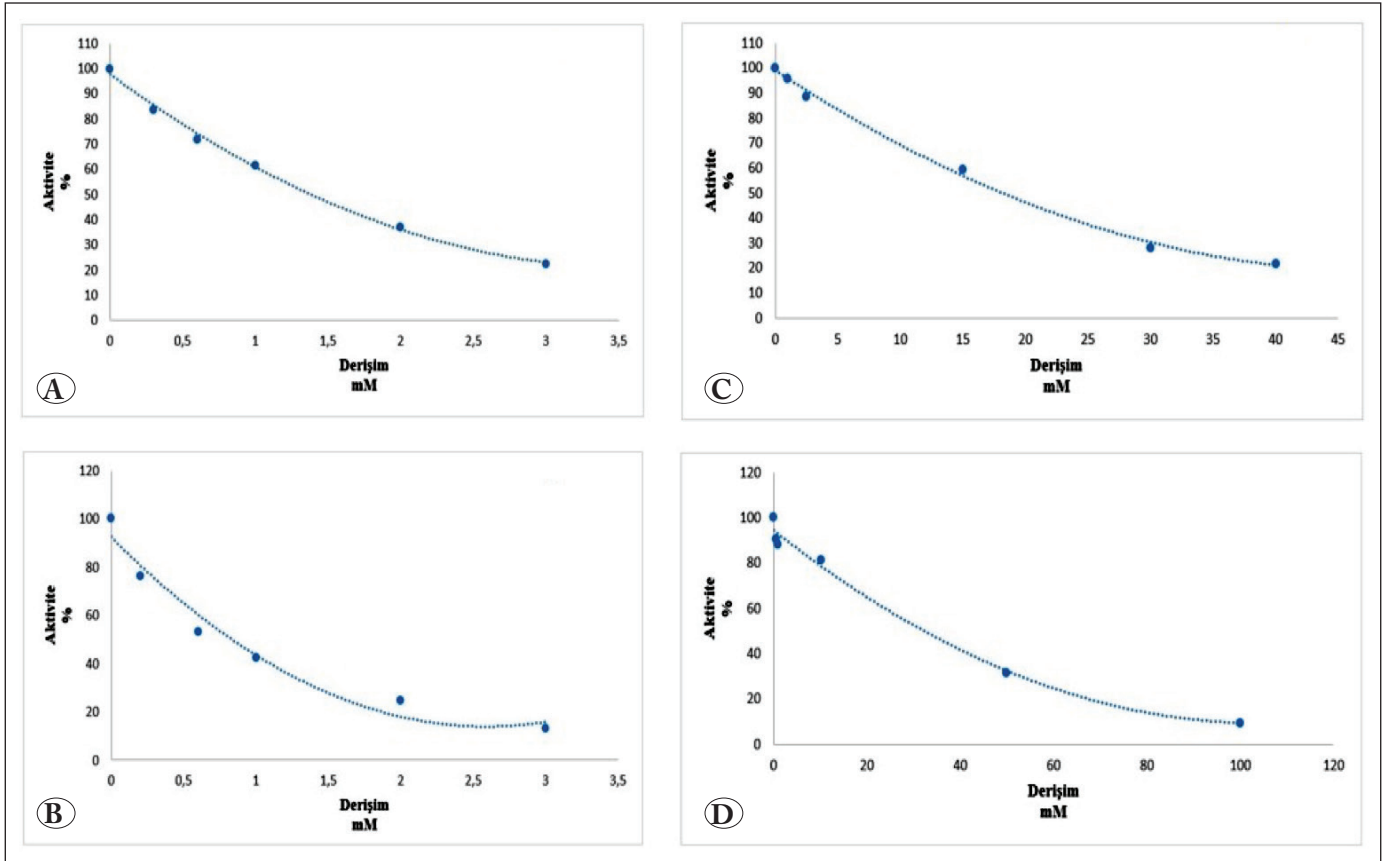
Çalışmamızda hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine kadmiyumdan sonra en fazla inhibisyon etkisi gösteren metal iyonu çinkodur. Ayrıca araştırılan metal iyonları içerisinde en düşük  $K_i$  değeri (0.508 mM) çinko için belirlenmiştir. Metabolik olarak gereksinilen ve esansiyel bir metal olan



Şekil 3. Nikel'in (Ni) farklı konsantrasyonlarının *C. sapidus* hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine etkisi.



Şekil 4. Kobalt'ın (Co) farklı konsantrasyonlarının *C. sapidus* hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerine etkisi.



Şekil 5. Metal iyonlarının  $IC_{50}$  değerlerinin belirlenmesi. A) Zn, B) Cd, C) Ni, D) Co



çinkonun dokularda çok fazla birikime uğramadığı daha önceki çalışmalarda (Turoczy vd. 2001; Cresswell vd. 2015) vurgulanmakla birlikte, çalışmamızda kullanılan diğer iyonlar olan kobalt ve nikel ile karşılaştırıldığında, kadmiyuma benzer bir şekilde, çinkonun da düşük konsantrasyonlarının hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerinde önemli inhibisyon etkisine yol açtığı görülmüştür.

Gerek  $IC_{50}$  gerekse  $K_i$  parametreleri açısından en yüksek değerler sırasıyla kobalt ve nikel iyonları için belirlenmiştir. Bu veriler kobalt ve nikelin *C. sapidus* hepatopankreas esteraz aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisinin olduğunu göstermekle birlikte, kadmiyum ve çinkoya göre daha az inhibisyon sergileyen metaller olduklarını önermektedir. Nikel ve kobaltın sucul omurgasızlardaki etkilerini değerlendiren çalışmaların oldukça sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Nikelin bazı hayvansal organizmalarda mikro-esansiyel element olduğu ve aşırı miktarlarının sucul organizmaların davranış, büyüme, gelişim ve üremesini etkilediği bildirilmiştir (Verma 2012). Vitamin  $B_{12}$ 'nin yapısında bulunan kobaltın iz miktarları canlılar için esansiyel olmakla birlikte, çevresel konsantrasyonlarının sucul organizmalardaki risk etkileri neredeyse belirsizdir (Stubblefield vd. 2020). Sonuç olarak, sucul omurgasızlarda ağır metallerin dokulardaki birikimlerini ve miktarlarını saptamaya yönelik çok sayıda çalışma olmasına karşın, metabolik enzimler üzerinde sergiledikleri inhibisyon tiplerini belirleyen çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Yapılan bu çalışma ile mavi yengeç hepatopankreas esteraz aktivitesinin çalışmada kullanılan ve inhibisyon seviyeleri farklı olan metallere karşı duyarlı olduğu görülmüş ve çevresel metal kirliliğinin belirlenmesinde önemli bir belirteç enzim olabileceği kanısına varılmıştır.

## 5. Teşekkür

Bu çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Birimi tarafından F-624 No'lu proje olarak desteklenmiştir. Bu nedenle, teşekkürlerimizi sunuyoruz. Ayrıca, örneklerin toplanması ve teşhisinde yardımcı olan Prof. Dr. Ali Günlü'ye (Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi) teşekkür ederiz.

## 6. Kaynaklar

**Althalji, M., Görgün, S. 2019.** Purification and characterization of an esterase from larval *Diplolepis fructuum* (Rübsaamen, 1895) (Hymenoptera: Cynipidae). *Turk. Entomol. Derg.-Tu.* 43(4): 367-376. Doi: 10.16970/entoted.533752

**Arya, S., Trivedi, JN., Vachhrajani, KD. 2014.** Brachyuran crabs as a biomonitoring tool: A conceptual framework for chemical pollution assessment. *Int. Res. J. of Environment Sci.* 3(1): 49-57.

**Cheng, L., Chen, Y., Zheng, YY., Zhan, Y., Zhao, H., Zhou, JL. 2017.** Bioaccumulation of sulfadiazine and subsequent enzymatic activities in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Mar. Pollut. Bull.* 121: 176-182. Doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.06.006

**Cheng, L., Zhou, JL., Cheng, J. 2018.** Bioaccumulation, tissue distribution and joint toxicity of erythromycin and cadmium in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Chemosphere.* 210: 267-278. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.005

**Chou, C., Paon, L., Moffatt, J. 2002.** Cadmium, copper, manganese, silver, and zinc in rock crab (*Cancer irroratus*) from highly copper contaminated sites in the inner Bay of Fundy, Atlantic Canada. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 68: 885-892. Doi: 10.1007/s00128-002-0037-2

**Cresswell, T., Simpson, SL., Mazumder, D., Callaghan, PD., Nguyen AP. 2015.** Bioaccumulation kinetics and organ distribution of cadmium and zinc in the freshwater decapod crustacean *Macrobrachium australiense*. *Environ. Sci. Technol.* 49(2): 1182-1189. Doi: 10.1021/es505254w

**Çoğun, HY., Firat, Ö., Aytakin, T., Firidin, G., Firat, Ö., Varkal, H., Temiz, Ö., Kargin, F. 2017.** Heavy metals in the blue crab (*Callinectes sapidus*) in Mersin Bay, Turkey. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 98: 824-829. Doi: 10.1007/s00128-017-2086-6

**Elumalai, M., Antunes, C., Guilhermino, L. 2005.** Alterations of reproductive parameters in the crab *Carcinus maenas* after exposure to metals. *Water Air Soil Pollut.* 160: 245-258. Doi: 10.1007/s11270-005-2992-9

**Franceschini-Vicentini, IB., Ribeiro, K., Papa, LP. 2009.** Histoarchitectural features of the hepatopancreas of the amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. *Int. J. Morphol.* 27: 121-128. Doi: 10.4067/S0717-95022009000100022

**Frasco, MF., Erzen, I., Stojan, J., Guilhermino, L. 2010.** Localization and properties of cholinesterases in the common prawn (*Palaemon serratus*): A kinetic-histochemical study. *Biol. Bull.* 218: 1-5. Doi: 10.1086/BBLv218n1p1

**Lima, AVB., Guerra AL., de Almeida, EA., Taddei, FG., Castiglioni, L. 2013.** Characterization of esterase patterns in hepatopancreas of three species of *Macrobrachium* (Palaemonidae). *Biochem. Syst. Ecol.* 47: 132-138. Doi: 10.1016/j.bse.2012.10.006

**Liu, J., Wu, H., Feng, J., Li, Z., Lin, G. 2014.** Heavy metal contamination and ecological risk assessments in sediments and zoobenthos of selected mangrove ecosystems, South China. *Catena.* 119, 136-142. Doi: 10.1016/j.catena.2014.02.009

- Peterson, MJ., Smith, JG., Southworth, GR., Ryon, MG., Eddlemon, GK. 2002.** Trace element contamination in benthic macroinvertebrates from a small stream near a uranium mill Tailings Site. *Environ. Monit. Assess.* 74:193–208. doi:10.1023/A:1013872103460
- Rainbow, PS., Luoma, SN. 2011.** Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates: Modelling zinc in crustaceans. *Aquat. Toxicol.* 105(3–4): 455–465. Doi: 10.1016/j.aquatox.2011.08.001
- Soegianto, A., Winarni, D., Handayani, US., Hartati, H. 2013.** Bioaccumulation, elimination, and toxic effect of cadmium on structure of gills and hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium sintangense* (De Man, 1898). *Water Air Soil Pollut.* 224: 1575–1585. Doi: 10.1007/s11270-013-1575-4
- Stubblefield, WA., Genderen, EV, Cardwell, AS., Heijerick, DG., Janssen, CR., De Schampelaere, KAC. 2020.** Acute and chronic toxicity of cobalt to freshwater organisms: using a species sensitivity distribution approach to establish international water quality standards. *Environ. Toxicol. Chem.* 39(4): 799–811. Doi: 10.1002/etc.4662
- Turoczy, NJ., Mitchell, BD., Levings, AH., Rajendram, VS. 2001.** Cadmium, copper, mercury, and zinc concentrations in tissues of the king crab (*Pseudocarcinus gigas*) from southeast Australian waters. *Environ. Int.* 27(4): 327–34. Doi: 10.1016/s0160-4120(01)00064-2
- Türkmen, A., Türkmen, M., Tepe, Y., Mazlum, Y., Oymael, S. 2006.** Metal concentrations in blue crab (*Callinectes sapidus*) and mullet (*Mugil cephalus*) in İskenderun Bay, Northern East Mediterranean, Turkey. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77:186–193. Doi: 10.1007/s00128-006-1049-0
- Verma, RS. 2012.** Acute toxicity of nickel to fresh water prawns. *Turk. J. Zool.* 36(4): 534–542. Doi: 10.3906/zoo-1102-18
- Zhang, Z. Fang, Z., Li, J., Sui, T., Lin, L., Xu, X. 2019.** Copper, zinc, manganese, cadmium and chromium in crabs from the mangrove wetlands in Qi'ao Island, South China: Levels, bioaccumulation and dietary exposure. *WEE.* 1(2019): 26–32. Doi: 10.1016/j.wsee.2019.09.001
- Zhao, S., Feng, C., Quan, W., Chen, X., Niu, J., Shen, Z. 2012.** Role of living environments in the accumulation characteristics of heavy metals in fishes and crabs in the Yangtze River Estuary, China. *Mar. Pollut. Bullet.* 64, 1163–1171. Doi: 10.1016/j.marpolbul.2012.03.023



# Nano Ozonized Oil Trigger ROS Production and $\gamma$ H2AX Cell Positivity of B-16 Melanoma and OV-90 Ovarian Cells

*Nano Ozon Yağının B-16 Melanoma ve OV-90 Over Hücrelerinde ROS Üretimi ve  $\gamma$ H2AX Hücre Pozitifliğini Tetiklemesi*

Yeliz Yalçın<sup>1\*</sup> , İshak Özel Tekin<sup>2</sup> , Seda Aydın<sup>1,3</sup> 

<sup>1</sup>Zonguldak Bülent Ecevit University, Department of Nanotechnology Engineering, Zonguldak, Turkey

<sup>2</sup>Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Medicine, Department of Immunology, Zonguldak, Turkey

<sup>3</sup>Zonguldak Bülent Ecevit University, Department of Biomedical Engineering, Zonguldak, Turkey

## Abstract

Tumor hypoxia is a restrictive factor for cancer treatment. Ozone therapy, used to decrease or prevent the hypoxia in tumor. In this study, it is aimed to use ozonized oil nanoemulsions (OZNEs) to overcome the limitations of ozone therapy in cancer research. The influence of OZNE against cancer cell lines is evaluated by Reactive Oxygen Species (ROS) and  $\gamma$ H2AX assays. For both B-16 melanoma and OV-90 cell lines, ROS production levels increased due to the increase in OZNE doses (0.85% to 14.88% and 1.94% to 58.58% for B-16 and OV-90 cell lines, respectively). 5-fold higher  $\gamma$ H2AX cell positivity's determined in OV-90 cells compared to B-16 melanoma cells. OZNE treatment could provide a new effective method to damage cancer cells in the future.

**Keywords:** Ozonized oil, Nano,  $\gamma$ H2AX, ROS, B-16 melanoma, OV-90 ovarian

## Öz

Tümör hipoksisi, kanser tedavisinde tedaviyi kısıtlayan bir faktördür. Ozon terapi, tumor hipoksisini azaltmak ya da önlemek amaçlı kullanılır. Bu çalışmada, kanser tedavisinde ozon terapinin kısıtlamalarının üstesinden gelmek için, ozon yağı nanoemülsiyonu (OZNE) kullanımı amaçlanmaktadır. OZNE'nin kanser hücre hatlarına olan etkisi, Reaktif Oksijen Türevleri (ROS) ve  $\gamma$ H2AX testleri ile değerlendirilmiştir. B-16 melanoma ve OV-90 over hücre hatlarının her ikisinde de, ROS üretimi OZNE doz artışı ile artmıştır (B-16 melanoma için %0.85'den %14.88'e, OV-90 over için %1.94'den %58.58'e), OV-90 over hücreleri  $\gamma$ H2AX hücre pozitifliği B-16 melanom ile kıyaslandığında 5 kat fazla artış göstermiştir. OZNE tedavisi gelecekte kanser hücrelerine hasar verecek yeni etkili bir yöntem sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Ozon yağı, Nano,  $\gamma$ H2AX, ROS, B-16 melanoma, OV-90 over


## 1. Introduction

Cancer is most common cause of death, despite a new techniques have been developed to for cancer treatment. Tumor hypoxia is most important factor affecting the success of cancer treatment (Van Meir, 1996) and increase the risk of angiogenesis, metastasis and resistance to treatment (Brizel


et al., 1996; Plasswilm et al., 2000; Young et al., 1988). Gray et al. have shown that resistance to radiotherapy increased 2.5-3 times and apoptosis decreased in the presence of tumor hypoxia (Gray et al., 1953).

Ozone, which is a reactive molecule, degrades in aqueous mediums and is converted to oxygen (Strickland & Perkins, 1995). In clinical applications ozone is used in high concentrations for disinfection and at low concentrations to accelerate wound healing and epithelization. It is also used as an alternative therapy in the treatment of advanced ischemic diseases, diabetic foot, viral infections, fungal infections, burns, dentistry, cancer, etc (Bocci et al., 2000; Clavo et al., 2004; Stoker, 1902). In recent years, there have been

\*Corresponding author: [yelizyalcin@gmail.com](mailto:yelizyalcin@gmail.com)

Yeliz Yalçın  [orcid.org/0000-0003-1816-4161](https://orcid.org/0000-0003-1816-4161)

İshak Özel Tekin  [orcid.org/0000-0002-9969-4254](https://orcid.org/0000-0002-9969-4254)

Seda Aydın  [orcid.org/0000-0002-4184-5320](https://orcid.org/0000-0002-4184-5320)



pilot studies examining ozone therapy and tumor hypoxia. These studies show that ozone increases oxygenation in hypoxic tumors (Clavo et al., 2004). To date, few studies have demonstrated the effect of ozone on cancer cells. Among all, ozone has been shown to decrease cellular viability by apoptosis (Klestadt et al., 2005). Sweet *et al.* reported the effect of different concentrations of ozone on the growth of lung, breast, and uterus cancer cells. The presence of 0.3 ppm, 0.5 ppm, and 0.8 ppm ozone inhibited cancer cell growth 40%, 60%, and more than 90%. In the presence of 0.5 ppm ozone, growth rates of cancer cells are lower than noncancerous cells (Sweet et al., 1980). In another study, Simonetti *et al.* investigated the influence of ozone with 5-Fluorouracil and cisplatin in human colon cancer cell (HT29) and reported that ozone with 5-FU and cisplatin decrease cell viability and increase cytotoxicity by 15-20% (Simonetti et al., 2017). Moreover, to date, most of these studies have focused on DNA synthesis and metastatic potential, which inspire alternative cancer therapy applications nowadays (Young et al., 1988).

Ozonized oils are obtained from reaction of ozone with vegetables oils and preferred more than ozone as they have high solubility, absorption and easy application (Serio et al., 2017; Travagli et al., 2010). Ozone affects the intracellular signaling systems (Travagli et al., 2010) and ozonized oils are frequently used in medical applications since ozonized oils overcome the difficulties of ozone during its applications (i.e. high reactivity of ozone gas, low solubility, and low absorption)(Serio et al., 2017; Travagli et al., 2010).

In this study, we aimed to investigate the influence of ozonized oil nanoemulsions (OZNEs) on cancer cells because the effects of hypoxia and the therapeutic activity of oxygenation in cancer cells are critical. The novelty of this study relies on the ozone nanoemulsion dose-dependency effect in different cancer cell lines, allowing us to evaluate ROS production and  $\gamma$ H2AX cell positivity. In this regard, B-16 melanoma and OV-90 ovarian cell lines were incubated with OZNE at different concentrations. Subsequently, *in vitro* cellular activities of both cell lines have been determined by ROS, and  $\gamma$ H2AX assays (Figure 1).

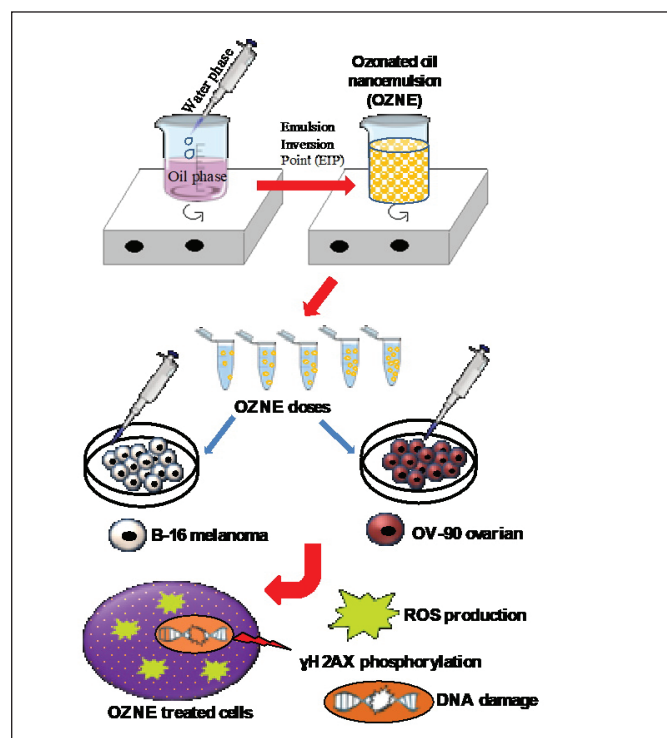
## 2. Materials and Methods

Ozonized oil was obtained from Aktifoks Ozonid (İzmir, Turkey). Peroxide value, iodine value, and acidity of ozonized oil were determined as described previously (analyzed by TÜBİTAK-MAM, Turkey) (Aydın & Kazancı, 2018).

Nanoemulsions were prepared using the emulsion inversion point (EIP) method as described in our previous study (Aydın & Kazancı, 2018). In this study, the OZNE has been prepared under pre-defined optimized conditions (750 rpm mixing rate, surfactant/oil (2:1)). Zeta potential and size distribution of nanoemulsions were analyzed with dynamic light scattering (DLS) with Zetasizer Nano-S (Malvern, England). Scanning electron microscopy (SEM) was conducted on nanoemulsions for imaging the nanoemulsion morphology using a field emission scanning electron microscope (FEI Quanta, FEG450) with an operating voltage of 7 kV. Malignant melanoma mouse B-16 cell line and human ovarian OV-90 cell line have been purchased from ATCC (Germany).

### 2.1. In Vitro Cell Culture Studies

B-16 mouse melanoma (B16, ATCC CRL-6475) cells and OV-90 ovarian cancer cells (OV-90, ATCC CRL-11732) were cultured in RPMI 1640 medium (Sigma, Germany) supplemented with 10% fetal calf serum (FCS, (Sigma, Germany), %10 L-glutamine (Sigma, Germany) and 1% penicillin/streptomycin (Sigma, Germany). After the cells reached 80–85% confluence, before cell seeding, the cells were digested with 0.25% trypsin–EDTA (Sigma,



**Figure 1.** Schematic illustration of OZNE treated B-16 melanoma and OV-90 ovarian cell lines assessed DNA damage, ROS, and  $\gamma$ H2AX assays.



Germany), centrifuged, and resuspended in medium. Then, the cells were conducted in sterile 12-well tissue culture polystyrene (TCPS) dishes in stationary conditions at 37°C in a humidified CO<sub>2</sub> (5%) atmosphere (Heraeus Instruments, Germany). 2 mL of cell suspension at a density of 5x10<sup>5</sup> cells ml<sup>-1</sup> (RPMI 1640 supplemented with 10% FBS (and 1% penicillin–streptomycin) was incubated in 12-well plates for 3 days. Then, B-16 melanoma cells and OV-90 ovarian cells were incubated with (OZNE) doses (1  $\mu$ l OZNE dose=0.015  $\mu$ l ozonized oil) sterilized by filtering through 0.22  $\mu$ m filter (Milipore, Sigma) were for 60 min at 37°C according to our previous study (Yalçın et al., 2021). Experimental groups were defined as control (without OZNE), OZNE5 (5  $\mu$ l/well), OZNE10, (10  $\mu$ l/well), OZNE20 (20  $\mu$ l/well), OZNE50 (50  $\mu$ l/well), and OZNE100 (100  $\mu$ l/well) and optical microscopy images of the cells exposed to different concentrations of OZNEs were shown in our previous study (Yalçın et al., 2021).

## 2.2. Reactive Oxygen Species (ROS) by Flow Cytometry

ROS determination by flow cytometry was assessed with the principle of determining the conversion of 2',7'-dichlorofluorescein d, acetate (DCFDA) to 2',7'-dichlorofluorescein (DCF). B-16 and OV-90 cells treated with all OZNE groups were incubated with DCFDA (10  $\mu$ M, Sigma) at 37°C for 30 minutes, and then conducted to flow cytometry device (Beckman coulter, USA). The ROS assay kit (Sigma, Germany) was used according to the instructions of manu-

facturer. The percentage of fluorescence caused by DCF was determined.

## 2.3. Evaluation of $\gamma$ H2AX Positivity by Flow Cytometry

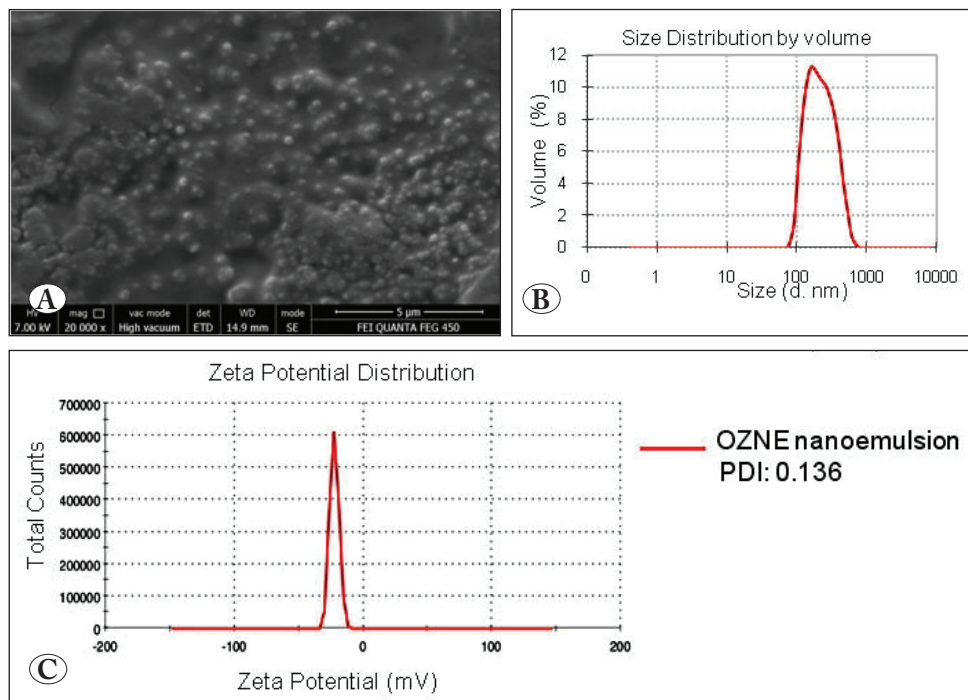
B-16 and OV-90 cells treated with all OZNE groups were incubated on the 12 well plates using flow cytometry. Phosphorylated H2AX histone proteins have interacted with primary antibodies. After 30 minutes of incubation at room temperature, staining has been done with labeled with FITC. The H2AX DNA damage assay kit (Beckman Coulter, FL) was used according to the instructions of manufacturer.

## 2.4. Statistical Analysis

Data are expressed as means  $\pm$  standard deviation of three similar experiments carried out in triplicate. Statistical analysis was performed by one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test for multiple comparisons using Graph-Pad Instant (GraphPad Software) statistics program. p>0.05, p <0.05, p <0.01, and p <0.001 represent statistically no significant values, statistically significant, very significant, and extremely significant values, respectively.

## 3. Results and Discussion

Figure 2 demonstrates DLS results and SEM image of ozonized oil nanoemulsion. SEM image approved homogeneously distributed and spherical nanoemulsions (Figure 2A), confirmed by polydispersity index (PDI) value



**Figure 2.** A) SEM image of OZNE, B) mean size distribution of OZNE and C) zeta potential distribution of OZNE.

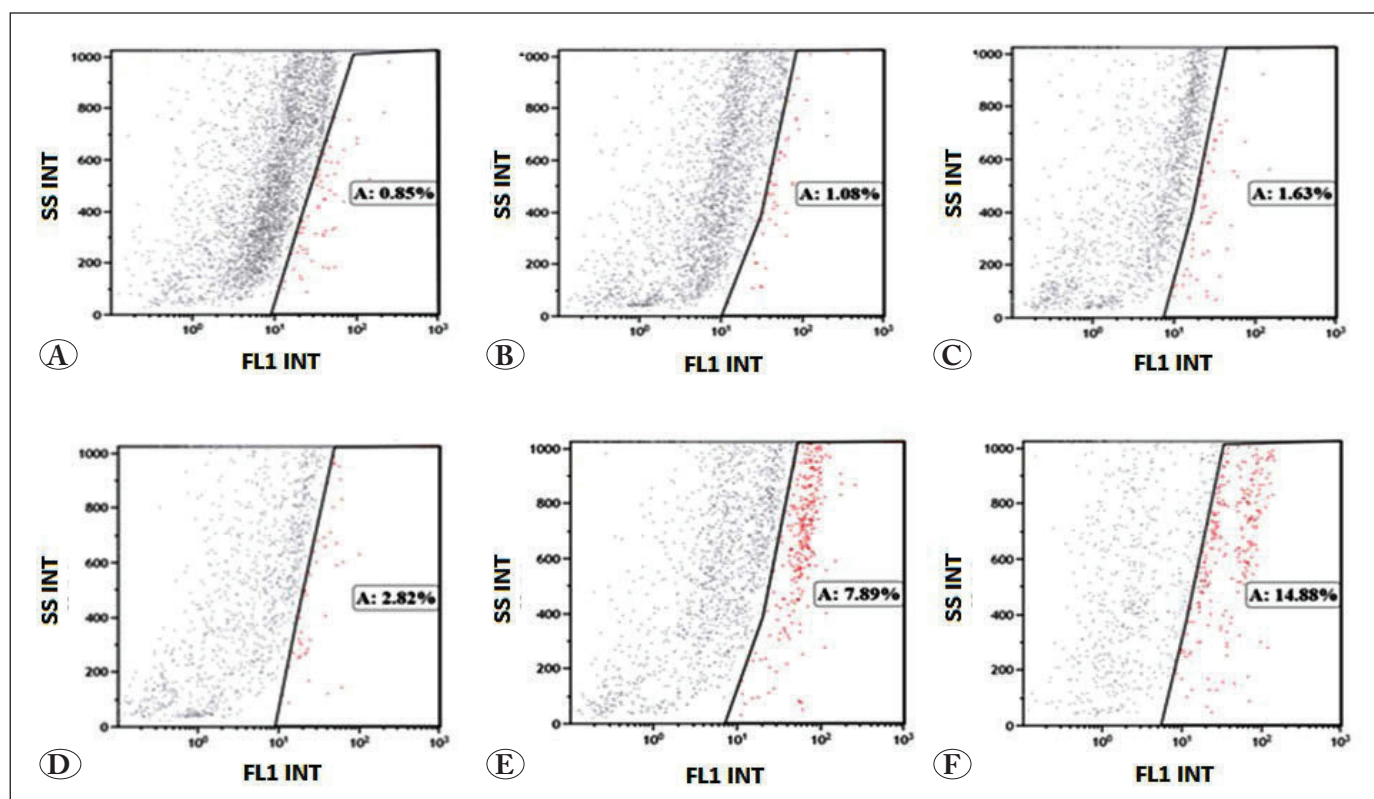
of nanodroplets dispersed in emulsion (PDI: 0.136) (Figure 2B). Prepared nanoemulsion average size and zeta potential values were  $212.9 \pm 0.7$  nm  $-22.5 \pm 05$  mV, respectively (Figure 2B and 2C).

### 3.1. Evaluation of Reactive Oxygen Derivatives (ROS) by Flow Cytometry

The increase of ROS production in the cell plays a significant role in the initiation of apoptosis by causing damage to the cell membrane, deterioration in intracellular protein structure and functions, structural damage in DNA and loss of function in the cell (Bayr, 2005). ROS affects DNA and rapid cellular division more. After the discovery of these qualifications of ROS, ROS release concentration has become more and more important. ROS is a side product of normal cell metabolism and can be either beneficial or harmful depending on the concentration and location (Bhardwaj et al., 2016). In this study, the percentage of fluorescence caused by DCF was measured by flow cytometry in order to determine ROS derivatives on both B-16 melanoma and OV-90 ovarian cells treated

with OZNE nanoemulsions. OV-90 ovarian cells were used in order to investigate the effect of OZNE treatment regarding different cancerous cell types by exploring ROS derivatives and  $\gamma$ H2AX positivity.

Figure 3 demonstrates ROS histograms of B-16 melanoma cells. As seen from Figure 3, ROS levels in B-16 melanoma cells were gradually increased from 0.85% in control group to 14.88% in the OZNE100 group due to the increase in nanoemulsion concentration. Additionally, it is noteworthy that a significant increase was determined in ROS levels of OZNE50 and OZNE100 groups (~9-fold and ~17-fold, respectively) compared to the control group. Thus, ROS levels in B-16 melanoma cells were evaluated as OZNE concentration-dependent. Previously, Alarifi *et al.* studied the cellular ROS production and apoptosis efficiency of Pd nanoparticles in human malignant melanoma cells. When the fluorescence percentages of cells with different concentrations of Pd nanoparticles were examined after 24 and 48 hours, an increase in ROS was observed depending on the increase in nanoemulsion concentration (Alarifi et al., 2017).



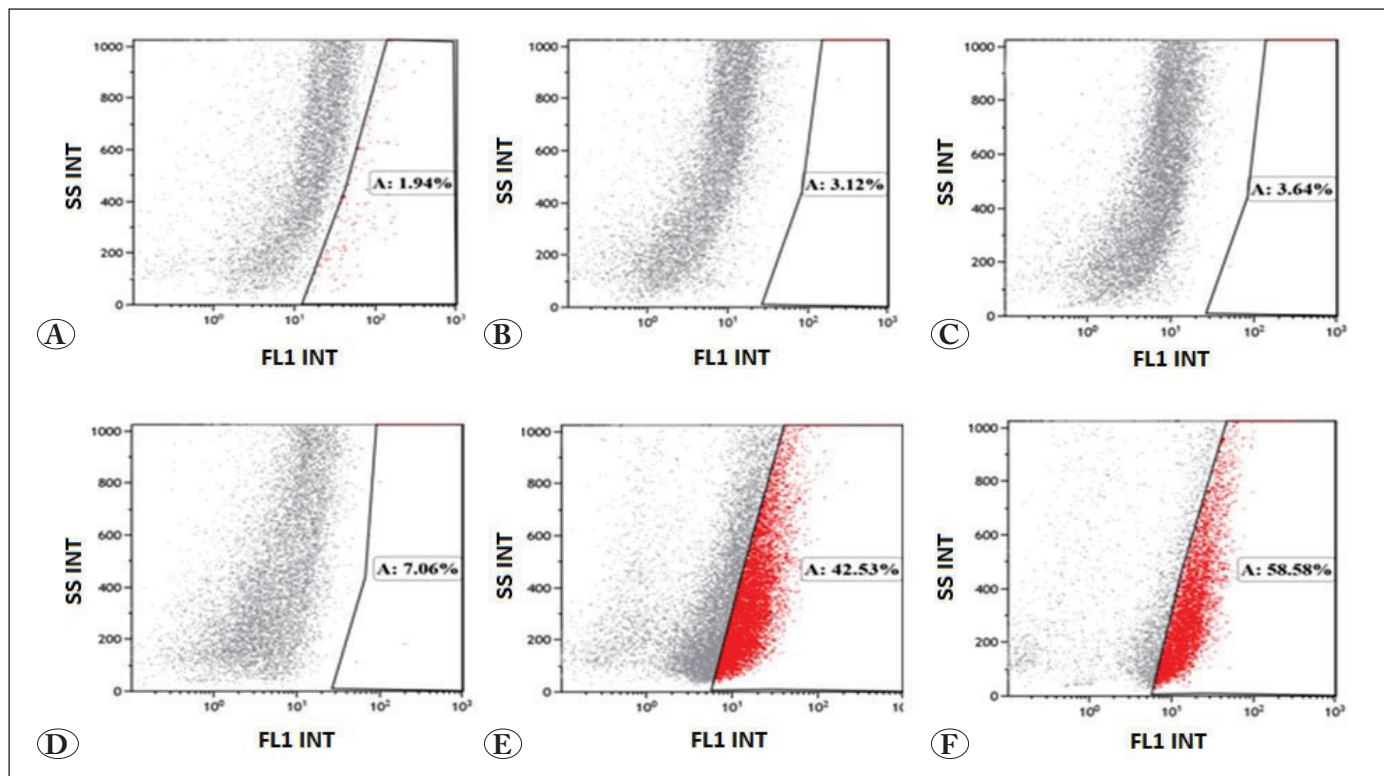
**Figure 3.** ROS Histograms of B-16 melanoma cells treated with different concentrations of OZNE; **A)** Control **B)** OZNE5, **C)** OZNE10, **D)** OZNE20, **E)** OZNE50, **F)** OZNE100 (X-axis (FL1 INT) represents the intensity of fluorescence in the red spectrum and Y-axis (SS INT) represents the intensity of side scatter).

Essential oils and their components have high anticancer potential due to the fact that they induce ROS. However, there are not many studies on the nanoemulsion forms of these oils. Khan *et al.* investigated the anticancer potential of the carvacrol nanoemulsion in human adeno carcinoma A549 cells and the carvacrol nanoemulsion treatment showed an increase in ROS levels, and this induced apoptosis (Khan *et al.*, 2018). Our results showed in a similar manner with previous reports in the literature. Thus, it can be suggested that the increase of ROS levels in OZNE nanoemulsion treated cells induced apoptosis, which also confirms apoptosis studies.

Figure 4 demonstrates flow cytometry histograms showing ROS levels of OV-90 cells treated without and with OZNE nanoemulsions. Results showed an increase in ROS levels from 1.94% (control) to 58.58% (OZNE100 group) due to the increase of OZNE concentration within OV-90 cells (Figure 4). OV-90 cells displayed ~22- and ~30-fold higher levels in OZNE50 and OZNE100 groups, respectively, compared to control groups.

### 3.2. Evaluation of $\gamma$ H2AX Positivity by Flow Cytometry Method

Double-stranded DNA break is the most dangerous DNA damage. Even a single double-stranded break that is not repaired results in cell death (Jackson, 2002; Sonoda *et al.*, 2006). Many anticancer drug studies are also being studied as an inducer of DNA double-stranded break.  $\gamma$ H2AX is a new cancer biomarker to evaluate DNA damages (Bassing *et al.*, 2003) in cancer treatment and follow-up (Kuo & Yang, 2008).  $\gamma$ H2AX positivity is a method that allows the physical locations of DNA damage to be viewed by fluorescent methods (Nikitaki *et al.*, 2020). H2AX is a member of the H2A family, it is phosphorylated at regions where double-stranded DNA breaks occurs and is named  $\gamma$ H2AX. The presence of  $\gamma$ H2AX in the environment means DNA damage and double-stranded break (Kuo & Yang, 2008; Rogakou *et al.*, 1998; Stiff *et al.*, 2004). In the current study, we hypothesized that while undergoing OZNE treatment, double-strand DNA breaks were induced in B-16 melanoma and OV-90 cell lines. Here we benefited by the  $\gamma$ H2AX assay to investigate the phenomenon. The investigation also compares the cumulative cell damage



**Figure 4.** ROS Histograms of OV-90 ovarian cells treated with different concentrations of OZNE; **A)** Control **B)** OZNE5, **C)** OZNE10, **D)** OZNE20, **E)** OZNE50, **F)** OZNE100 (X-axis (FL1 INT) represents the intensity of fluorescence in the red spectrum and Y-axis (SS INT) represents the intensity of side scatter).



which is hypothesized to occur depending on OZNE concentration.

Figure 5 demonstrates H2AX positive B-16 cell population levels without and with OZNE nanoemulsions. According to the histograms,  $\gamma$ H2AX positive cells were 0.52% in control group, the positive cells increased to a value of 12.55% and 17.06% in OZNE50 and OZNE100 groups, respectively (Figure 5). This is ~24- and ~33-fold increase suggesting that the  $\gamma$ H2AX is expressed at a higher level with the recruitment of repair enzymes, and their active participation in the DNA damage repair pathway. When the cells exposure OZNE nanoemulsion,  $\gamma$ H2AX positive cells gradually increased (Figure 5). This suggests that DNA damage was caused by exposure to high OZNE concentrations, which is associated with programmed cell death.

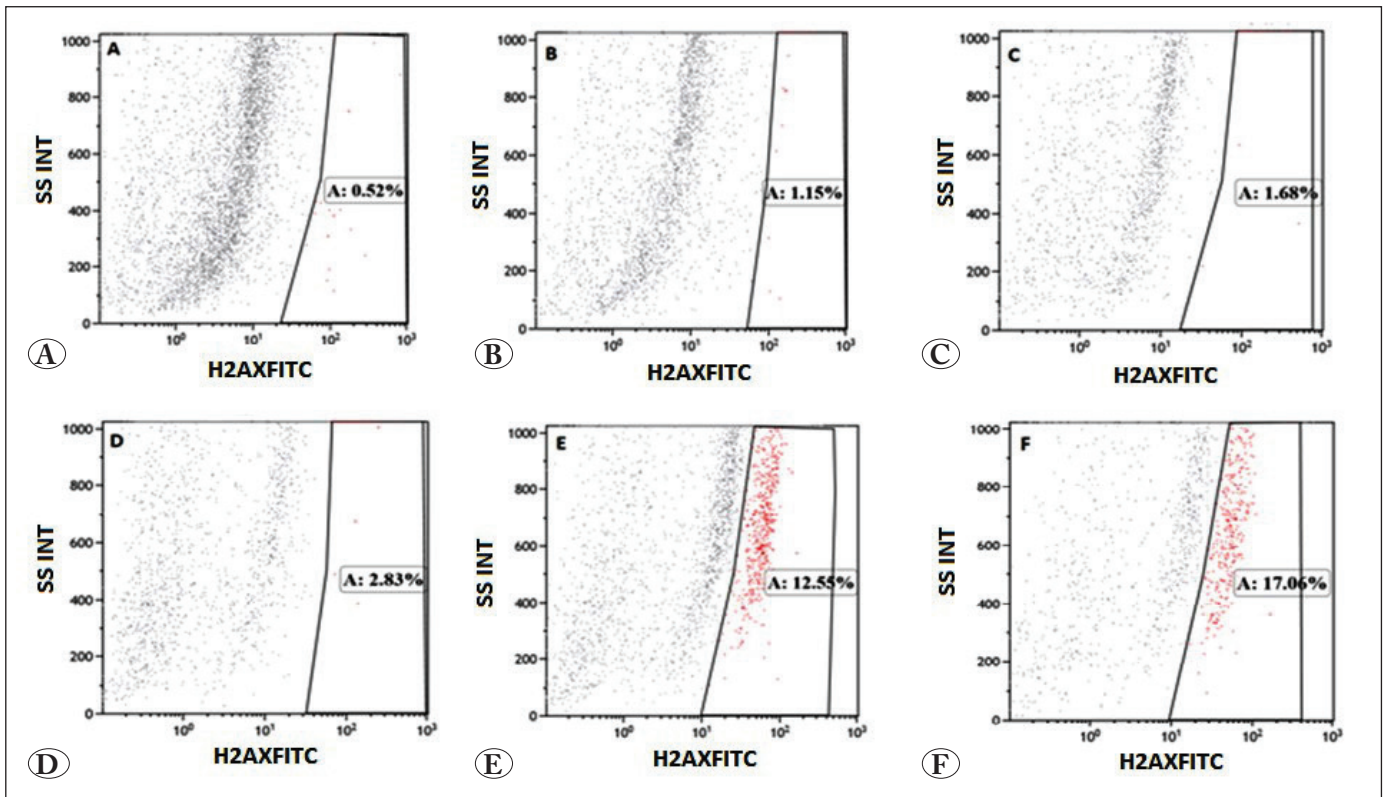
$\gamma$ H2AX positive OV-90 cell levels without and with OZNE nanoemulsions were represented in Figure 6. According to the histograms, a significant increase in  $\gamma$ H2AX levels was determined in OZNE50 (64.74%) and OZNE100 (71.89%) groups compared to control (3.52%) (Figure 6). This leads to approximately 18- and 20-fold high levels, respectively. The results clearly demonstrate that the increase in OZNE

concentration gradually increases  $\gamma$ H2AX cell positivity in both B-16 melanoma and OV-90 cell lines.

### 3.3. Evaluation of Cell Lines Under ROS Production and $\gamma$ H2AX Positivity

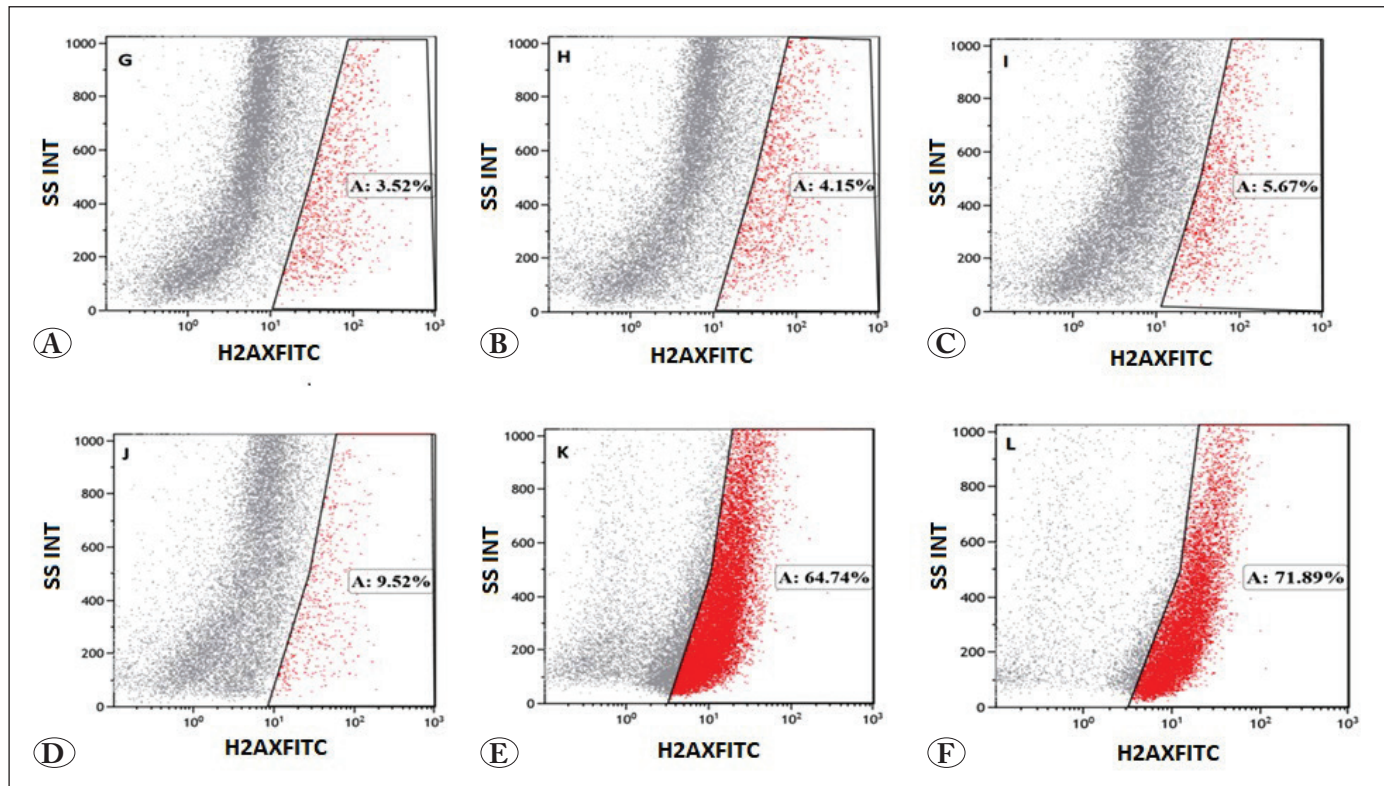
Different cell types have comparable DNA-repair capacity. It is well-known that malign melanoma has high a resistivity (Miller & Mihm Jr, 2006; Trott, 1991) throughout the treatment and overcomes sublethal DNA injuries compared to the other tumor cells (Jones et al., 2001). Previously it was shown that B-16 melanoma and OV-90 ovarian cells exhibited different  $\gamma$ H2AX positivity and ROS production due to their DNA repair capacity (Böcker & Iliakis, 2006).

In this study, the effects of OZNE nanoemulsion concentration in different cells were highlighted in terms of determining the increase of ROS production in cells. It is likely that OZNE treatment contributed to ROS production in both B-16 melanoma and OV-90 cells (Figure 7A). Moreover, it should be mentioned that high concentrations of OZNE nanoemulsions (OZNE50 and OZNE100) strongly supported ROS production influencing cell apoptosis.



**Figure 5.**  $\gamma$ H2AX Histograms of B-16 melanoma cells treated with different concentrations of OZNE; A) Control B) OZNE5, C) OZNE10, D) OZNE20, E) OZNE50, F) OZNE100.





**Figure 6.**  $\gamma$ H2AX Histograms of OV-90 ovarian cells treated with different concentrations of OZNE; A) Control B) OZNE5, C) OZNE10, D) OZNE20, E) OZNE50, F) OZNE100.

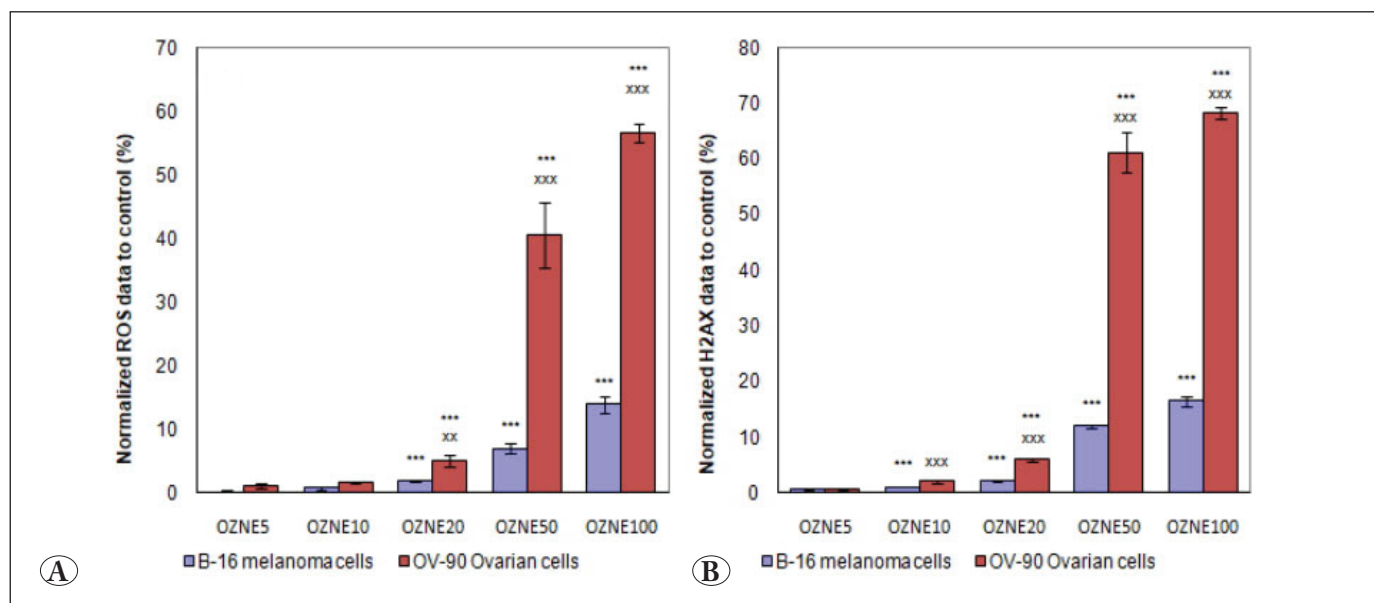
Approximately 6- and 4-fold higher ROS production was determined in OV-90 cells compared to B-16 melanoma cells treated with OZNE50 and OZNE100 groups, respectively (Figure 7A). Figure 7B shows approximately 5- and 4-fold higher  $\gamma$ H2AX levels were determined in OV-90 cells compared to B-16 melanoma cells treated with OZNE50 and OZNE100 groups, respectively.

Oxygen and its mimics act through a mechanism of damage fixation utilizing electron affinity. Some chemicals developed from free radicals have shown promising prospects or have already been used clinically. Although great progress has been made in this direction, there are still some obstacles hindering clinical translation, such as adverse effects of hyperbaric oxygen, lack of structure types, lack of optional active groups with 'oxygen effect' and lack of tumor specificity (Churchill-Davidson, 1964; Overgaard, 2007). In this study, an emerging nanoplatform, which was developed to regulate the level of ROS such as  $H_2O_2$  and  $\cdot OH$ , served carriers of ozone. ROS can mediate signal transduction, oxidize proteins, damage DNA structure, and induce apoptosis (Reczek & Chandel, 2015; Sfikas et

al., 2012; Simon et al., 2000; Stadtman & Berlett, 1997). Since the regulation of ROS levels in tumors enables the accelerated damage of cancer cells (Tang et al., 2020), our results give a new method to damage cancer cells in the future.

However, it is noteworthy to mention that further study would be required to fully understand the impact of ROS levels and the mechanism of cellular damage in vivo, regarding the OZNE studied here. The latter aspect, the inevitable of clinical potential remains a major challenge.

In conclusion, we explored the effects of OZNE on B-16 melanoma and OV-90 ovarian cell lines in terms of ROS production and  $\gamma$ H2AX cell positivity. Our results showed that ROS production and  $\gamma$ H2AX cell positivity depend on OZNE concentration. Furthermore, both B-16 melanoma and OV-90 cell lines treated with OZNE50 and OZNE100 groups greatly increased ROS production and  $\gamma$ H2AX cell positivity. Future studies of OZNE nanoemulsion may further support its use in cancer treatment due to increase of cellular damage.



**Figure 7.** Normalized ROS production (A) and  $\gamma$ H2AX (B) levels of B-16 melanoma and OV-90 ovarian cells treated with OZNE. Statistical differences between groups (n = 6, without OZNE is control group, \*\*\*p<0.001, \*p<0.05; B-16 melanoma is control group, xxxp< 0.001).

#### 4. Acknowledgements

This study was financially supported by Zonguldak Bülent Ecevit University Scientific Research Projects, Project No. 2016-39971044-02.

#### 5. References

Alarifi, S., Ali, D., Alkahtani, S., Almeer, R. S. (2017). ROS-mediated apoptosis and genotoxicity induced by palladium nanoparticles in human skin malignant melanoma cells. *Oxi. Med.and Cell Longe*, 2017:1-10. <http://doi.org/10.1155/2017/8439098>.

Aydın, R. S. T., Kazancı, F. (2018). Synthesis and characterization of ozonated oil nanoemulsions. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 95(11): 1385-1398. doi:10.1002/aocs.12150.

Bassing, C. H., Suh, H., Ferguson, D. O., Chua, K. F., Manis, J., Eckersdorff, M., Alt, F. W. (2003). Histone H2AX: a dosage-dependent suppressor of oncogenic translocations and tumors. *Cell stem cell*, 114(3): 359-370. [http://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00566-x](http://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00566-x).

Bayr, H. (2005). Reactive oxygen species. *Crit. Care Med.*, 33(12):498-501. doi:10.1097/01.CCM.0000186787.64500.12

Bhardwaj, M., Kim, N.-H., Paul, S., Jakhar, R., Han, J., Kang, S. C. (2016). 5-Hydroxy-7-methoxyflavone triggers mitochondrial-associated cell death via reactive oxygen species signaling in human colon carcinoma cells. *PloS one*, 11(4): e0154525. doi:10.1371/journal.pone.0154525.

Bocci, V., Borrelli, E., Corradeschi, F., Valacchi, G. (2000). Systemic effects after colorectal insufflation of oxygen-ozone in rabbits. *Int. J. Med. Bio. Environ.*, 28: 109-113.

Böcker, W., & Iliakis, G. (2006). Computational methods for analysis of foci: Validation for radiation-induced  $\gamma$ -H2AX foci in human cells. *Rad. Res.*, 165(1): 113-124.

Brizel, D. M., Scully, S. P., Harrelson, J. M., Layfield, L. J., Bean, J. M., Prosnitz, L. R., Dewhirst, M. W. (1996). Tumor oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma. *Cancer research*, 56(5): 941-943.

Churchill-Davidson, I. (1964). Oxygenation in Radiotherapy of Malignant Disease of the Upper Air Passages [Abridged] The Oxygen Effect in Radiotherapy. In: SAGE Publications.

Clavo, B., Pérez, J. L., López, L., Suárez, G., Lloret, M., Rodríguez, V., Robaina, F. (2004). Ozone Therapy for Tumor Oxygenation: a Pilot Study. *Evid Based Complement Alternat Med*, 1(1): 93-98. doi:10.1093/ecam/neh009.

Gray, L. H., Conger, A. D., Ebert, M., Hornsey, S., Scott, O. (1953). The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *The Brit.J. of Radio.*, 26(312): 638-648.

Jackson, S. P. (2002). Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis*, 23(5): 687-696. doi:10.1093/carcin/23.5.687.

Jones, B., Dale, R., Deehan, C., Hopkins, K., Morgan, D. (2001). The role of biologically effective dose (BED) in clinical oncology. *Clin. Onc.*, 13(2): 71-81.

- Khan, I., Bahuguna, A., Kumar, P., Bajpai, V. K., Kang, S. C. (2018).** In vitro and in vivo antitumor potential of carvacrol nanoemulsion against human lung adenocarcinoma A549 cells via mitochondrial mediated apoptosis. *Scie.Rep.*, 8(1): 1-15.
- Klestadt, D., Laval-Gilly, P., Foucaud, L. (2005).** Influences of ozone exposure upon macrophage responsivity to N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine: mobility and metabolic changes. *Oxica. in vitro*, 19(2): 199-206.
- Kuo, L. J., Yang, L.-X. (2008).**  $\gamma$ -H2AX-a novel biomarker for DNA double-strand breaks. *Int. Inst. of Antica. Res.*, 22(3): 305-309. doi:10.3390/cancers12113288.
- Miller, A. J., Mihm Jr, M. (2006).** Melanoma. *New Eng. J. of Med.*, 355(1): 51-65.
- Nikitaki, Z., Pariset, E., Sudar, D., Costes, S. V., Georgakilas, A. G. (2020).** In Situ Detection of Complex DNA Damage Using Microscopy: A Rough Road Ahead. *Cancers*, 12(11): 3288.
- Overgaard, J. (2007).** Hypoxic radiosensitization: adored and ignored. *J. Clin. Onc.*, 25(26): 4066-4074.
- Plasswilm, L., Tannapfel, A., Cordes, N., Demir, R., Hoeper, K., Bauer, J., Hoeper, J. (2000).** Hypoxia-induced tumour cell migration in an in vivo chicken model. *Pathobio.*, 68(3): 99-105. doi:10.1159/000055909.
- Reczek, C. R., Chandel, N. S. (2015).** ROS-dependent signal transduction. *Curr. Opi.Cell Bio*, 33: 8-13. doi:10.1016/j.ceb.2014.09.010.
- Rogakou, P. E., Pilch, D. R., Orr, A. H., Ivanova, V. S., Bonner, W. M. (1998).** DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. *J.Biol.Chem.*, 273(10): 5858-5868.
- Serio, F., Pizzolante, G., Cozzolino, G., D'Alba, M., Bagordo, F., De Giorgi, M., De Donno, A. (2017).** A new formulation based on ozonated sunflower seed oil: in vitro antibacterial and safety evaluation. *Ozone: Scie.Eng.*, 39(3): 139-147.
- Sfikas, A., Batsi, C., Tselikou, E., Vartholomatos, G., Monokrousos, N., Pappas, P., Gorgoulis, V. G. (2012).** The canonical NF- $\kappa$ B pathway differentially protects normal and human tumor cells from ROS-induced DNA damage. *Cell. Sign*, 24(11): 2007-2023. doi:10.1016/j.cellsig.2012.06.010.
- Simon, H.-U., Haj-Yehia, A., Levi-Schaffer, F. (2000).** Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*, 5(5): 415-418.
- Simonetti, V., Quagliariello, V., Giustetto, P., Franzini, M., Laffaioli, R. V. (2017).** Association of ozone with 5-fluorouracil and cisplatin in regulation of human colon cancer cell viability: in vitro anti-inflammatory properties of ozone in colon cancer cells exposed to lipopolysaccharides. *Evid.-Bas. Comple. Alter Med*, 2017:1-6.
- Sonoda, Eiichiro, Hohegger, H., Saberi, A., Taniguchi, Y., Takeda, S. (2006).** Differential usage of non-homologous end-joining and homologous recombination in double strand break repair. *DNA repair*, 5(9-10): 1021-1029. doi:10.1016/j.dnarep.2006.05.022.
- Stadtman, E. R., Berlett, B. S. (1997).** Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Chem. Res. in Toxicol.*, 10(5): 485-494.
- Stiff, T., O'Driscoll, M., Rief, N., Iwabuchi, K., Löbrich, M., Jeggo, P. A. (2004).** ATM and DNA-PK function redundantly to phosphorylate H2AX after exposure to ionizing radiation. *Cancer Res.*, 64(7): 2390-2396. doi:10.1158/0008-5472.CAN-03-3207.
- Stoker, G. (1902).** Ozone in Chronic Middle-ear Deafness. *The Lancet*, 160(4131): 1187-1188.
- Strickland, A. F., Perkins, W. S. (1995).** Decolorization of continuous dyeing wastewater by ozonation. *Text. Chem. Color.*, 27(5): 11-15.
- Sweet, F., Kao, M., Lee, S., Hagar, W., Sweet, W. (1980).** Ozone selectively inhibits growth of human cancer cells. *Scie*, 209(4459): 931-933. doi:10.1126/science.7403859 %J Science.
- Tang, Z. , Liu, Y., Ni, D. l., Zhou, J., Zhang, M., Zhao, P., Bu, W. (2020).** Biodegradable Nanoprodugs:“Delivering” ROS to Cancer Cells for Molecular Dynamic Therapy. *Advanc. Mat.*, 32(4): 1904011. doi:10.1002/adma.201904011.
- Travagli, V., Zanardi, I., Valacchi, G., Bocci, V. (2010).** Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Med. of Inflamm.*, 2010:1-9.
- Trott, K.-R. (1991).** The optimal radiation dose per fraction for the treatment of malignant melanomas. *Inter. J. Rad. Onc. Bio. Phy.*, 20(4): 905-907.
- Van Meir, E. J. N. (1996).** Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Neurosurgery*, 39(4): 878-879.
- Yalçın, Y., Tekin, I., Aydın, R. S. T. (2021).** Influence of Ozonized Oil Nanoemulsions on B-16 Melanoma Cells: An in Vitro Study. *J. Biomat. Nanobiotech.*, (12): 49-56. doi:doi: 10.4236/jbnb.2021.124005.
- Young, S., Marshall, R., Hill, R. (1988).** Hypoxia induces DNA overreplication and enhances metastatic potential of murine tumor cells. *Proce. Natio. Acad. Scie.*, 85(24): 9533-9537. doi:10.1073/pnas.85.24.9533.





## Sıcak Presleme Yöntemi ile Üretilen Cu-Cr Alaşımlarının Sertlik ve Elektriksel İletkenlik Özellikleri Üzerine Mekanik Alaşımlama Süresinin Etkisi

*The Effect of Mechanical Alloying Time on the Hardness and Electrical Conductivity Properties of Cu-Cr Alloys Produced by Hot Pressing Method*

Hamza Çolak , Serhatcan Berk Akçay , Temel Varol\* , Onur Güler , Hüseyin Can Aksa 

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Trabzon, Türkiye

### Öz

Yapılan bu çalışmada ağırlıkça %0,5 krom takviyeli bakır partiküllerin mekanik alaşımlama yöntemi ile farklı alaşımlama süreleri kullanılarak alaşımlandırılması ve üretilen tozların sıcak pres yöntemiyle yoğunlaştırılması çalışmaları yer almaktadır. Mekanik alaşımlama parametreleri olarak 10:1 bilye:toz oranı, 400 dev/dk dönüş hızı seçilmiştir süreler ise değişken olarak 0, 0,5, 1, 2 ve 4 saat olacak şekilde belirlenmiştir. Sıcak presleme parametreleri tüm deneylerde sabit olarak kullanılmıştır ve 500 °C ve 600 MPa olarak belirlenmiştir. Yapılan deneyler neticesinde başlangıçta küresel ve düzensiz morfolojiye sahip tozların 0,5 saat mekanik alaşımlama işlemi sonrasında pulsu benzeri morfolojiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca yapılan deneyler sonucunda en yüksek spesifik yüzey alanı 1 saat mekanik alaşımlama işlemi neticesinde elde edilmiştir ve 0,0667 m<sup>2</sup>/g olarak ölçülmüştür. Bu çalışma kapsamında üretilen kompakt numunelerin en düşük ve en yüksek sertlik değerleri sırasıyla mekanik alaşımlama işlemi uygulanmamış ve 1 saat mekanik alaşımlama işlemine tabii tutulmuş numunelere aittir ve 71,97 HB ve 99,12 HB olarak ölçülmüştür. En yüksek elektriksel iletkenlik değeri de 4 saat mekanik alaşımlama işlemine tabii tutulmuş numuneye aittir ve 91,27% IACS olarak ölçülmüştür. Yapılan bu çalışma ile mekanik alaşımlama işlem parametrelerinden biri olan sürenin parçacıkların morfolojisi ve boyutu ile kompakt malzemenin mikroyapısı ve fiziksel ve mekanik özellikleri üzerine etkileri belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakır, Krom, Mekanik alaşımlama, Sıcak presleme, Toz metalurjisi

### Abstract


This study concentrated on alloying 0.5% chromium reinforced copper particles by weight by mechanical alloying method according to different alloying times and intensifying the produced powders by hot press method. 10:1 ball:powder ratio and 400 rpm rotation speed were selected as mechanical alloying parameters and the times were determined as 0, 0.5, 1, 2 and 4 hours as variable. Hot pressing parameters were used as constant in all experiments and were determined as 500 °C and 600 MPa. As a result of the experiments, it was determined that the powders with initially spherical and irregular morphology had a flake-like morphology after 0.5 hours of mechanical alloying. In addition, as a result of the experiments, the highest specific surface area was obtained after 1 hour of mechanical alloying and was measured as 0.0667 m<sup>2</sup>/g. The lowest and highest hardness values of the compact samples produced within the scope of this study belong to the samples that were not mechanically alloyed and subjected to 1 hour mechanical alloying, respectively, and were measured as 71.97 HB and 99.12 HB. The highest electrical conductivity value belongs to the sample subjected to mechanical alloying process for 4 hours and it was measured as 91.27% IACS. In this study, the effects of time, which is one of the mechanical alloying process parameters, on the morphology and size of the particles, the microstructure and physical and mechanical properties of the compact material were determined.


**Keywords:** Copper, Chromium, Mechanical alloying, Hot-pressing, Powder metallurgy

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: [tvarol@ktu.edu.tr](mailto:tvarol@ktu.edu.tr)

Hamza Çolak  [orcid.org/0000-0002-3032-5370](https://orcid.org/0000-0002-3032-5370)

Serhatcan Berk Akçay  [orcid.org/0000-0002-7492-4287](https://orcid.org/0000-0002-7492-4287)

Temel Varol  [orcid.org/0000-0002-1159-5383](https://orcid.org/0000-0002-1159-5383)

Onur Güler  [orcid.org/0000-0002-9696-3287](https://orcid.org/0000-0002-9696-3287)

Hüseyin Can Aksa  [orcid.org/0000-0001-9086-6526](https://orcid.org/0000-0001-9086-6526)



Bu eser "Creative Commons Atıf-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.



## 1. Giriş

İletken malzemeler elektrik devresini tamamlamaya ya da kesmeye yarayan, termal enerjinin iletimini sağlayan malzemeler olarak kullanılmaktadırlar (Holm 1981). İletken malzemelerin ana amacı, elektriksel ya da termal iletkenliğin kesintisiz bir şekilde sürdürülebilmesini sağlamaktır. Bu amaç doğrultusunda iletken malzemeler, radyo ve veri iletişimi, telekomünikasyon sistemleri, otomotiv sektörü ve uzay ve havacılık gibi birçok sektörde yaygın bir kullanıma sahiptir (Braunovic vd. 2017).

İletken malzemelerin seçimi iletkenliğin sürekliliğinin sağlanması açısından önemli bir husustur. Malzemelerin seçiminde, malzemenin elektriksel ve termal iletkenliği, oksidasyon direnci, mekanik özellikleri ve ekonomikliği göz önüne alınması gereken parametrelerdendir (Chapman 2015). İletken malzemelerde öncelikli olarak, elektriksel ve termal iletkenliğinin yüksek olması beklenmektedir. Gerekli olan bu elektriksel ve termal iletkenlik özelliğinin sağlanması ile iletken malzemeler, devrenin tamamlanmasındaki köprü görevini verimli bir şekilde yerine getirebilecektir (Rooy ve Linden 1990, Güler ve Evin 2009, Slade 2017). İletken malzemeler karşılaştırıldığında en yüksek elektriksel iletkenliğin 106 %IACS (Uluslararası tavlı bakır standardı) değeri ile gümüşte (Ag) olduğu görülmektedir. Ancak gümüş yüksek maliyetli bir metal olduğu için kullanımı sınırlanmaktadır. İkinci en yüksek elektriksel iletkenliğe sahip iletken malzeme ise 100 %IACS ile bakırdır (Cu) (Mesina vd. 2002). Bakırın elektriksel iletkenliğinin iyi olması ve nispeten maliyetinin daha düşük olması nedeniyle iletken malzeme olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Elektriksel iletkenlikte olduğu gibi, gümüşün termal iletkenlik değerinden sonra (419 W/mK) metaller arasında en yüksek termal iletkenlik değerini (394 W/mK) sağlaması bakırın kullanımının önünü açan diğer bir parametredir (Gale ve Totemeier 2003, Varol vd. 2021a).

İletken malzemeler çalışma sırasında sürekli aç-kapa hareketlerine maruz kalmakta ve kullanım sırasında oluşan dirençten dolayı ortaya çıkan yüksek sıcaklık nedeniyle zamanla oksitlenme meydana gelmektedir (Çanakçı vd. 2014). Bu durum elektriksel ve termal iletkenlikte azalmaya, direnç oluşumu ve bunu takiben ısı artışına ve bölgesel kopmalara neden olmaktadır (Chapman 2015). Bu bağlamda, iletken malzeme olarak sıklıkla kullanılan, ancak bazı uygulamalarda yetersiz kalan bakırın da olumlu özelliklerinin yanı sıra oksidasyon direnci ve sertlik gibi geliştirilebilecek özellikleri mevcuttur (Neikov vd. 2019). Bu nedenle, şimdiye kadar birçok araştırmacı bakıra ikinci bir faz elemanı (Sn, Zn, Si,

Cr, Ni, Al, vs.) ilave ederek bakırın mekanik özelliklerini ve oksidasyon direncini iyileştirmeye çalışmıştır (Gao vd. 2003, Zhao vd. 2014, Shkodich vd. 2014, Patra ve Mondal 2014).

Bu alaşım elementleri içerisinde kromun (Cr) varlığı malzemenin mekanik özelliğini iyileştirir ve bakıra belirli oranlarda krom ilavesi ile yüksek sertlik, elektriksel iletkenlik ve termal iletkenliğe sahip Cu-Cr alaşımları elde edilir (Lahiri ve Bhargava 2009). Ancak geleneksel yöntemlerle üretim sürecinde kromun bakır içerisinde oldukça sınırlı ve yavaş çözünmesi, yoğunluk farkından dolayı bakır ile kromun karışma zorluğu ve yüksek sıcaklık nedeniyle çevreyle kimyasal reaksiyon oluşumu gibi olumsuzluklar mevcuttur (Shen vd. 2018, Baksan vd. 2020). Bu nedenle birçok çalışma geleneksel üretim yöntemlerine alternatif olarak aşırı doymuş katı çözelti hazırlamanın mümkün olduğu mekanik alaşımlama (MA) ile üretim yöntemine odaklanmıştır (Lahiri ve Bhargava 2009, Zhao vd. 2014, Fang ve Kang 2015, Neikov vd. 2019).

MA, metal tozunun öğütülmesini, kaynaklanmasını ve bu sürecin tekrarlanmasını içeren katı hal toz üretimi için kullanımı yaygın olan bir tekniktir. Bakır ve krom tozları, bu teknik kullanılarak atomik boyutta birleştirilebilmektedir (Suryanarayana 2001). Üstün performanslı sahip Cu-Cr alaşım tozları, öğütme bilyelerinin boyutu, öğütme süresi ve bilye-toz kütle oranı gibi MA'nın işlem parametrelerinin kontrol edilmesiyle üretilebilir (Lahiri ve Bhargava 2009, Zheng vd. 2009).

MA ile üretilen Cu-Cr alaşım tozlarının şekillendirilmesi için döküm, haddeleme, dövme ve toz metalurjisi ile şekillendirme gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında toz metalurjisi ile şekillendirme üstün özelliklere sahip yenilikçi malzemelerin üretilmesine olanak sağlaması nedeniyle tercih sebebi olmaktadır (Suryanarayana 2001, Varol vd. 2020). Toz metalurjisi ile şekillendirme yöntemleri arasında soğuk presleme, sinterleme ve sıcak presleme gibi yöntemler yer almaktadır. Sıcak presleme ile şekillendirme yöntemi literatür incelendiğinde ek bir sinterleme işlemine gerek duyulmadan istenilen mekanik ve fiziksel özelliklere sahip malzemelerin üretilmesine olanak sağlaması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (Varol vd. 2021b).

Literatür incelendiğinde MA yöntemi ile üretilen Cu-Cr alaşımlarının kimyasal kompozisyonu yüksek krom oranları içermektedir. Zhao ve diğerleri (2014), yapmış oldukları çalışmada ağırlıkça %25 Cr içeren Cu-Cr alaşımlarının 15:1 bilye:toz oranı ile 3 saat süre parametreleri ile MA yöntemiyle

üretimi üzerine çalışmalar yapmıştır. Fang ve Kang (2015) yapmış oldukları çalışmada ağırlıkça %8 Cr içeren Cu-Cr alaşımlarının üretimi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Ghorbani ve diğerleri (2018), yapmış oldukları çalışmada ağırlıkça %1 Cr ve %5 karbon nano tüp (CNT) içeren bakır alaşımı tozları MA yöntemi ile sentezlemişler ve bu tozları 25 °C, 300 °C ve 500 °C sıcaklıklarda ve 40 MPa, 80 MPa ve 120 MPa presleme basıncı altında sıcak presleme yöntemiyle kompakt hale getirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışma sonucunda artan presleme sıcaklığının sertlik değerini %65 oranında arttırdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca bu çalışma kapsamında üretilen ağırlıkça %1 Cr içeriğine sahip alaşımın mikro sertlik değerlerinin artan presleme basıncı ve sıcaklığı ile arttığını ortaya koymuşlardır. Bu bağlamda yapılan bu çalışma ile düşük (%0,5 ağırlıkça) Cr içeriğine sahip Cu-Cr alaşımlarının MA yöntemiyle üretilmesinde MA süresinin etkilerini irdelenmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca yapılan bu çalışmanın amacı, öğütme süresinin MA yöntemi ile üretilmiş olan, ağırlıkça %0,5 Cr içeren Cu-Cr alaşımı tozların sıcak pres yöntemi ile kompakt hale getirilmesi sonrasında düşük Cr takviye oranının ve MA işlemi süresinin üretilen kompakt malzemelerin fiziksel ve mekanik özellikleri üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

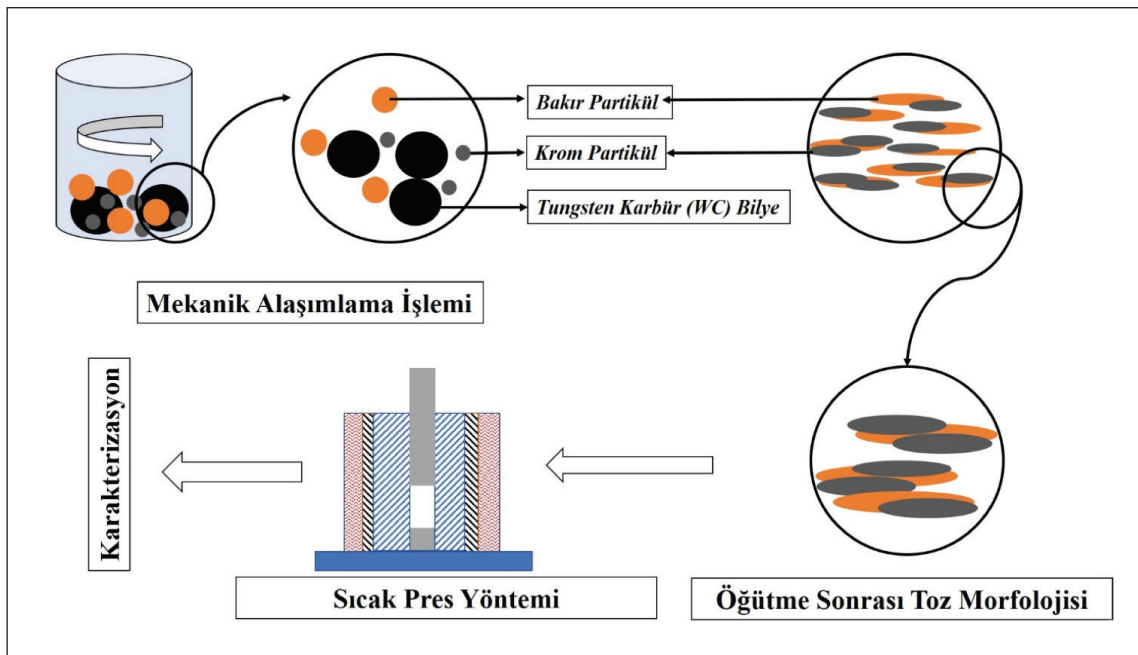
## 2. Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma kapsamında kullanılan ortalama toz boyutu 68,55 µm olan küresel morfolojiye sahip bakır ve ortalama toz boyutu 39,75 µm olan düzensiz morfolojiye sahip

krom tozları (%99,9<safılık değeri) Nanografi, Ankara, Türkiye'den tedarik edilmiştir. Ayrıca, kullanılan kimyasal malzemeler analitik saflığa sahiptir (%99,9<safılık değeri) ve Merck Group, Almanya'dan tedarik edilmiştir. Şekil 1 bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmaların şematik gösterimini içermektedir.

MA işlemi Retsch marka PM200 model bilyeli öğütücü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan tüm deneylerde öğütme hızı 400 devir/dakika, bilye:toz ağırlık oranı 10:1 ve işlem kontrol takviyesi ağırlıkça %2 olarak seçilmiştir. MA işlemi için kullanılan deney parametreleri Çizelge 1'de gösterilmektedir. Çizelge 1 incelendiğinde, bu çalışma kapsamında 0, 0,5, 1, 2, 4 saat olmak üzere beş farklı öğütme süresinin kullanıldığı açıkça görülmektedir.

MA işlemi ile üretilen Cu-Cr alaşımı tozların yoğunlaştırılması ve kompakt hale getirilmesi için sıcak presleme yöntemi ile üretim gerçekleştirilmiştir. Sıcak presleme yöntemi metalik tozların sinterleme sıcaklığında basınç altında belirli bir kalıp içerisinde sıkıştırılması olarak tanımlanabilir. Bu yöntem ile hem üstün fiziksel ve mekanik özellikler elde edilmekte hem de ham presleme sonrasında gerçekleştirilecek sinterleme işlemi için gereken süreden tasarruf edilmektedir. Ayrıca, literatür incelendiğinde sıcak presleme yöntemi ile gerçekleştirilen üretim sonrasında parçacıklar arasında yüksek kenetlenme ve düşük gözeneklilik oranı tespit edildiği anlaşılmaktadır (Schubert vd. 2008, Çanakçı ve Varol 2014). Yapılan tüm sıcak presleme işlemine ait deney para-



Şekil 1. Bu çalışma kapsamında yapılan deneysel çalışmaların şematik gösterimi.

**Çizelge 1.** MA işlem parametreleri.

Deney Kodu	Cu (%ağırlıkça)	Cr (%ağırlıkça)	Öğütme Hızı (devir/dakika)	Öğütme Süresi (saat)	İşlem Kontrol Parametresi (% ağırlıkça)
Cu0,5Cr0s	99,50	0,5	400	0	2
Cu0,5Cr0,5s	99,50	0,5	400	0,5	2
Cu0,5Cr1s	99,50	0,5	400	1	2
Cu0,5Cr2s	99,50	0,5	400	2	2
Cu0,5Cr4s	99,50	0,5	400	4	2

metreleri Çizelge 2’de gösterilmektedir. Çizelge 2 incelendiğinde, tüm deneylerde kullanılan sıcaklık, presleme basıncı ve presleme süresi parametreleri görülmektedir. Literatür incelendiğinde bakır ve bakır esaslı malzemelerin sıcak pres yöntemiyle üretiminde 500 °C presleme sıcaklığı ve 600 MPa presleme basıncı ile elde edilen sonuçların üstün olduğu görülmektedir (Varol vd. 2021b). Bu nedenle yapılan bu çalışmada sıcak presleme parametreleri 500 °C ve 600 MPa olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 2.** Sıcak presleme işlem parametreleri.

Deney Kodu	Sıcaklık (°C)	Basınc (MPa)	Süre (saat)
Cu0,5Cr0s	500	600	2
Cu0,5Cr0,5s	500	600	2
Cu0,5Cr1s	500	600	2
Cu0,5Cr2s	500	600	2
Cu0,5Cr4s	500	600	2

Bu çalışma kapsamında üretimi yapılan Cu-Cr alaşımı tozların ve kompakt malzemelerin malzeme karakterizasyonu deneyleri; partikül boyutu tayini deneylerinin gerçekleştirilmesi için MasterSizer 2000 model partikül boyut ölçüm cihazı, morfoloji ve mikroyapı incelemeleri için Zeiss Evo LS10 model taramalı elektron mikroskobu (SEM), elementel analizlerin gerçekleştirilmesi için elementel haritalama deneylerinde AZtecOne system EDS elementel analiz cihazı, sertlik ölçümlerinin yapılabilmesi için NEMESIS 9000 model Brinell sertlik ölçüm cihazı ve elektriksel iletkenlik ölçümlerinin gerçekleştirilmesi için Fischer marka SIGMASCOPE® SMP10 model masaüstü taşınabilir problu elektriksel iletkenlik ölçer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sertlik ve elektriksel iletkenlik ölçümü deneylerinin sonuçları, her bir numune için üç farklı noktadan üçer kez gerçekleştirilmiş olup elde edilen değerlerin aritmetik ortalamalarının alınması ile belirlenmiştir.

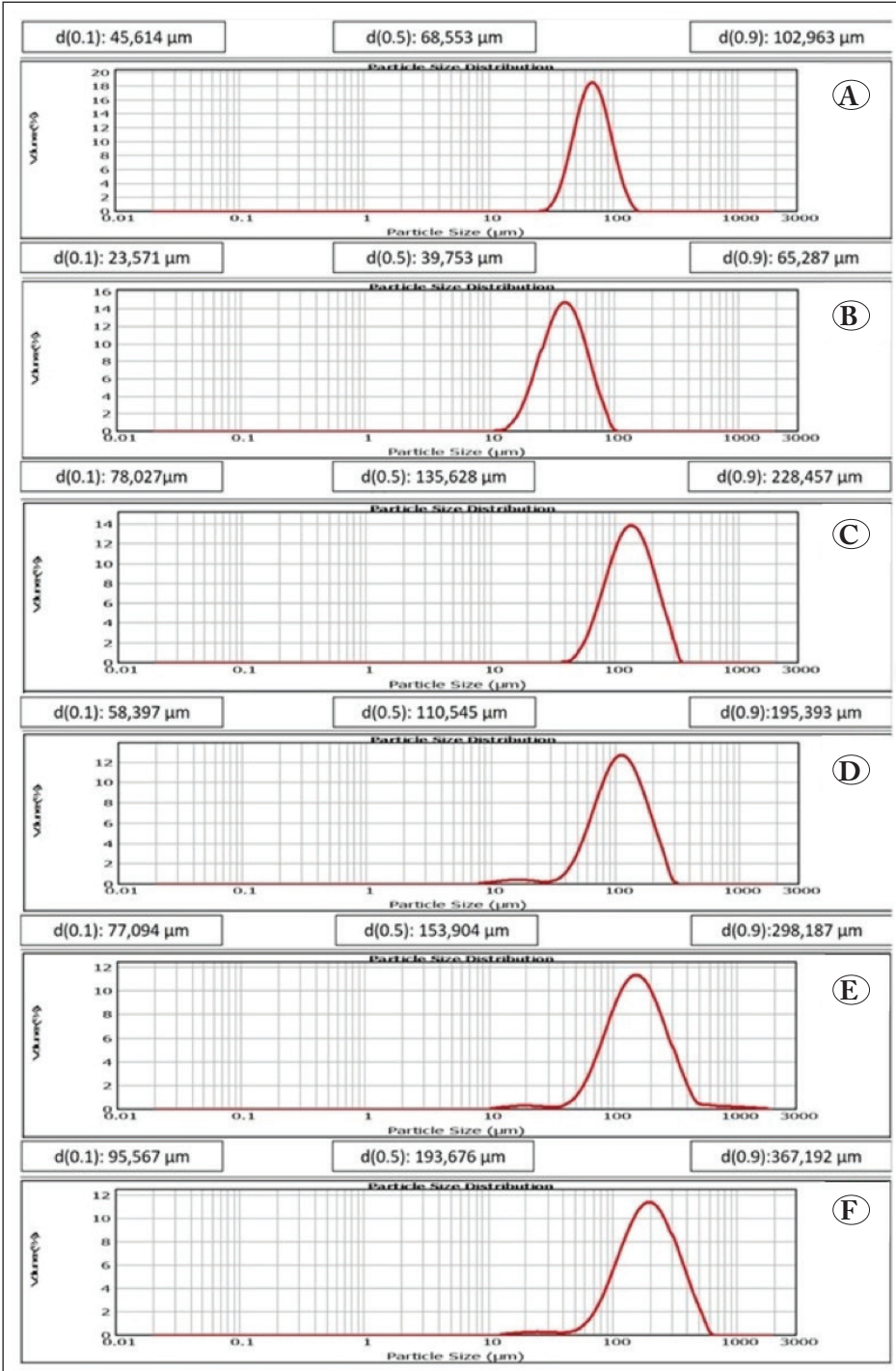
### 3. Bulgular ve Tartışma

Partikül boyut ölçüm deneyleri MA işlemi uygulanmamış bakır ve krom, ağırlıkça %0,5 Cr takviyeli olarak 0, 0,5, 1, 2 ve 4 saat MA işlemi ile üretilen Cu-Cr alaşım tozları için gerçekleştirilmiştir. Partikül boyutu ölçüm deneyleri MasterSizer 2000 model partikül boyut tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve deney sonuçları Şekil 2’de gösterilmiştir. Şekil 2 incelendiğinde, bakır tozunun (Şekil 2A) başlangıçta 68,55 µm ve krom tozunun (Şekil 2B) başlangıçta 39,753 µm olduğu görülmektedir. Farklı öğütme süreleri için %0,5 Cr takviyeli Cu-Cr alaşımı tozların toz boyutu ölçümleri 0,5, 1, 2 ve 4 saat için sırasıyla Şekil 2C-F arasında gösterilmiştir. Bakırın sünek bir malzeme olması nedeniyle gevrek bilyeler ile öğütülmesi işlemi sırasında süre bağlı olarak yassılaşıma, kırılma ve tekrar yassılaşıma olayları gerçekleşmektedir (Zuo vd. 2009, Guerrero 2014, Wang vd. 2019). Bu bağlamda ilk olarak Şekil 2C ile gösterilmekte olan, 0,5 saat süren öğütme işlemi sonrasında gerçekleştirilen partikül boyut ölçümü sonucunun bakır ve krom tozlarının başlangıçtaki partikül boyutlarının çok daha üzerinde bir partikül boyutuna sahip olduğu (135,628 µm) açıkça görülmektedir. Mekanik öğütme işlem süresinin artmasıyla birlikte 1 saatlik öğütme işlemi neticesinde (Şekil 2D) 0,5 saatlik öğütme sonrasında elde edilen partikül boyutundan daha küçük ortalama partikül boyutu (110,545 µm) ölçümü mevcuttur. Bu durum yassılaşıma partiküllerin kırılıp tekrar yassılaşmaya başlaması ile açıklanabilir. Öğütme süresinin 2 ve 4 saat olarak seçildiği deneyler sonucunda yapılan ölçümler gittikçe artan bir partikül boyutu olduğunu göstermektedir (Şekil 2E, F). Şekil 3, MA işlemi sonrasında farklı süreler ile üretilen Cu-Cr tozların spesifik yüzey alanlarının karşılaştırılmasını göstermektedir. Şekil 3 incelendiğinde başlangıçtaki spesifik yüzey alanının 1 saatlik MA işlemine kadar artış gösterdiği ve sonrasında düşmeye başladığı görülmektedir. Spesifik yüzey alanı ölçümleri 0, 0,5, 1, 2 ve 4 saat MA alaşımlama işlemi sonrasında sırasıyla 0,023, 0,0485,



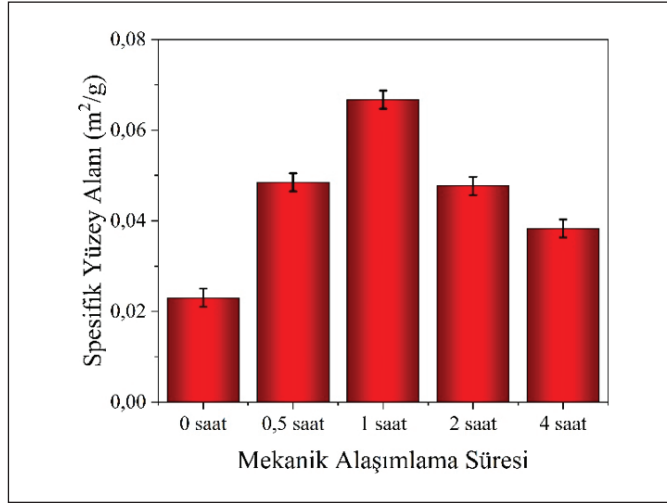
0,0667, 0,0477, 0,0383 m<sup>2</sup>/g olarak ölçülmüştür. Bu durum yüksek bilye:toz oranı ve yüksek MA süresinin sünek bakır parçacıkların soğuk kaynaklanması sonrasında partikül boyutlarının artması ve spesifik yüzey alanlarının da buna bağlı olarak azalması şeklinde açıklanabilir. Ayrıca literatürde yapılan benzer bir çalışmanın sonucunda da benzer bulgular ile karşılaşılmıştır (Güler vd. 2019).

%0,5 Krom takviyeli bakır tozların farklı sürelerde MA işlemi sonrasında elde edilen morfoloji görüntüleri ve elementel spektrum deney sonuçları Şekil 4-8'de görülmektedir. Şekil 4 incelendiğinde, başlangıç morfolojisi küresel olan bakır tozlar ve düzensiz olan krom tozlar görülmektedir. Şekil 4C elde edilen toz karışımının yapısında yalnızca Cu ve Cr elementlerinin gözlemlendiğini kanıtlamaktadır. Şekil 5 incelen-



Şekil 2. Partikül boyut ölçümü deneyleri; bakır (A) ve krom (B) partiküller, Cu%0,5Cr takviyeli farklı öğütme sürelerinde mekanik alaşımlanmış Cu-Cr alaşım tozları; 0,5 saat (C), 1 saat (D), 2 saat (E) ve 4 saat (F).

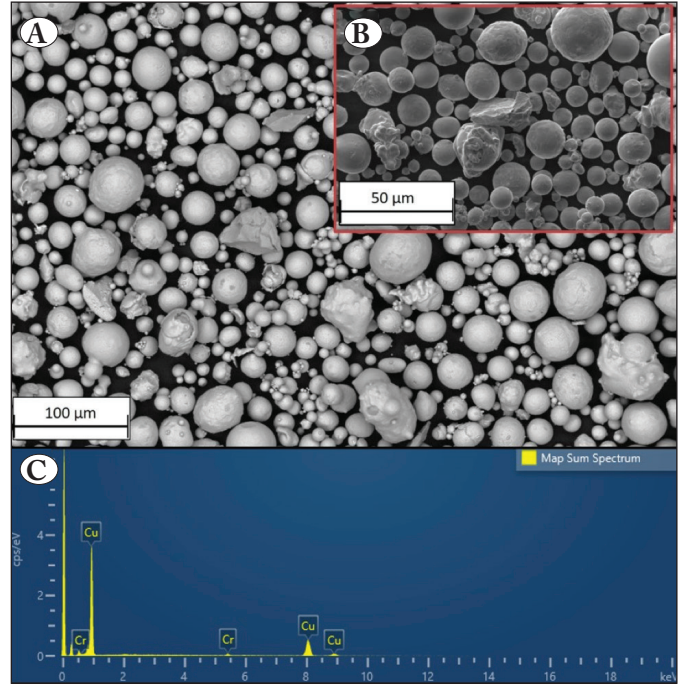




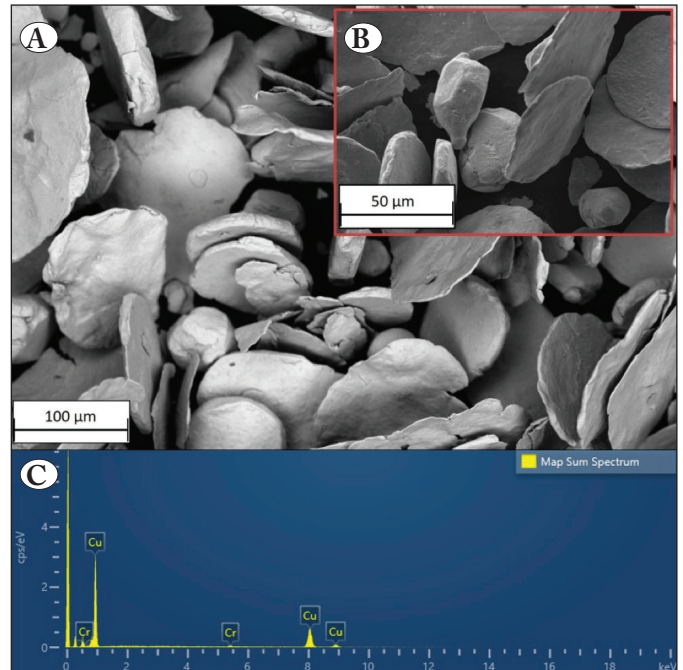
**Şekil 3.** Mekanik alaşımlama yöntemi ile üretilen Cu-Cr tozların spesifik yüzey alanlarının kıyaslanması.

diğinde 0,5 saat MA işlemi sonrasında toz morfolojisinin pulsu benzeri morfoloji olarak değiştiği ve yapıda yalnızca Cu ve Cr elementlerinin varlığı (Şekil 5C) açık bir şekilde görülmektedir. Bu durum bakırın sünek bir malzeme olması nedeniyle sert bilyeler ve bakırdan daha sert krom tozları ile çarpışması ile yassılaştırılması şeklinde açıklanabilir. Bu durum Şekil 6-8'de görüldüğü üzere artan mekanik alaşımlama süresi ile birlikte benzer olarak devam etmektedir. Böylece bu çalışmada irdelenen ve MA işlem parametrelerinden biri olan sürenin üretilen tozların morfolojisi üzerindeki etkisi net bir şekilde ortaya konulmuştur. Şekil 4-8 incelendiğinde bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen tüm deneylerin elementel spektrum analizleri sonucunda yapıda yalnızca Cu ve Cr varlığı tespit edilmiştir. Spektrum deney sonuçlarının tümünde Cu elementine ait pik şiddetlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum bu çalışma kapsamında üretilen Cu-Cr alaşımlarının kimyasal kompozisyonu dikkate alındığında (ağırlıkça %99,5 Cu ve %0,5 Cr) Cu elementine göre oldukça düşük bileşime sahip Cr içeriğinden kaynaklanmaktadır.

MA yöntemi ile farklı alaşımlama sürelerinde üretilen tozlar 500 °C sıcaklık ve 600 MPa presleme basıncı altında sıcak presleme işlemi ile yoğunlaştırılmışlardır. Yoğunlaştırma işlemi sonrasında elde edilen kompakt numunelere ait mikroyapı incelemeleri Şekil 9 -13 arasında gösterilmektedir. Şekil 9 incelendiğinde 0 saat MA sonrasında elde edilen Cu-Cr tozlar kullanılarak üretilmiş olan kompakt numunenin mikroyapısı görülmektedir. Artan MA süresi ile birlikte mikroyapı incelemelerinde tane sınırlarının düzensiz olarak dağılım gösterdiği görülmektedir. Bu durum pulsu benzeri morfoloji ile açıklanabilir.

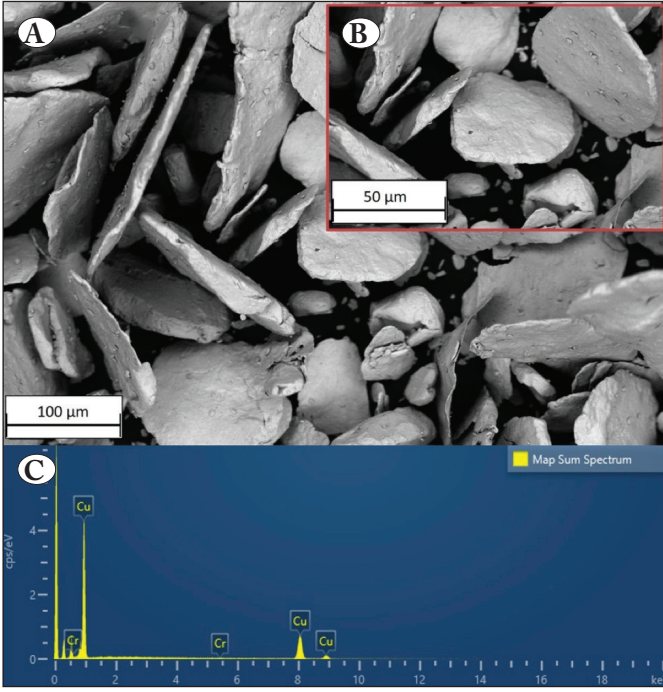


**Şekil 4.** Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>0s</sub> kodlu numuneye ait tozların SEM kullanılarak yapılan morfoloji incelemeleri; 500X (A), 1000X (B) ve elementel spektrum deney grafiği (C).

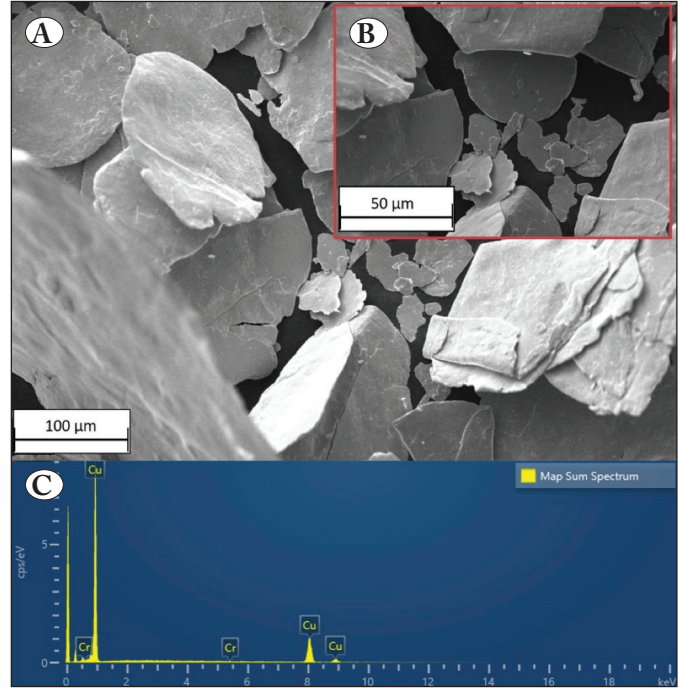


**Şekil 5.** Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>0,5s</sub> kodlu numuneye ait tozların SEM kullanılarak yapılan morfoloji incelemeleri; 500X (A), 1000X (B) ve elementel spektrum deney grafiği (C).

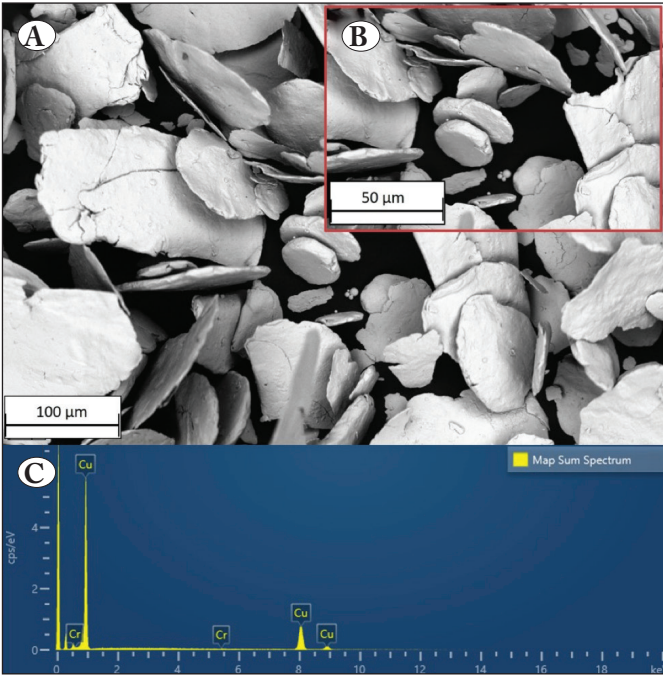




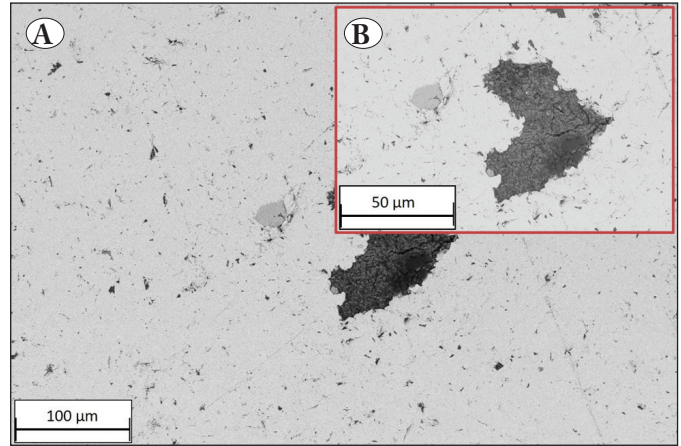
Şekil 6. Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>1s</sub> kodlu numuneye ait tozların SEM kullanılarak yapılan morfoloji incelemeleri; 500X (A), 1000X (B) ve elemental spektrum deney grafiği (C).



Şekil 8. Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>4s</sub> kodlu numuneye ait tozların SEM kullanılarak yapılan morfoloji incelemeleri; 500X (A), 1000X (B) ve elemental spektrum deney grafiği (C).

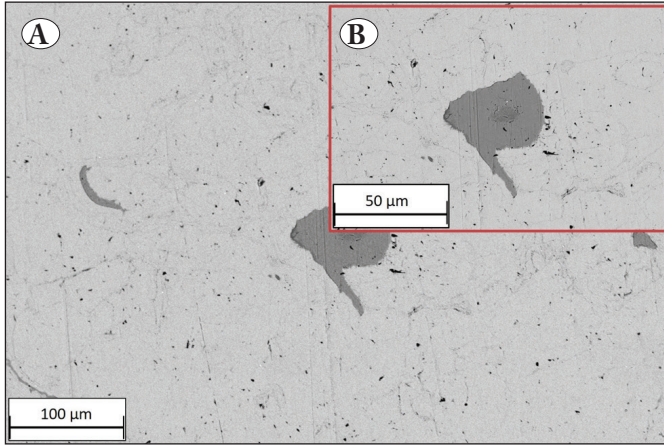


Şekil 7. Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>2s</sub> kodlu numuneye ait tozların SEM kullanılarak yapılan morfoloji incelemeleri; 500X (A), 1000X (B) ve elemental spektrum deney grafiği (C).

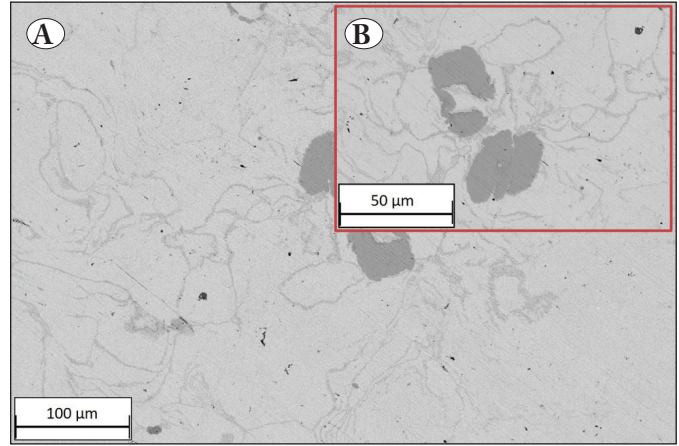


Şekil 9. Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>0s</sub> kodlu numuneye ait kompakt numunenin SEM kullanılarak yapılan mikroyapı incelemeleri; 500X (A) ve 1000X (B).

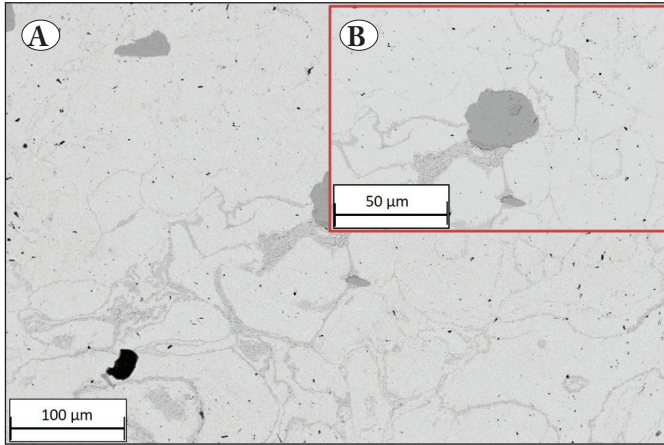




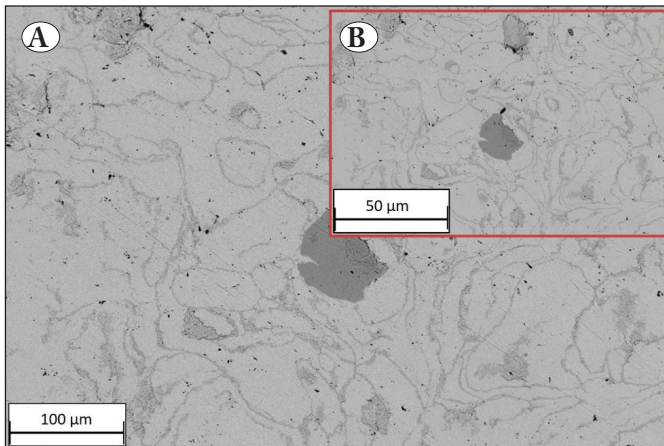
**Şekil 10.** Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>0,5s</sub> kodlu numuneye ait kompakt numunenin SEM kullanılarak yapılan mikroyapı incelemeleri; 500X (A) ve 1000X (B).



**Şekil 13.** Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>4s</sub> kodlu numuneye ait kompakt numunenin SEM kullanılarak yapılan mikroyapı incelemeleri; 500X (A) ve 1000X (B).



**Şekil 11.** Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>1s</sub> kodlu numuneye ait kompakt numunenin SEM kullanılarak yapılan mikroyapı incelemeleri; 500X (A) ve 1000X (B).

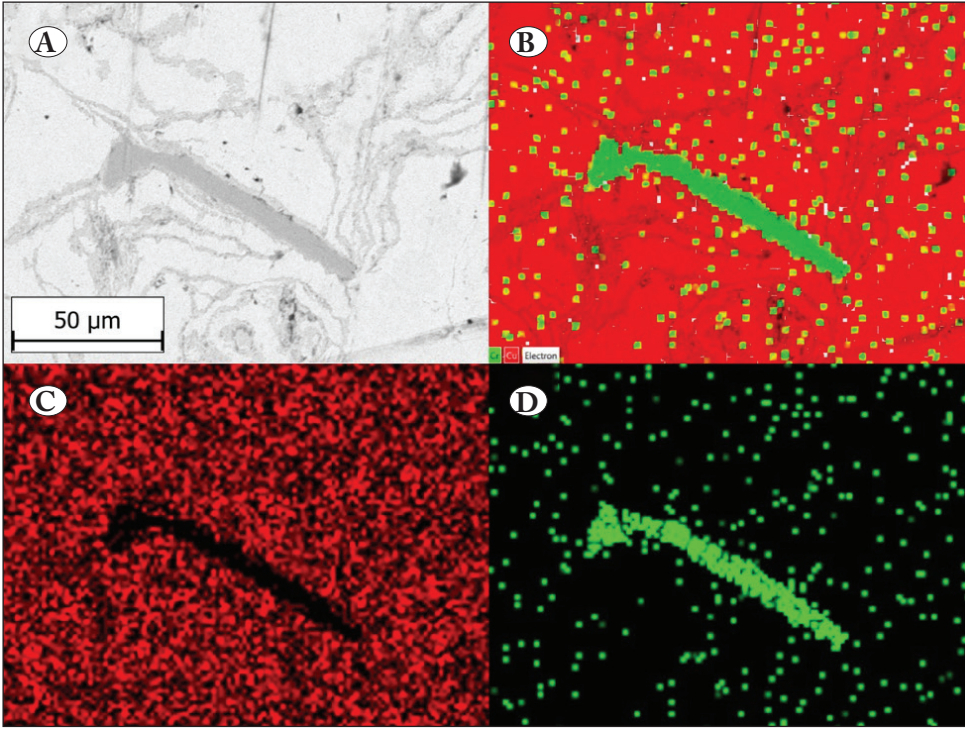


**Şekil 12.** Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>2s</sub> kodlu numuneye ait kompakt numunenin SEM kullanılarak yapılan mikroyapı incelemeleri; 500X (A) ve 1000X (B).

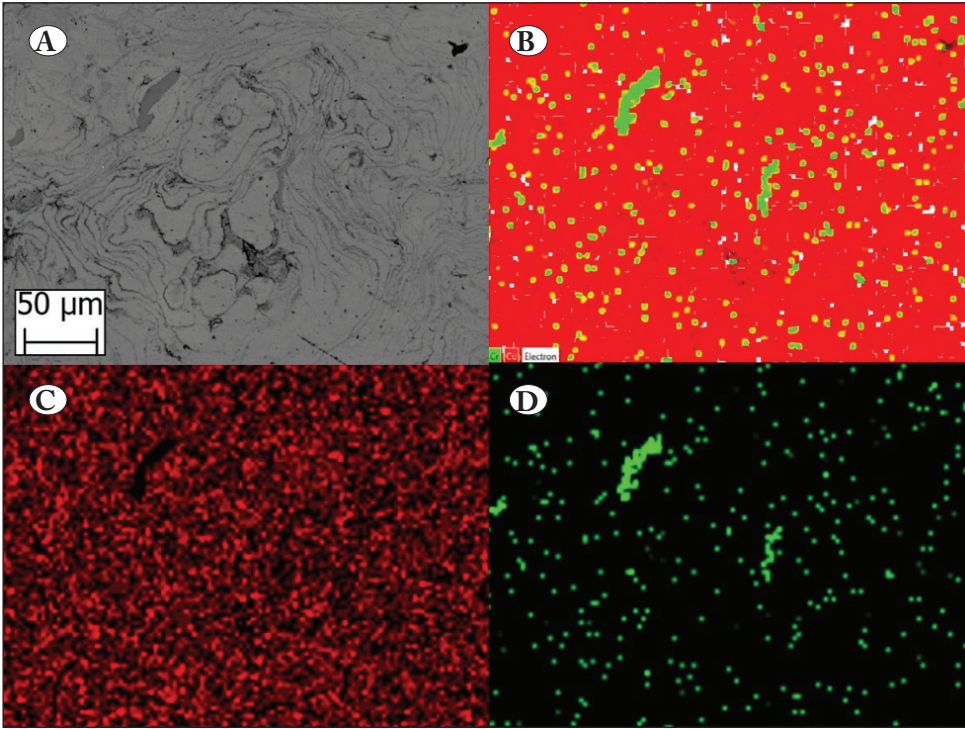
MA yöntemi ile 1 saat ve 4 saat alaşımlama süreleri ile üretilmiş olan kompakt numunelere ait mikroyapı ve elementel haritalama görüntüleri sırasıyla Şekil 14 ve Şekil 15'de gösterilmektedir. Elementel haritalama görüntüleri incelendiğinde sıcak presleme işlemi sonrasında yapıda yalnızca Cu ve Cr elementlerinin bulunduğu açık bir şekilde anlaşılmaktadır.

Üretimi yapılan kompakt numunelere ait sertlik ve elektriksel iletkenlik deneylerinin sonuçları sırasıyla Şekil 16 ve Şekil 17'de gösterilmektedir. Literatür incelendiğinde ağırlıkça %0,7 Cr oranına sahip Cu-Cr alaşımlarının yaşlandırma ve eş kanallı açılal ekstrüzyon (EKAP) işlemine tabii tutulması sonrasında elde edilen mikro sertlik değerlerinin yaşlandırma için 450 °C, EKAP için 500 °C üretim sıcaklığında en üstün değerleri gösterdiği, yaşlandırma işlemi için yaklaşık 1,7 GPa ( $\cong$  173,3 HV) ve EKAP için yaklaşık 1,5 GPa ( $\cong$  153 HV), anlaşılmaktadır (Bochvar vd. 2019). Literatürde yer alan başka bir çalışmada ağırlıkça %0,4 Cr ve %0,3 Zr içeren bakır alaşımlarının vakum indüksiyon yöntemi ile üretilmesi sonrasında elde edilen sertlik değeri yaklaşık olarak 115 HV ( $\cong$  110HB) olarak ölçülmüştür (Meng vd. 2019). Shen ve diğerleri (2018) yapmış oldukları çalışmada, ağırlıkça %0,57 Cr içeren bakır alaşımının %20 oranında soğuk şekillendirme sonrasında yaklaşık olarak 140 HV ( $\cong$  133 HB) sertlik değerine sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Görüldüğü gibi 1 saat öğütme süresine kadar elde edilen numunelerin sertlik değerlerinde yaklaşık %50'lik artış gözlenirken, öğütmenin ilerleyen saatlerinde (4 saate kadar) düşüş eğiliminin meydana geldiği belirlenmiştir. İlerleyen öğütme saatlerinde sünek yapılı bakır tozları içerisinde sert krom parçacıkların batarak bakır tarafından çevrenmesi,





Şekil 14. Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>1s</sub> kodlu numuneye ait kompakt elementel analiz deney sonuçları; SEM görüntüsü (A), Cu ve Cr elementel haritalama (B), Cu elementel haritalama (C) ve Cr elementel haritalama (D).

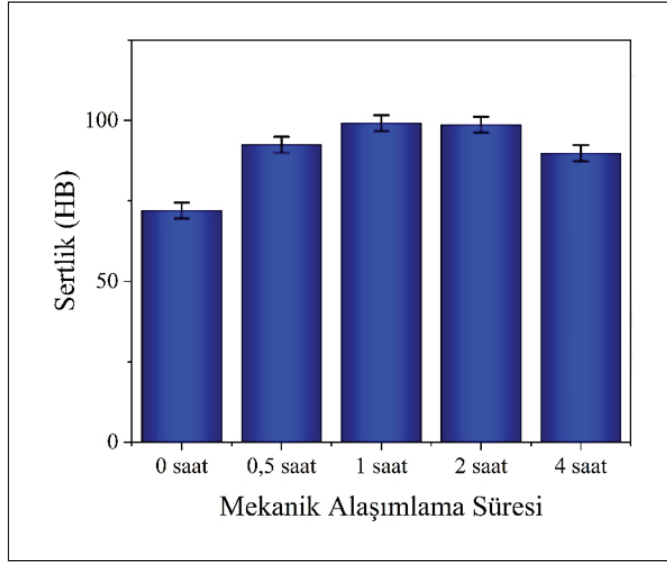


Şekil 15. Cu<sub>0,5</sub>Cr<sub>4s</sub> kodlu numuneye ait kompakt elementel analiz deney sonuçları; SEM görüntüsü (A), Cu ve Cr elementel haritalama (B), Cu elementel haritalama (C) ve Cr elementel haritalama (D).

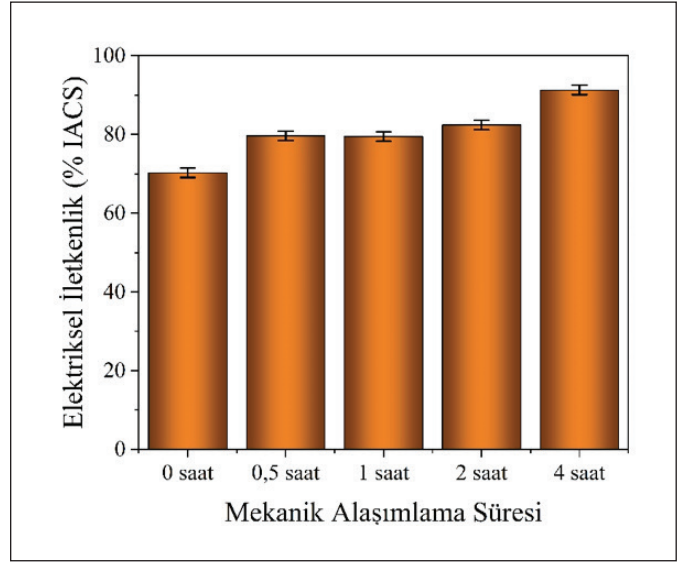
mikroyapı içerisinde homojen olmayan bir dağılıma sebebiyet verebilmektedir. Öğütmenin ilerleyen saatlerinde bakır içeriğini gösteren EDS piklerindeki şiddet bu durumu destekler niteliktedir (Şekil 4-8). Mekanik öğütmenin 1 saate kadar uygulandığı durumda sert krom parçacıklarının ve öğütme sırasında soğuk kaynaklanma-kırılma mekaniz-

malarının etkisi ile kesme etkisi sayesinde homojen bir yapı eldesi sertlik değerlerinde önemli ölçüde artış sağlamıştır. Ayrıca MA ile birlikte tozlar üzerinde mikro çıkıntılar meydana gelmekte ve bu mikro çıkıntılar yüzey alanını arttırmaktadır. Bahsi geçen bu mikro çıkıntılar sıcak presleme sırasında uygulanan basınç ile birlikte birbirlerine kenetlen-





Şekil 16. Sıcak presleme yöntemiyle kompakt hale getirilmiş deney numunelerine ait sertlik deneyi sonuçları.



Şekil 17. Sıcak presleme yöntemiyle kompakt hale getirilmiş deney numunelerine ait elektriksel iletkenlik deneyi sonuçları.

mektedir ve böylece bu durum gözenekliliğin azalması ile sonuçlanmaktadır. Benzer şekilde sert parçacıkların öğütme sırasında gerçekleştirdiği kesme etkisi literatürde belirtilmiştir (Güler vd. 2019, Güler vd. 2021).

Şekil 15'ten anlaşıldığı gibi, öğütme süresinin 4 saat olmasına kadar malzemelerin elektriksel iletkenlik değerlerinde sürekli bir artış görülmüştür. Mekanik öğütme uygulanmayan numunelerde belirlenen elektriksel iletkenlik değeri yaklaşık 70 %IACS olarak belirlenirken, 4 saat öğütme sonucu elde edilen numunelerde bu değer yaklaşık 90 %IACS olarak tespit edilmiştir. Öğütme süresinin artması ile, daha önceki kısımlarda belirtildiği gibi parçacıkların ince ve daha pulsu hale gelmesi toz boyutunun giderek artmasına neden olmaktadır. Sıcak presleme sonucu elde edilen nihai ürünlerin mikroyapısında daha yüksek boyutlu ve pulsu parçacıkların yüksek enerjili tane sınırı sayısında azalmaya neden olması, diğer bir deyişle tanelerin daha büyük hale gelmesi, iletkenliği sağlayan elektronların daha rahat hareket etmesine neden olduğundan, elektriksel iletkenlik değerlerinde artış gözlenmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda başlangıçta ortalama partikül boyutu sırasıyla 68,55  $\mu\text{m}$  ve 39,75  $\mu\text{m}$  olarak ölçülen bakır ve krom tozlarının, %0,5 krom takviyeli olarak hazırlanması ve 0,5 saat MA işlemi sonrasında ortalama partikül boyutu 135,628  $\mu\text{m}$  olarak ölçülmüştür. En yüksek MA süresi olarak belirlenen 4 saat sonrasında ise bu tozların ortalama partikül boyutu 193.676  $\mu\text{m}$  olarak ölçülmüştür. Yapılan MA işlemleri sonrasında Cu-Cr partiküllere ait

spesifik yüzey alanı değerleri 1 saatlik MA süresine kadar artmakta ve sonrasında azalmıştır. MA uygulanmadan elde edilen numunelerin spesifik yüzey alanı 0,023  $\text{m}^2/\text{g}$ , 1 saat MA işlemi sonrasında 0,0667  $\text{m}^2/\text{g}$  ve 4 saat MA işlemi sonrasında 0,0383  $\text{m}^2/\text{g}$  olarak belirlenmiştir. Sıcak presleme işlemi sonrasında elde edilen numunelere ait sertlik değerleri artan öğütme süresine bağlı olarak artış eğiliminde olmakla birlikte en yüksek spesifik yüzey alanı değerine sahip 1 saatlik MA işlemi ile üretilmiş Cu%0,5Cr1s kodlu numunenin sertlik değeri 99,12 HB olmuştur. 2 ve 4 saatlik MA sonrasında üretilen numunelerde ise sırasıyla 98,65 ve 89,8 HB olacak şekilde azalış eğilimindedir. Bu durum spesifik yüzey alanının azalması ile açıklanabilir. En düşük elektriksel iletkenlik değeri Cu%0,5Cr0s kodlu numuneye ait olmakla birlikte bu değer 70,27 %IACS olarak ölçülmüştür. En yüksek elektriksel iletkenlik değeri (91,27 %IACS) ise Cu%0,5Cr4s kodlu numuneye aittir. Yapılan bu çalışma neticesinde parçacık boyutu ve spesifik yüzey alanının MA yönteminin işlem parametrelerinden biri olan süre ile doğrudan etkilendiği ve buna bağlı olarak fiziksel ve mekanik özelliklere de etki ettiği anlaşılmaktadır. Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara dayanarak MA parametrelerinin sıcak presleme ile üretilen Cu-Cr alaşımlarının fiziksel ve mekanik özelliklerine doğrudan etki ettiği açıkça görülmüştür. Bu yüzden, bilye:toz oranı, devir sayısı, işlem kontrol katkısı gibi MA parametrelerinin değiştirilerek yeni tür Cu-Cr alaşımlarının geliştirilmesi sağlanabilir. Ayrıca, basınç, sıcaklık gibi sıcak presleme parametrelerinin etkisi

de detaylıca araştırılabilir. Elde edilen alaşımların aşınma özellikleri de araştırılarak kromun alaşımların aşınma mekanizmaları üzerine etkisi belirlenebilir.

#### 4. Teşekkür

Bu çalışmanın yazarlarından Hamza ÇOLAK, Yükseköğretim Kurulu tarafından desteklenen 100/2000 YÖK programında doktora bursiyeri olarak desteklenmektedir. Yazarlar, desteklerinden dolayı Yükseköğretim Kurulu 100/2000 YÖK programına teşekkür eder.

#### 5. Kaynaklar

- Baksan, B., Celikyurek, I., Torun, O. 2020.** Secondary Aging Effects in Copper-Chromium Alloy. The Eurasia Proceedings of Science, Technology, Engineering & Mathematics (EPSTEM), 2020, *The Eurasia Proceedings of Science Technology Engineering and Mathematics*, 11:154-158, Antalya. Erişim: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/epstem/issue/58065/838204>
- Bochvar N.R., Rybalchenko O.V., Shangina D.V., Dobatkin S.V. 2019.** Effect of equal-channel angular pressing on the precipitation kinetics in Cu-Cr-Hf alloys. *Mater. Sci. Eng. A*, 757:84-87. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2019.04.073>.
- Braunovic, M., Konchits, V.V., & Myshkin, N.K. 2007.** Electrical Contacts: Fundamentals, Applications and Technology. 1. Baskı, CRC Press, Boca Raton, 672 pp. <https://doi.org/10.1201/9780849391088>.
- Canakci, A., Varol, T. 2014.** Microstructure and properties of AA7075/Al-SiC composites fabricated using powder metallurgy and hot pressing. *Powder Technol.*, 268:72-79. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.08.016>.
- Chapman, D. 2015.** Copper in Electrical Contacts, Copper Development Association Publication No:223, 4-20. Erişim: <http://copperalliance.org.uk/uploads/2018/02/tn-23-copper-in-electrical-contacts-pdf.pdf>
- Çanakçı, A., Çuvalcı, H., Varol, T., Erdemir, F., Özkaya, S., Yalçın E.D. 2014.** Microstructure and Abrasive Wear Behavior of CuSn10-Graphite Composites Produced by Powder Metallurgy. *Powder Metall. Met. Ceram.* 53:275-287. <https://doi.org/10.1007/s11106-014-9614-2>.
- Fang, Q. ve Kang, Z. 2015.** An investigation on morphology and structure of Cu-Cr alloy powders prepared by mechanical milling and alloying. *Powder Technol.*, 270:104-111. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.10.010>
- Gale, W.F. ve Totemeier, T.C. 2003.** Smithells metals reference book. 8. Edition, Elsevier, 2080 pp.
- Gao, N., Huttunen-Saarivirta, E., Tiainen, T. ve Hemmilä, M. 2003.** Influence of prior deformation on the age hardening of a phosphorus-containing Cu-0.61wt.%Cr alloy, *Mater. Sci. Eng. A*, 342,1:270-278. [https://doi.org/10.1016/S0921-5093\(02\)00306-4](https://doi.org/10.1016/S0921-5093(02)00306-4)
- Ghorbani A., Sheibani S., Ataie A. 2018.** Microstructure and mechanical properties of consolidated Cu-Cr-CNT nanocomposite prepared via powder metallurgy. *J. Alloys Compd.*, 732:818-827. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.10.282>.
- Guerrero-Paz, J. 2014.** Ductile Powders Mechanically Alloyed in an Effective Way. *Adv Mat Res.*, 976:119-123. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.976.119>
- Güler, Ö. ve Evin, E. 2009.** The investigation of contact performance of oxide reinforced copper composite via mechanical alloying. *J. Mater. Process. Technol.*, 209,3, 1286-1290. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2008.03.034>
- Güler, O., Varol, T., Alver, Ü., Çanakçı, A. 2019.** The effect of flake-like morphology on the coating properties of silver coated copper particles fabricated by electroless plating. *J. Alloy Compd.*, 782:679-688. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.12.229>.
- Güler, O., Varol, T., Alver, Ü., Kaya, G., Yıldız, F. 2021.** Microstructure and wear characterization of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> reinforced silver coated copper matrix composites by electroless plating and hot pressing methods. *Mater. Today Commun.*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102205>.
- Holm, R. 1981.** Electric contacts: theory and application. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-06688-1>
- Lahiri, I. ve Bhargava, S. 2009.** Compaction and sintering response of mechanically alloyed Cu-Cr powder, *Powder Technol.*, 189,3:433-438. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2008.07.003>
- Meng A., Nie J., Wei K., Kang H., Liu Z., Zhao Y. 2019.** Optimization of strength, ductility and electrical conductivity of a Cu-Cr-Zr alloy by cold rolling and aging treatment. *Vacuum*, 167:329-335. <https://doi.org/10.1016/j.vacuum.2019.06.027>.
- Mesina, M., de Jong, T., Kattentidt, H. ve Dalmijn, W. 2002.** Non-ferrous metals characterisation and identification using an electromagnetic sensor, Proc. R'02 congress; recovery recycling re-integration, Geneva, Switzerland, pp. 335-340.
- Neikov, O.D., Naboychenko, S.S. ve Murashova, I.B. 2019.** Handbook of Non-Ferrous Metal Powders (Second Edition), Chapter 19 - Production of Copper and Copper Alloy Powders, O.D. Neikov, S.S. Naboychenko, and N.A. Yefimov editors, Elsevier, Oxford, pp. 571-614. <https://doi.org/10.1016/B978-1-85617-422-0.00016-1>
- Patra, S. ve Mondal, K. 2014.** Densification behavior of mechanically milled Cu-8 at% Cr alloy and its mechanical and electrical properties. *Prog. Nat. Sci.*, 24,6:608-622. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2014.10.006>
- Rooy, E. ve Linden. 1990.** Properties and Selection: Nonferrous Alloys and Special-Purpose Materials. In: ASM Metals Handbook. Ohio, pp. 2372-2373.

- Schubert Th., Trindade B., Weißgärber T., Kieback B. 2008.** Interfacial design of Cu-based composites prepared by powder metallurgy for heat sink applications. *Mater. Sci. Eng. A*, Volume 475(1-2):39-44. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2006.12.146>.
- Shen, D., Zhu, Y.J., Yang, X. ve Tong, W.P. 2018.** Investigation on the microstructure and properties of Cu-Cr alloy prepared by in-situ synthesis method. *Vacuum*, 149:207-213. <https://doi.org/10.1016/j.vacuum.2017.12.035>
- Shkodich, N., Rogachev, A., Vadchenko, S., Moskovskikh, D., Sachkova, N., Rouvimov, S., Mukasyan. 2014.** Bulk Cu-Cr nanocomposites by high-energy ball milling and spark plasma sintering. *J. Alloy. Compd.*, 617:39-46. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.07.133>
- Slade, P.G. 2017.** Electrical contacts: principles and applications, CRC press, pp. 794-835.
- Suryanarayana, C. 2001.** Mechanical alloying and milling. *Prog. Mater. Sci.*, 46,1-2:1-184. [https://doi.org/10.1016/S0079-6425\(99\)00010-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6425(99)00010-9)
- Varol, T., Aksa, H. C. ve Güler, O. 2020.** Katmanlı Parçacıklar Kullanılarak Üretilen Bakır Esaslı Malzemelerin Karakterizasyonu . *K.F.B.D.* , 10 (2):346-359. <https://doi.org/10.31466/kfbd.777263>
- Varol, T.(a), Akçay, S. , Güler, O. 2021.** Akımsız kaplama yöntemi ile Cu-Ag bimetal parçacıkların üretimi ve karakterizasyonu. *GUFBED*, 11:586-596. <https://doi.org/10.17714/gumusfenbil.770725>
- Varol, T.(b), Güler, O., Akçay, S.B. ve Aksa, H.C. 2021.** The effect of silver coated copper particle content on the properties of novel Cu-Ag alloys prepared by hot pressing method. *Powder Technol.*, 384:236-246. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.02.020>
- Wang, J., Wu, S., Suo, X.-K., and Liao, H. 2019.** Chapter 2 - The Processes for Fabricating Nanopowders. In *Micro and Nano Technologies*, G.-J. Yang and X. Suo [eds.], *Advanced Nanomaterials and Coatings by Thermal Spray*. pp.13-25. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813870-0.00002-4>
- Zhao, Q., Shao, Z., Liu, C.J., Jiang, M.F., Li, X., Zevenhoven, R., and Saxen, H. 2014.** Preparation of Cu-Cr alloy powder by mechanical alloying. *J. Alloy. Compd.*, 607:118-124. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.04.054>.
- Zheng, Z., Li, X.-j., Gang, T. ve Du, C.-X. 2009.** CuCr bulk alloy produced by mechanical alloying and explosive compaction. *T. Nonferr. Metal. Soc.*, 19:626-629. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(10\)60121-5](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(10)60121-5)
- Zuo, K., XI, S., & Zhou, J. 2009.** Effect of temperature on mechanical alloying of Cu-Zn and Cu-Cr system. *T. Nonferr. Metal. Soc.*, 19(5): 1206-1214. [https://doi.org/10.1016/s1003-6326\(08\)60430-6](https://doi.org/10.1016/s1003-6326(08)60430-6)



# Cross-linking of PVC by Various Lengths of PEG via “Click” Chemistry

*Çeşitli Uzunluklardaki PEG’ler Vasıtasıyla PVC’nin “Klik” Kimyası ile Çapraz Bağlanması*

Nilgün Asan<sup>1</sup> , Temel Öztürk<sup>1,\*</sup> , Hasibe Kudu<sup>1</sup> , Ergül Meyvacı<sup>1</sup> , Efkan Çatiker<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Giresun University, Department of Chemistry, Giresun, Turkey

<sup>2</sup>Ordu University, Department of Chemistry, Ordu, Turkey

## Abstract

Cross-linked poly(polyvinyl chloride) (c-PVC) was synthesized by “click” reaction of polyvinyl chloride with azido pendant group (PVC-N3) and dipropargyllated polyethylene glycol (dp-PEG). For this purpose, dp-PEGs were obtained from polyethylene glycols with different molecular weights (400 Da, 600 Da, 1000 Da, 1500 Da, 2000 Da, 3000 Da, and 10000 Da) via treatment with propargyl chloride. PVC-N3 was synthesized through the substitution reaction between the pendant chloride on the PVC chains and azide ion. By using PVC-N3 and dp-PEGs with various lengths, c-PVCs with various degrees of cross-linking was obtained. The characterization of the PVC-N3, dp-PEG and c-PVC were performed using Fourier transform infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy, thermogravimetric analysis, scanning electron microscopy and elemental analysis. Degrees of swelling of c-PVCs with different cross-linking densities in N,N-dimethylformamide were determined by quantitative measurements.

**Keywords:** “Click” chemistry, Cross-linking, Poly(vinyl chloride), Polyethylene glycol, Degree of swelling

## Öz

Çapraz bağlı poli(vinil klorür) (c-PVC), azit grup ekli poli(vinil klorür) (PVC-N3) ile dipropargillenmiş polietilen glikolün (dp-PEG) “klik” kimyası reaksiyonuyla sentezlendi. Bu amaç için, dp-PEG’ler, farklı molekül ağırlıklarına sahip polietilen glikollerin (400 Da, 600 Da, 1000 Da, 1500 Da, 2000 Da, 3000 Da, and 10000 Da) propargil klorür ile muamelesinden elde edildiler. PVC-N3, PVC zincirleri üzerindeki asılı klorürlerle azid iyonu arasındaki yer değiştirme reaksiyonuyla sentezlendi. PVC-N3 ve çeşitli uzunluklardaki dp-PEG’ler kullanılarak farklı derecelerde çapraz bağlamaya sahip c-PVC’ler elde edildi. PVC-N3, dp-PEG ve c-PVC’nin karakterizasyonları, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi, nükleer manyetik rezonans spektroskopisi, termogravimetrik analiz, taramalı elektron mikroskobu ve elementel analiz teknikleri kullanılarak gerçekleştirildi. N,N-dimetilformamid içinde farklı çapraz bağlanma yoğunluklarına sahip c-PVC’lerin şişme dereceleri nicel ölçümlerle belirlendi.


**Anahtar Kelimeler:** “Klik” kimyası, Çapraz bağlanma, Poli(vinil klorür), Polietilen glikol, Şişme derecesi


## 1. Introduction


Poly(vinyl chloride) (PVC), one of the most common and important functional polymers, has been kept steady growth of the production and consumption over the world (Asan and Öztürk 2017, Grishin 2015). PVC is less dependent on


crude oil or natural gas comparing to all other polymers, which are nonrenewable such as polyethylene, polyethylene terephthalate and polymethyl methacrylate. Copolymers have substantial interest due to their mechanical properties and practical applications (Savaş and Öztürk 2020). Copolymers, having polyethylene glycol (PEG) units, are very appealing substances for chemicals, industrial and biomedical practices, as PEG has unparalleled features such superior hydrophilicity, flexibility, ion absorbability, and a superior grade of biocompatibility (Asan and Öztürk 2017, Wang et al. 1998, Aydınli et al. 2004, Riess 2003, Gacal et al. 2006, Pispas and Hadjichristidis 2003, Göktaş et al. 2014). In 2001, “click” chemistry described by Sharpless et al. (2001) has high yields, requires minimum purification, and proceeds in the existence of various functional groups


\*Corresponding author: [temelozturk@msn.com](mailto:temelozturk@msn.com)

Nilgün Asan  [orcid.org/0000-0001-6388-3507](https://orcid.org/0000-0001-6388-3507)

Temel Öztürk  [orcid.org/0000-0002-7856-9809](https://orcid.org/0000-0002-7856-9809)

Hasibe Kudu  [orcid.org/0000-0002-8380-5953](https://orcid.org/0000-0002-8380-5953)

Ergül Meyvacı  [orcid.org/0000-0003-3530-1316](https://orcid.org/0000-0003-3530-1316)

Efkan Çatiker  [orcid.org/0000-0003-2493-7570](https://orcid.org/0000-0003-2493-7570)





without the need for protection chemistry (Hein et al. 2008). After this time, "click" chemistry applications have been broadly studied (Moses and Moorhouse 2007, Savaş et al. 2020, Xu et al. 2007, Tunca 2013, Altıntaş and Tunca 2011, Xi et al. 2014, Çatiker et al. 2019, Binder and Sachsenhofer 2007, Moshaverinia et al. 2012, Öztürk and Yörümez 2020, Öztürk et al. 2018). The Cu catalyzed azide-alkyne cycloaddition reactions are only the important one of these "click" reactions (Barner-Kowollik et al. 2011, Tunca 2018, Öztürk and Cavicchi 2018).

Firstly, polyvinyl chloride with azido pendant group (PVC-N<sub>3</sub>) was carried out by the reaction of purified PVC and sodium azide as the literatures (Asan and Öztürk 2017, Savaş and Öztürk 2020, Kiskan et al. 2008, Pawlak et al. 2013, Zhang et al. 2020). Secondly, synthesis of dipropargylated polyethylene glycol (dp-PEG) obtained by the reaction of PEGs with different molecular weights (400 Da, 600 Da, 1000 Da, 1500 Da, 2000 Da, 3000 Da, and 10000 Da) and propargyl chloride was presented as the similar procedures reported in the cited literatures (Pawlak et al. 2013, Öztürk et al. 2019, Öztürk and Meyvacı 2017). Lastly, PVC-N<sub>3</sub> and dp-PEG were utilized for "click" chemistry to obtain cross-linked poly(polyvinyl chloride) (c-PVC). Furthermore, the product characterization was provided in detail. Briefly, this paper demonstrates cross-linking of PVC by using difunctionalized PEGs with various lengths as novel cross-linking agents through "click" chemistry method.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

PVC (approximately Mn = 22,000 Da), copper(I) bromide (CuBr), *N,N*-dimethylformamide (DMF), sodium azide (NaN<sub>3</sub>), 2,2'-bipyridyl (bpy), propargyl chloride, acetone, chloroform were received from Sigma-Aldrich and tetrahydrofuran (THF), PEGs with various molecular weights (400 Da, 600 Da, 1000 Da, 1500 Da, 2000 Da, 3000 Da, and 10000 Da), ethanol, petroleum ether, triethylamine (TEA) were supplied by Merck Millipore. Diethyl ether and petroleum ether were received from Carlo Erba Reagent, methanol was supplied by Kimetsan. All chemicals were used without further purifications.

### 2.2. Instrumentation

Fourier transform infrared-attenuated total reflectance (FTIR-ATR) spectra of the products were detected using a Jasco FT/IR 6600 model FT-IR spectrometer. <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H NMR) spectra of the products

were detected using a Bruker Ultra Shield Plus, ultra-long hold time 400 NMR spectrometers. The elemental analyses of the samples were performed on a Costech ECS 4010 instrument. Thermogravimetric analysis (TGA) measurements were conducted using a Seiko II Exstar 6000 TG/DTA 6200 instrument. The sample was heated at a rate of 10 °C/min from 25 °C to 900 °C under N<sub>2</sub> gas. Scanning electron microscopy (SEM) images were taken on a Zeiss EVO LS 10 electron microscope. The cross-linked polymers were coated with a thin layer of gold on their surfaces to provide electrical conductivity.

### 2.3. Purification of PVC

PVC was purified as in the cited literatures (Asan and Öztürk 2017, Öztürk et al. 2014, Öztürk et al. 2020) as follow; 30 g of PVC powder was dissolved in 120 mL of THF in 48 hours and precipitated in excess methanol and dried under vacuum at 40 °C for 48 hours.

### 2.4. Synthesis of polyvinyl chloride with pendant azido group (PVC-N<sub>3</sub>)

The similar procedures described in the cited literatures were applied for synthesis of PVC-N<sub>3</sub> (Asan and Öztürk 2017, Savaş and Öztürk 2020, Kiskan et al. 2008, Pawlak et al. 2013, Zhang et al. 2020, Jia et al. 2017, Ouerghui et al. 2016). For example, 30 g of purified PVC, 0.886 g of NaN<sub>3</sub>, and 70 mL of DMF were placed into a flask. The flask was immersed in an oil bath fixed at 60 °C on a magnetic stirrer, and afterwards N<sub>2</sub> gas was introduced in the flask by a glass syringe. After 48 hours, the flask was opened, and the content was filtered. The solvent was evaporated by using a rotary evaporator. The mixture was poured into excess methanol to precipitate PVC-N<sub>3</sub>. The product was filtered and dried at room temperature under vacuum for 2 days.

### 2.5. Synthesis of dipropargylated polyethylene glycol (dp-PEG)

Synthesis of dipropargylated PEGs was performed by a synthesis protocol similar with the literatures (Pawlak et al. 2013, Öztürk et al. 2019, Öztürk and Meyvacı 2017, Goswami et al. 2013). The reaction parameters were given in Table 1. The specified amounts of PEGs (400 Da, 600 Da, 1000 Da, 1500 Da, 2000 Da, 3000 Da, and 10000 Da) and TEA were dissolved in chloroform under N<sub>2</sub> gas flux. The flasks were cooled below 0 °C by using ice-salt bath. Certain amounts of propargyl chloride (stoichiometrically equivalent to the PEGs) in 7 mL of chloroform were slowly added to the solutions via dropping funnels. The solutions

were stirred at room temperature for certain times given in Table 1. The solutions were concentrated by a rotary evaporator and then cold excess diethyl ether was added to precipitate the dp-PEGs. The dp-PEGs were obtained from decantation and dried at room temperature under vacuum for 2 days.

## 2.6. Synthesis of cross-linked polyvinyl chloride (c-PVC) by "click" chemistry

The amounts of reactants used in the cross-linking were shown in Table 2. The specified amounts of PVC-N<sub>3</sub>, dp-PEG, CuBr, bpy, and THF (as solvent) were charged separately into a flask and then the flask was purged with N<sub>2</sub> for 5 minutes. The flask was immersed in an oil bath at 35 °C until the times given in Table 2. The jelly mixture was poured into excess methanol to remove the unreacted

chemicals and catalysts. The cross-linked polymer was dried at room temperature under vacuum for 2 days.

## 2.7. Degrees of swelling (q<sub>v</sub>) values of c-PVC

The degrees of swelling (q<sub>v</sub>) values of c-PVC were determined as in the literatures (Collins et al. 1973, Hamurcu and Baysal 1993, Hazer and Baysal 1986). Briefly, 0.2 g of the cross-linked sample was kept in 20 mL of DMF for 2 h at 25 °C. Then, sample was removed and weighed. q<sub>v</sub> values of c-PVC samples were calculated by the equation:

$$q_v = \frac{m_{\text{swollen polymer}}}{m_{\text{dry polymer}}}$$

Here, m<sub>swollen polymer</sub> and m<sub>dry polymer</sub> are the masses of the swollen c-PVC and the dry c-PVC, respectively.

**Table 1.** Reaction parameters for the synthesis of dp-PEG.

Code	PEG (g)	PEG (mol)	Propargyl chloride (g)	Propargyl chloride (mol)	PEG/Propargyl chloride (mol/mol)	Triethylamine (g)	Chloroform (mL)	Time (hour)	Yield (wt %)
HH-2	15.002 (PEG-2000 Da)	0.008 (PEG-2000 Da)	1.120	0.015	0.533	2.287	60	56	82.91
HH-3	7.547 (PEG-1500 Da)	0.005 (PEG-1500 Da)	0.745	0.010	0.500	1.525	55	48	74.18
HH-4	8.094 (PEG-1000 Da)	0.008 (PEG-1000 Da)	1.192	0.016	0.500	2.440	45	48	66.52
HH-5	6.091 (PEG-600 Da)	0.010 (PEG-600 Da)	1.490	0.020	0.500	3.050	46	49	48.51
HH-6	5.005 (PEG-400 Da)	0.013 (PEG-400 Da)	0.931	0.012	1.083	1.906	47	53	58.96
HH-7	10.045 (PEG-10000 Da)	0.001 (PEG-10000 Da)	0.150	0.002	0.500	0.134	74	48	93.79

**Table 2.** Synthesis of c-PVC by "click" chemistry. Reaction temperature: 35 °C.

Code	dp-PEG (g)	PVC-N <sub>3</sub> (g)	CuBr (g)	bpy (g)	THF (mL)	Time (hour)	Yield (wt %)	q <sub>v</sub> (in DMF)	Decomposition Temperature (°C)		
									Td1	Td2	Td3
HK2	1.539	3.381	0.221	0.475	40	25	72.10	-	223	464	-
HK3	1.370	1.010	0.130	0.284	27	27	84.58	3.31	181	274	459
HK4	1.000	1.364	0.190	0.425	30	27	65.51	3.24	198	371	448
HK5	1.015	2.003	0.258	0.562	35	26	75.61	6.64	195	457	-
HK6	0.792	2.048	0.258	0.562	30	24	80.90	6.57	201	299	444
HK7	9.090	1.007	0.261	0.567	50	26	87.75	1.95	285	399	-

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Synthesis of PVC-N<sub>3</sub>

PVC-N<sub>3</sub> yield was 93.91 wt %. The first line in Scheme 1 includes the reaction pathway for synthesis of PVC-N<sub>3</sub>. The FT-IR spectrum of PVC-N<sub>3</sub> in Figure 1A shows 2950 cm<sup>-1</sup> and 2912 cm<sup>-1</sup> for aliphatic -CH, and 2330 cm<sup>-1</sup> for -N<sub>3</sub>. Typical -N<sub>3</sub> signal at 2330 cm<sup>-1</sup> appeared in polymer sample, which was confirmed the expected chemical structure. The <sup>1</sup>H-NMR spectrum of PVC-N<sub>3</sub> in Figure 2A shows 2.2 ppm for -CH<sub>2</sub>, 4.3 ppm for -NCH, and 4.5 ppm for -ClCH. The result of elemental analysis of PVC-N<sub>3</sub> shows 37.76 wt % C, 4.48 wt % H, and 0.25 wt % N, which confirms the successful azidation of PVC.

#### 3.2. Synthesis of dp-PEG

The second line in Scheme 1 includes the synthesis of dp-PEG. The yields of the propargylation reaction were found to be between 48.51 wt % and 93.79 wt % as shown in Table 1. Maximum yield of dp-PEG was obtained by using PEG with 10000 Da. Minimum yield of dp-PEG was obtained by using PEG with 600 Da. It is more probably that there will be a population of three types of PEG which possess zero, one, and two propargyl end-groups. As we used [propargyl chloride]/[PEG] = 2/1 (mol/mol) in the reaction, there could be zero and one propargyl end-groups at very little amounts. To the best of our knowledge, most of the product is PEG with two propargyl groups at chain-ends. However, we assumed that all the product was dp-PEG, namely, cross-linking agent. The FT-IR spectrum of dp-PEG (HH-7 in Table 1) in Figure 1B indicates the signals at 3411 cm<sup>-1</sup> for C≡C, 2946 cm<sup>-1</sup> for aliphatic -CH, 1115 cm<sup>-1</sup> for -OC. The <sup>1</sup>H-NMR spectrum of propargyl-PEG (HH-3 in Table 1) in Figure 2B shows 2.5 ppm for ≡CH of the propargyl part,

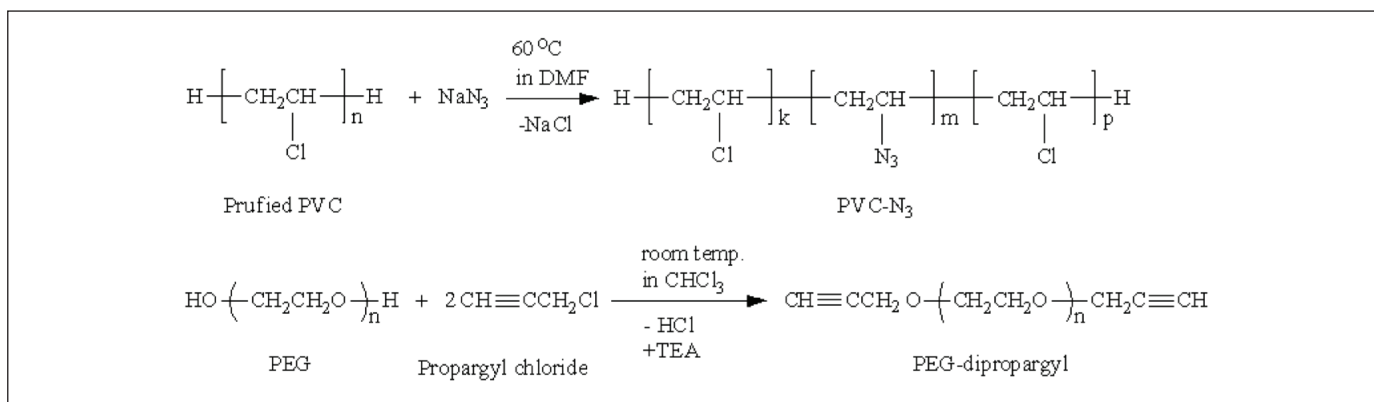
3.5 ppm and 4.1 ppm for -OCH<sub>2</sub> of PEG block, 4.4 ppm for -OCH<sub>2</sub> linked PEG block. The observed peak at 2.5 ppm for ≡CH proton in the <sup>1</sup>H-NMR spectrum and 3411 cm<sup>-1</sup> for C≡C groups in the FT-IR spectrum of dp-PEG were further evidences that dp-PEG was successfully obtained.

#### 3.3. Synthesis of c-PVC by "click" chemistry

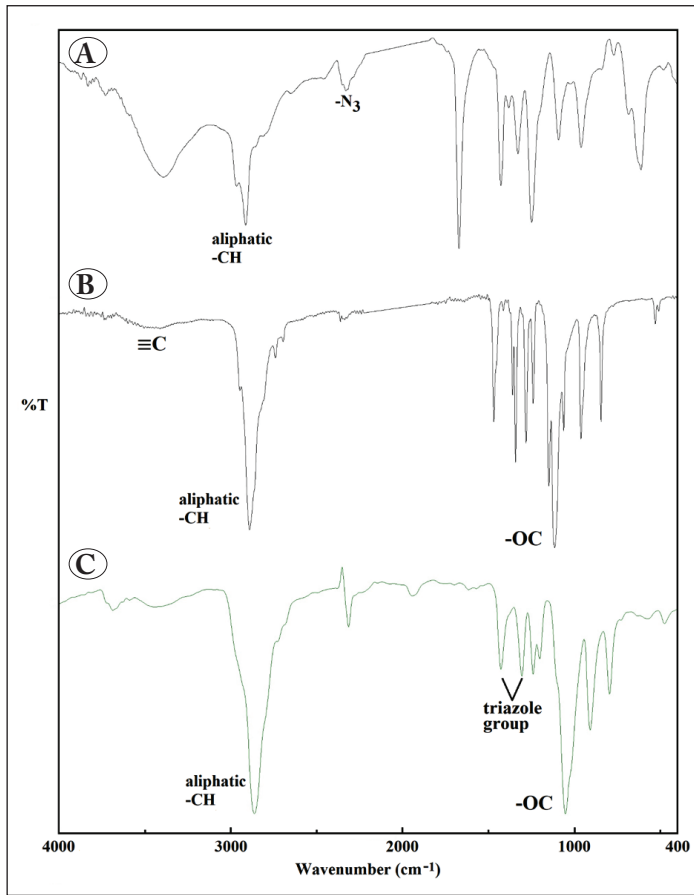
c-PVC was obtained at 35 °C by using "click" chemistry method of dp-PEG and PVC-N<sub>3</sub>. Scheme 2 includes the reaction pathway for synthesis of c-PVC. The results of the polymerization were shown in Table 2. The yields of the c-PVC obtained from "click" chemistry were found gravimetrically between 65.51 wt % and 87.75 wt %. The yields may be assumed to be relatively high. The FT-IR spectrum of c-PVC (HK7 in Table 2) in Figure 1C indicates the characteristic signals at 2877 cm<sup>-1</sup> for aliphatic -CH, 1095 cm<sup>-1</sup> for -OC, 617 cm<sup>-1</sup> -Cl. Furthermore, the observed peaks at 1462 cm<sup>-1</sup> and 1342 cm<sup>-1</sup> for triazole group were evidence that the "click" chemistry was fulfilled.

The morphological properties of c-PVC samples (HK2 and HK4 in Table 2) were examined by SEM analysis. The surface morphologies of the cross-linked polymers were given in Figure 3. Generally, fractured surface structure was seen in SEM images of c-PVC. SEM images of the c-PVC generally exhibited porous surfaces.

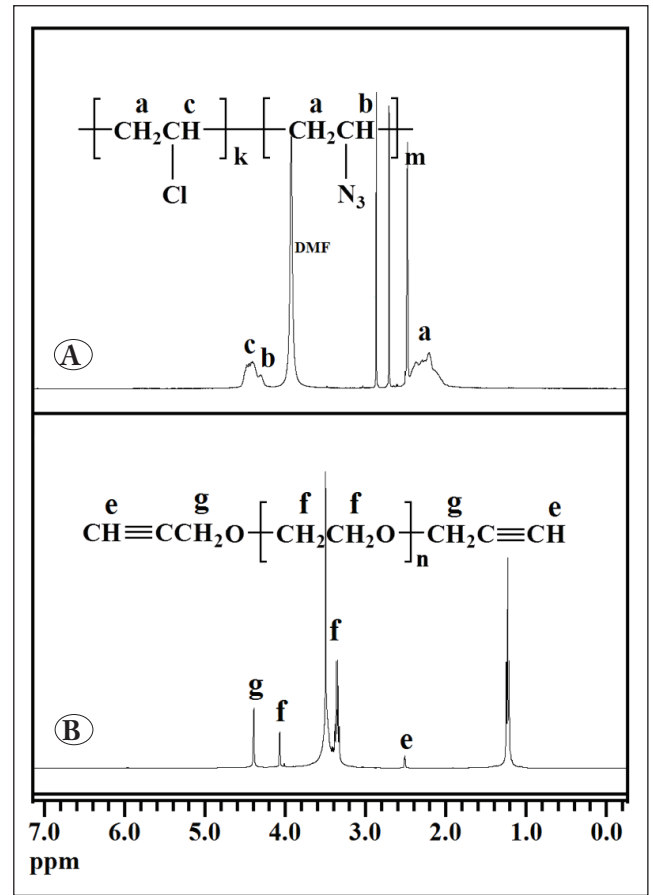
TGA analysis of c-PVC (HK4 in Table 2) was conducted to determine both the chemical compositions of the polymer and temperatures of thermal transitions belonging to each component in the polymer (Figure 4). PEG had one decomposition temperature (Td) at 371 °C. But PVC had two Td at 198 °C and 448 °C. In the case of c-PVC, PVC and PEG units have individual Td. As shown in Figure 4, TGA demonstrated fascinating characteristics of the



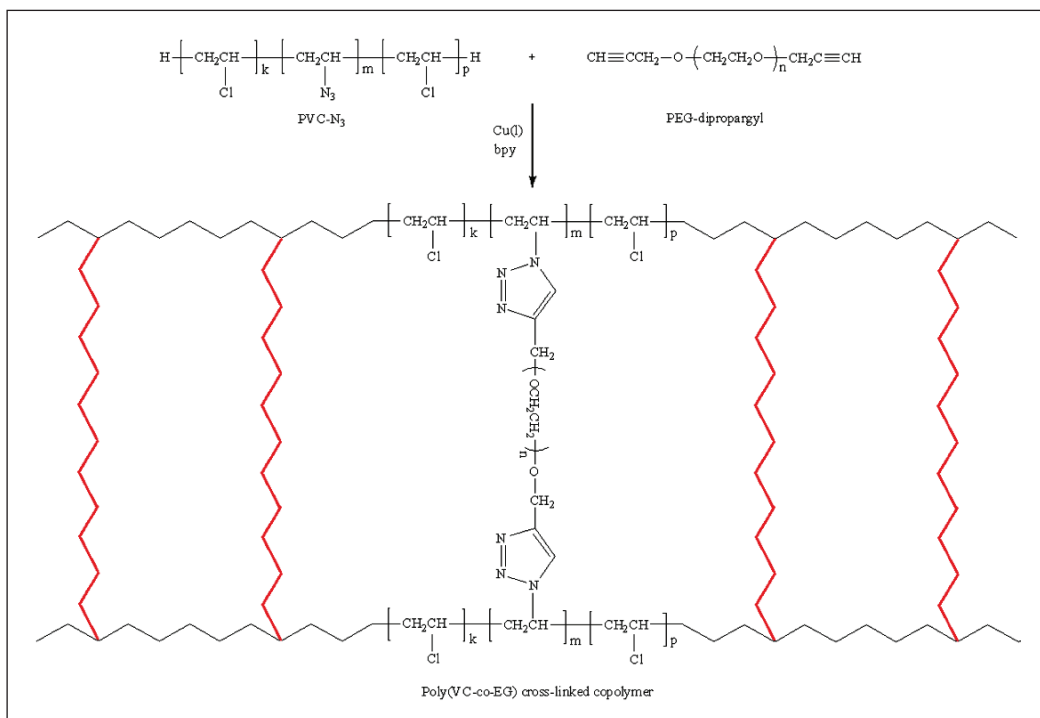
**Scheme 1.** Reaction pathways in the syntheses of PVC-N<sub>3</sub> and dp-PEG.



**Figure 1.** FT-IR spectra of (A) PVC-N<sub>3</sub>, (B) dp-PEG (HH-7 in Table 1), and (C) c-PVC (HK7 in Table 2).

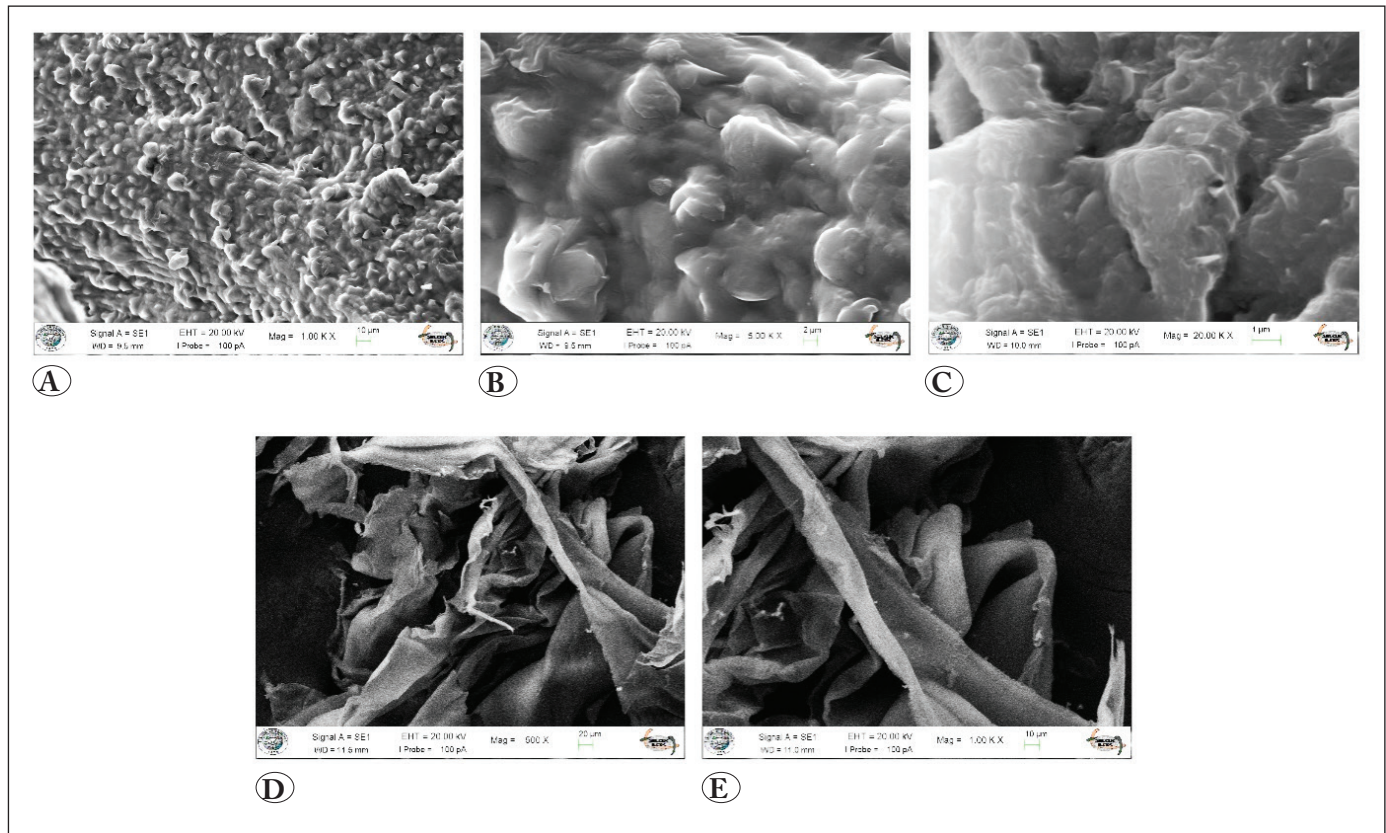


**Figure 2.** <sup>1</sup>H-NMR spectra of (A) PVC-N<sub>3</sub> and (B) dp-PEG (HH-3 in Table 1).

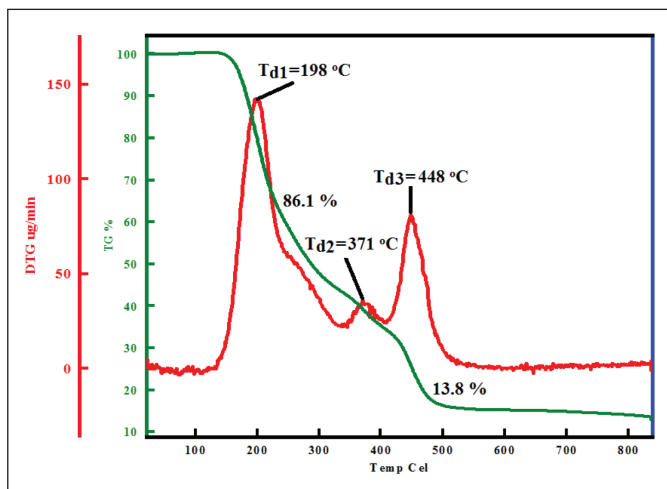


**Scheme 2.** Reaction outline in the synthesis of c-PVC.





**Figure 3.** SEM images of c-PVC; (A) X1000 (HK2 in Table 2), (B) X5000 (HK2 in Table 2), (C) X20000 (HK2 in Table 2), (D) X500 (HK4 in Table 2), and (E) X1000 (HK4 in Table 2).



**Figure 4.** TGA thermogram of c-PVC (HK4 in Table 2).

polymer such as continuous weight loss starting from about 140 °C to nearly 550 °C with maxima at 198 °C, 371 °C, and 448 °C.

The “click” chemistry synthesis of c-PVC from the two constituent homopolymers was acquired. In other word, this paper demonstrates cross-linking of PVC by using difunctionalized PEGs with various lengths as novel cross-linking agents through “click” chemistry method. This procedure used to synthesize cross-linked polymer is easy and effective. This work can pioneer for further and well-conceived cross-linked polymers used for many applications. The calculation of  $q_v$ , a very reliable and practical method, could be applied to verify the cross-linked polymer formation. The swelling ratios of c-PVCs in DMF varied from 1.95 to 7.26.

#### 4. References

- Altıntaş, O., Tunca, U. 2011.** Synthesis of Terpolymers by Click Reactions. *Chem. Asian J.*, 6:2584-2591. doi:10.1002/asia.201100138
- Asan, N., Öztürk, T. 2017.** Synthesis and Characterization of Poly(Vinyl Chloride-graft-Ethylene Glycol) Graft Copolymers by "Click" Chemistry. *Hacettepe J. Biol. Chem.*, 45:35-42. doi:10.15671/HJBC.2017.139
- Aydinli, M., Tutas, M., Bozdemir, O. A. 2004.** Mechanical and light transmittance properties of locust bean gum based edible films. *Turk. J. Chem.*, 28:163-171.
- Barner-Kowollik, C., Du Prez, F. E., Espeel, P., Hawker, C. J., Junkers, T., Schlaad, H., Camp, W. V. 2011.** "Clicking" Polymers or Just Efficient Linking: What Is the Difference? *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50:60-62. doi:10.1002/anie.201003707
- Binder, W. H., Sachsenhofer, R. 2007.** 'Click' Chemistry in Polymer and Materials Science. *Macromol. Rapid Commun.*, 28:15-54. doi:10.1002/marc.200600625
- Collins, E. A., Bares, J., Billmeyer, F. W. Jr. 1973.** Experiments in Polymer Science; John Wiley and Sons: New York.
- Çatiker, E., Meyvacı, E., Atakay, M., Salih, B., Öztürk, T. 2019.** Synthesis and Characterization of Amphiphilic Triblock Copolymers Including  $\beta$ -alanine/ $\alpha$ -methyl- $\beta$ -alanine and Ethylene Glycol by "Click" Chemistry. *Polym. Bull.*, 76:2113-2128. doi:10.1007/s00289-018-2561-1
- Gacal, B., Durmaz, H., Tasdelen, M. A., Hizal, G., Tunca, U., Yagci, Y., Demirel, A. L. 2006.** Anthracene-Maleimide-Based Diels-Alder "Click Chemistry" as a Novel Route to Graft Copolymers. *Macromolecules*, 39:5330-5336. doi:10.1021/ma060690c
- Goswami, L.N., Houston, Z.H., Sarma, S.J., Jalisatgi, S.S., Hawthorne, M.F. 2013.** Efficient synthesis of diverse heterobifunctionalized clickable oligo(ethylene glycol) linkers: potential applications in bioconjugation and targeted drug delivery. *Org. Biom. Chem.*, 11:1116. doi:10.1039/c2ob26968f
- Göktaş, M., Öztürk, T., Atalar, M. N., Tekeş, A. T., Hazer, B. 2014.** One-Step Synthesis of Triblock Copolymers via Simultaneous Reversible-Addition Fragmentation Chain Transfer (RAFT) and Ring-Opening Polymerization using a Novel Difunctional Macro-RAFT Agent Based on Polyethylene Glycol. *J. Macromol. Sci. Part A*, 51:854-863. doi:10.1080/10601325.2014.953366
- Grishin, D. F. 2015.** Synthesis of Vinyl Chloride Homo- and Copolymers under the Conditions of Controlled Radical Polymerization. *Russ. J. Appl. Chem.*, 88:361-376. doi:10.1134/S1070427215030015
- Hamurcu, E., Baysal, B. M. 1993.** Interpenetrating Polymer Networks of Poly(dimethylsiloxane): 1. Preparation and Characterization. *Polymer*, 34:5163-5167. doi:10.1016/0032-3861(93)90264-B
- Hazer, B., Baysal, B. M. 1986.** Preparation of Block Copolymers Using a New Polymeric Peroxycarbamate. *Polymer*, 27:961-968. doi:10.1016/0032-3861(86)90312-5
- Hein, C.D., Liu, X.M., Wang, D. 2008.** Click Chemistry: A Powerful Tool for Pharmaceutical Sciences. *Pharm. Res.*, 25:2216-2230. doi:10.1007/s11095-008-9616-1
- Jia, P., Hu, L., Feng, G., Bo, C., Zhang, M., Zhou, Y. 2017.** PVC materials without migration obtained by chemical modification of azide-functionalized PVC and triethyl citrate plasticizer. *Mater. Chem. Phys.*, 190:25-30. doi:10.1016/j.matchemphys.2016.12.072
- Kiskan, B., Demiray, G., Yagci, Y. 2008.** Thermally Curable Polyvinylchloride via Click Chemistry. *J. Polym. Sci. Part A*, 46:3512-3518. doi:10.1002/pola.22685
- Kolb, H.C., Finn, M.G., Sharpless, K.B. 2001.** Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 40:2004-2021. doi:10.1002/1521-3773(20010601)40:11%3c2004:AIDANIE2004%3e3.0.CO;2-5
- Moses, J. E., Moorhouse, A. D. 2007.** The Growing Applications of Click Chemistry. *Chem. Soc. Rev.*, 36:1249-1262. doi:10.1039/B613014N
- Moshaverinia, A., Thirumamagal, B. T. S., Schrick, S. R. 2012.** Click Chemistry: A Potential Platform for Development of Novel Dental Restorative Materials. *J. Macromol. Sci. Part A*, 49:288-292. doi:10.1080/10601325.2012.662027
- Ouerghui, A., Elamari, H., Dardouri, M., Ncib, S., Meganem, F., Girard, C. 2016.** Chemical modifications of poly(vinyl chloride) to poly(vinyl azide) and "clicked" triazole bearing groups for application in metal cation extraction. *React. Funct. Polym.*, 100:191-197. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2016.01.016
- Öztürk, T., Cavicchi, C. A. 2018.** Synthesis and Characterization of Poly(epichlorohydrin-g- $\epsilon$ -caprolactone) Graft Copolymers by Click Chemistry. *J. Polym. Mater.*, 35:209-220. doi:10.32381/JPM.2018.35.02.6
- Öztürk, T., Göktaş, M., Savaş, B., Işıklar, M., Atalar M.N., Hazer, B. 2014.** Synthesis and Characterization of Poly(vinyl chloride-graft-2-vinylpyridine) Graft Copolymers using a Novel Macroinitiator by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization. *e-Polymers*, 14:27-34. doi:10.1515/epoly-2013-0011

- Öztürk, T., Kılıçoğlu, A., Savaş, B., Hazer, B. 2018.** Synthesis and Characterization of Poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-ethylene glycol) Star-Type Amphiphilic Copolymers by "Click" Chemistry and Ring-Opening Polymerization. *J. Macromol. Sci. Part A*, 55:588–594. doi:10.1080/10601325.2018.1481344
- Öztürk, T., Meyvacı, E. 2017.** Synthesis and Characterization of Poly( $\epsilon$ -Caprolactone-b-Ethylene Glycol-b- $\epsilon$ -Caprolactone) ABA Type Block Copolymers via "Click" Chemistry and Ring-Opening Polymerization. *J. Macromol. Sci. Part A*, 54:575–581. doi:10.1080/10601325.2017.1309251
- Öztürk, T., Meyvacı, E., Arslan, T. 2020.** Synthesis and Characterization of Poly(Vinyl Chloride-g- $\epsilon$ -Caprolactone) Brush Type Graft Copolymers by Ring-Opening Polymerization and "Click" Chemistry. *J. Macromol. Sci. Part A*, 57:171–180. doi:10.1080/10601325.2019.1680253
- Öztürk, T., Meyvacı, E., Bektaş, H., Mentese, E. 2019.** Synthesis and Characterization of Ring-Type and Branched Polymers Including Polyethylene Glycols by "Click" Chemistry. *SN Appl. Sci.*, 1:343. doi:10.1007/s42452-019-0360-4
- Öztürk, T., Yörümez, C. 2020.** Synthesis of Block Copolymer Including Polyepichlorohydrin and Polyethylene Glycol by "Click" Chemistry: Evaluation of Primary Parameters of Copolymerization. *Polym. Bull.*, 77:4773–4788. doi:10.1007/s00289-019-02989-4
- Pawlak, M., Grygolowicz-Pawlak, E., Crespo, G.A., Mistlberger, G., Bakker, E. 2013.** PVC-Based Ion-Selective Electrodes with Enhanced Biocompatibility by Surface Modification with "Click" Chemistry. *Electroanalysis*, 25:1840–1846. doi:10.1002/elan.201300212
- Pispas, S., Hadjichristidis, N. 2003.** Aggregation Behavior of Poly(Butadiene-b-Ethylene Oxide) Block Copolymers in Dilute Aqueous Solutions: Effect of Concentration, Temperature, Ionic Strength, and Type of Surfactant. *Langmuir*, 19:48–54. doi:10.1021/la020561z
- Riess, G. 2003.** Micellization of Block Copolymers. *Prog. Polym. Sci.*, 28:1107–1170. doi:10.1016/S0079-6700(03)00015-7
- Savaş, B., Çatıker, E., Öztürk, T. 2020.** Synthesis and Characterization of Poly( $\alpha$ -methyl  $\beta$ -alanine)-poly( $\epsilon$ -caprolactone) Tri Arm Star Polymer by Hydrogen Transfer Polymerization, Ring-Opening Polymerization and "Click" Chemistry. *J. Polym. Res.*, 28:30. doi:10.1007/s10965-020-02367-z
- Savaş, B., Öztürk, T. 2020.** Synthesis and Characterization of Poly(vinyl chloride-g-methyl methacrylate) Graft Copolymer by Redox Polymerization and Cu Catalyzed Azide-alkyne Cycloaddition Reaction. *J. Macromol. Sci. Part A*, 57:819–825. doi:10.1080/10601325.2020.1788393
- Tunca, U. 2013.** Triple Click Reaction Strategy for Macromolecular Diversity. *Macromol. Rapid. Commun.*, 34:38–46. doi:10.1002/marc.201200656
- Tunca, U. 2018.** Click and Multicomponent Reactions Work Together for Polymer Chemistry. *Macromol. Chem. Phys.*, 219:1800163. doi:10.1002/macp.201800163
- Wang, H., Dong, J. H., Qiu, A. Y., Gu, Z. W. 1998.** Studies on Properties and Drug Delivery Systems of PTMC-b-PEG-b-PTMC Block Copolymers. *J. Macromol. Sci. Part A*, 35:811–820. doi:10.1080/10601329808002013
- Xi, W., Scott, T. F., Kloxin, C. J., Bowman, C. N. 2014.** Click Chemistry in Materials Science. *Adv. Funct. Mater.*, 24:2572–2590. doi:10.1002/adfm.201302847
- Xu, J., Ye, J., Liu, S. Y. 2007.** Synthesis of Well-Defined Cyclic Poly(N-Isopropylacrylamide) via Click Chemistry and Its Unique Thermal Phase Transition Behavior. *Macromolecules*, 40:9103–9110. doi:10.1021/ma0717183
- Zhang, Z., Xiong, J., He, G., Dang, D., Xie, Y., Wang, Q. 2020.** Fluorous Effect-Induced Emission Of Azido Substituted Poly(Vinylidene Fluoride) with High Photostability and Film Formation. *Polym. Chem.*, 11:1307–1313. doi:10.1039/C9PY01622H





# Determination of Critical Relative Humidity of Construction Materials for Mold Growth by Experimental Study

*Deneysel Çalışma ile Küf Büyümesi için Yapı Malzemelerinin Kritik Bağlı Neminin Belirlenmesi*

Bahar Türk<sup>1\*</sup> , Mustafa Erkan Karagüler<sup>1,2</sup> , Dilek Şatana<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Istanbul Technical University, Department of Architecture, Istanbul, Turkey

<sup>2</sup>Istanbul University, Department of Architecture, Istanbul, Turkey

<sup>3</sup>Istanbul University, Basic Medical Sciences, Istanbul, Turkey

## Abstract

Resistance of materials to mold fungi is directly related to the material properties and the environmental temperature and relative humidity level. Critical relative humidity occurs when the relative humidity reaches to the point where mold fungi can grow on the substrate. A strategy should be developed to address the conditions of mold fungi growth and use more suitable materials depending on the humidity conditions in the building. The purpose of this research was to establish the essential relative humidity of various construction materials based on their substrate category in order to get a better understanding of mold resistance and to reduce the danger of mold development. The critical relative humidity for six building materials was determined in this research to assess each substrate category's resistance to mold growth. Inoculation of construction materials with six mold spores (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus*, and *Acremonium*) and incubation in a desiccator at 22° C (%75-95). For 3 months, samples were analyzed once a week. Mold growth was most sensitive to substrate category I (gypsum board) in this laboratory experiments. There was no evidence of growth in any of the glass or composite samples. The essential moisture level varied according to substrate category. For example, the essential humidity level for drywall (category I) was 80%, whereas for rock wool it was 85% (category II). At various relative humidity levels, the time needed for critical mold development varied. Critical mold development times for gypsum board are 12 weeks at 75% relative humidity and 1 week at 95% relative humidity. The greater the environment relative humidity, the less time essential mold development requires on the substrate.


**Keywords:** Mould, Relative humidity, Critical relative humidity level, Building material, Mould resistance

## Öz


Yapı malzemelerin küf mantarlara karşı direnci, malzeme özellikleri, ortam sıcaklığı ve bağlı nem seviyesi ile doğrudan ilişkilidir. Kritik bağlı nem, bağlı nem, substrat üzerinde küf mantarlarının gelişebileceği noktaya ulaştığında meydana gelir. Küf mantarlarının üreme koşullarını ele almak ve binadaki nem koşullarına bağlı olarak daha uygun malzemeler kullanmak için bir strateji geliştirilmelidir. Çalışmada yapı malzemelerinin küf direncini daha iyi anlamak ve küf oluşumu riskini en aza indirmek için substrat kategorisine bağlı olarak kritik bağlı nemini belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, her substrat kategorisinin küf oluşumuna karşı direncini değerlendirmek için altı yapı malzemesinin kritik bağlı nemi belirlendi. Yapı malzemeleri altı küf sporu (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus* ve *Acremonium*) ile aşılandı ve 22°C'de (%75-95) bir desikatörde inkübe edildi. Üç ay boyunca numuneler haftada bir kez analiz edildi. Laboratuvar testlerinde, küf oluşumuna en duyarlı, substrat kategori I (alçı levha) olmuştur. Cam ve kompozit numunelerinin hiçbirinde üreme tespit edilmedi. Kritik nem seviyesi farklı substrat kategorileri için farklıydı. Örneğin, alçıpan (kategori I) için kritik nem seviyesi %80, taş yünü için (kategori II) ise %85 idi. Farklı bağlı nem seviyelerinde kritik küf gelişimi için gereken süre değişiklik göstermiştir. Bu kapsamda alçı levha için kritik küf gelişimi %75 bağlı nemde 12 hafta, %95 bağlı nemde ise bir haftadır. Ortamın bağlı nemi ne kadar yüksek olursa, substrat üzerinde kritik küf oluşumu için gereken sürenin o kadar kısa olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Küf, Bağlı nem, Kritik bağlı nem seviyesi, Yapı malzemesi, Küf direnci

\*Corresponding author: bahareturk@gmail.com

Bahar Türk  [orcid.org/0000-0002-1185-9174](https://orcid.org/0000-0002-1185-9174)

Mustafa Erkan Karagüler  [orcid.org/0000-0002-5385-6182](https://orcid.org/0000-0002-5385-6182)

Dilek Şatana  [orcid.org/0000-0002-8827-1504](https://orcid.org/0000-0002-8827-1504)





## 1. Introduction

Mold fungi have a high resistance to adverse conditions as well as a high ability to produce spores. As a result, fungal spores can be found in any environment and on any surface. Mold fungi are an integral part of the ecosystem because they are responsible for the separation and recycling of dead matter. Indoor mold fungi, on the other hand, can be harmful to people's health as well as damaging to building materials and components. Therefore, measures should be taken to prevent the growth of fungi in these environments. It is important to know the factors that affect the growth of fungi in order to prevent the growth of indoor fungi (Johansson 2018, Nielsen 2004, Sedlbauer 2002, Adan 1994). Mold growth is greatly influenced by a number of important factors, including humidity, temperature, and substrate. Mold fungi must be exposed to these elements for a specific period of time. Generally, moisture is the most important factor in mould growth. Moisture requirements for mould growth are temperature- and nutrient-dependent (Stanaszek-Tomal 2020, Jugles et al. 2020, Moon 2005, Stanaszek-Tomal 2020, Jugles et al. 2020,).

The more closely the temperature and nutrient content are to their optimal values, the less moisture is required for growth (Wu and Wung 2020, Johansson 2018, Sedlbauer 2004, Adan 1994, Ayerst 1969). The amount of moisture required for fungi growth is determined by the moisture content of the substrate on which they grow. This quantity of moisture is referred to as relative humidity (Sedlbauer 2004, Moon 2005, Samson et al. 2001, Adan 1994). In each material, the rate of fungal growth varies. Some materials can tolerate high humidity without mold development, whereas others cannot withstand mold growth even at low humidity levels. Many studies have been conducted to determine the environmental parameters that induce mold development in various construction materials (e.g. Hofbauer et al. 2008, Nielsen 2004, Nielsen 2002, Ritschkoff et al. 2000, Viitanen 1998). One should anticipate that humidity and temperature levels inside a building will fluctuate. The preferred materials to reduce the risk of mold growth should be those that can withstand the current conditions. Due to the diversity of construction material, it is impracticable to assess their resistance to microbial growth. Following a review of the literature, three substrate categories were proposed to assess the effects of the substrate on mold growth (Doll and Burge 2001, Horner et al. 2001, Klamer et al. 2004, Nielsen 2004, Pasanen et al. 2000 ).

The purpose of this study was to determine the critical relative humidity of the substrate in order to gain a better

understanding of the mold resistance of building materials and to facilitate the selection of an appropriate material for the anticipated temperature and relative humidity conditions in order to minimize the risk of mould growth.

## 2. Material and Method

### 2.1. Fungal Species

Mold fungi species found in various climates vary considerably (Andersen et al. 2011, Hyvärinen et al. 2002). Therefore, we selected mold fungi found in buildings of the Mediterranean climate. As a result, an apartment with dampness and mold issues was chosen in Istanbul's Avcılar district. The samples were collected from locations contaminated with molds. The samples were cultured on malt agar in Petri dishes until sporulation occurred. To identify the fungal species, the samples were examined in Istanbul university Medical Microbiology laboratory. These species frequently exhibit a wide range of water requirements (Grant et al. 1989 ) and belong to distinct groups in terms of successional colonization. These fungi species were mixed together to replicate real condition (Table 1).

### 2.2. Building Materials

Due to the diversity of building materials, it was difficult to assess them separately. This could be simplified by classifying materials as according ones resistance to fungal. Sedlbauer (2002) proposed four categories of substrates based on experimental examinations to account for the influence of the substrate on the formation of mould fungus (Sedlbauer 2002). Various building materials were assigned to each of the four substrates in order to support this purpose. Substrates categorized as optimal culture medium, biologically recycled building materials, porous building materials, and non-degradable and nutrient-free building

**Table 1.** Mould species used.

Species	Growth Conditions			
	Temperature (°)		Relative Humidity (%)	
	Min.	Opt	Min.	Opt
<b>Penicillium</b>	5	25	78	-
<b>Cladosporium</b>	-5	25	85	-
<b>Chaetomium</b>	5	26	-	-
<b>Scopulariopsis</b>	-	25	-	-
<b>Aspergillus</b>	10	35	-	-
<b>Acremonium</b>	-	26	77	-

**Table 2.** Material type and Substrate Categories.

Material	Material description	Substrate Category
<b>Plasterboard</b>	12.5 mm standard cardboard covered gypsum.	I
<b>Rock wool</b>	Made of 30 mm rockwool, uncoated yellow and black glass wool on both sides.	II
<b>Water-based paint</b>	Acrylic compolymer-based, silicone-added, water-based interior wall paint.	II
<b>Solvent based paint</b>	Contains anticorrosive and zinc chromal pigment. Interior wall paint.	II
<b>Glass</b>	2mm standard window glass	III
<b>Composite</b>	Aluminum composite facade panel.	III

materials. Because this study was limited to building materials, only categories I, II, and III were considered. This was accomplished by selecting materials from each category (Table 2). Without contamination, mold fungi could not be formed on substrate category III. There were a high risk of fungal growth on items in categories I and II, depending on the environmental conditions in which they were located. In this study, different construction materials were determined for each substrate type. Based on their frequency of usage in the envelopes of Istanbul buildings, six building elements were ultimately selected for this purpose. All materials were purchased from a local shop and divided into four 50 x100 mm test pieces. The test pieces were located at 22° C and relative humidity levels ranging from 75 % to 95 % were applied. Additionally, all materials were sterilized on their surfaces prior to use.

### 2.3. Suspension of Fungal Spores

To ensure that each test was repeatable, a spore suspension was produced in a standardised manner, mostly in accordance with MIL-STD-810G. (Department of Defense 2010). 45 mL of sterilized water was poured into a culture flask containing crystal beads which was filled with spores that had been scraped off the fungus's surface (building materials laboratory of ITU). A single flask represented each species. To release the spores from the conidiophores, the flask was shaken, which dispersed the spores. Sterile glass wool was used to filter the contents of the flask. After discarding the supernatant, the spores were cleaned with sterilized water. The solution has been then separated by centrifugation as it ever was. This was done three times in order to wash out all the nutrients from the agar. The final spore suspension was made by combining equal volumes of each species' suspension.

### 2.4. Spore Suspension Inoculation Method

It is critical to achieve fungal growth by inoculating the specimen properly. This can be done in a variety of ways and according to one's personal preferences. The technique of Johansson et al. employed (Johansson et al. 2018). In

**Table 3.** Mould growth rating scale for the experiments.

Rating	Description of extent of growth
<b>0</b>	No fungal growth
<b>1</b>	Coverage ≤ 1%
<b>2</b>	1% < Coverage ≤ 10%
<b>3</b>	10% < Coverage ≤ 30%
<b>4</b>	30% < Coverage ≤ 70%
<b>5</b>	70% < Coverage

order to conduct this experiment, a spore suspension of 0,4 ml was applied to one surface of each specimen. The liquid suspension was sprayed onto the surfaces of the test pieces to spread the spores evenly across the surface (building materials laboratory of ITU).

### 2.5. Inoculation

The prepared samples were placed horizontally in desiccators. Each desiccator was programmed to maintain 22 °C and a desired relative humidity. Each desiccator was equipped with a digital humidity and thermometer for regular temperature and relative humidity control (building materials laboratory of ITU).

### 2.6. Ambient Conditions of Desiccators

All desiccators were set to maintain a constant 22° C and a relative humidity of %75± 5, %80±5, %85 ±5, %90± 5, and %95± 5, respectively. Silica gel, calcium chloride, and carbonate were used to create desiccators for 80, 85, 90 and % 95 relative humidity, respectively and pumice was used to create %75 (building materials laboratory of ITU).

Three months were spent testing each sample of the selected materials at a constant temperature and specified relative humidity. For 3 months, samples were analysed weekly

### 2.7. Evaluation of Fungal Growth in Laboratory Samples

Weekly evaluations were conducted on all surfaces of samples exposed to mold growth. The surfaces of the samples were examined for fungal growth using either the

naked eye or a 40x stereo microscope in this evaluation. On the surfaces of the samples, fungal growth was evaluated using the rating scale shown in Table 4. No surface contact was made when the analysis procedure was used, as it was non-destructive (Frühwald et al. 2008). This study method made it possible to continuously monitor mould growth on the same test piece. The results were analyzed on the basis of the simplified judgment. When the mold growth rating reached 2 or higher for the first time, a test piece was considered to have failed.

**Table 4.** Critical humidity level of materials according to 12 week incubation results (at 22° C).

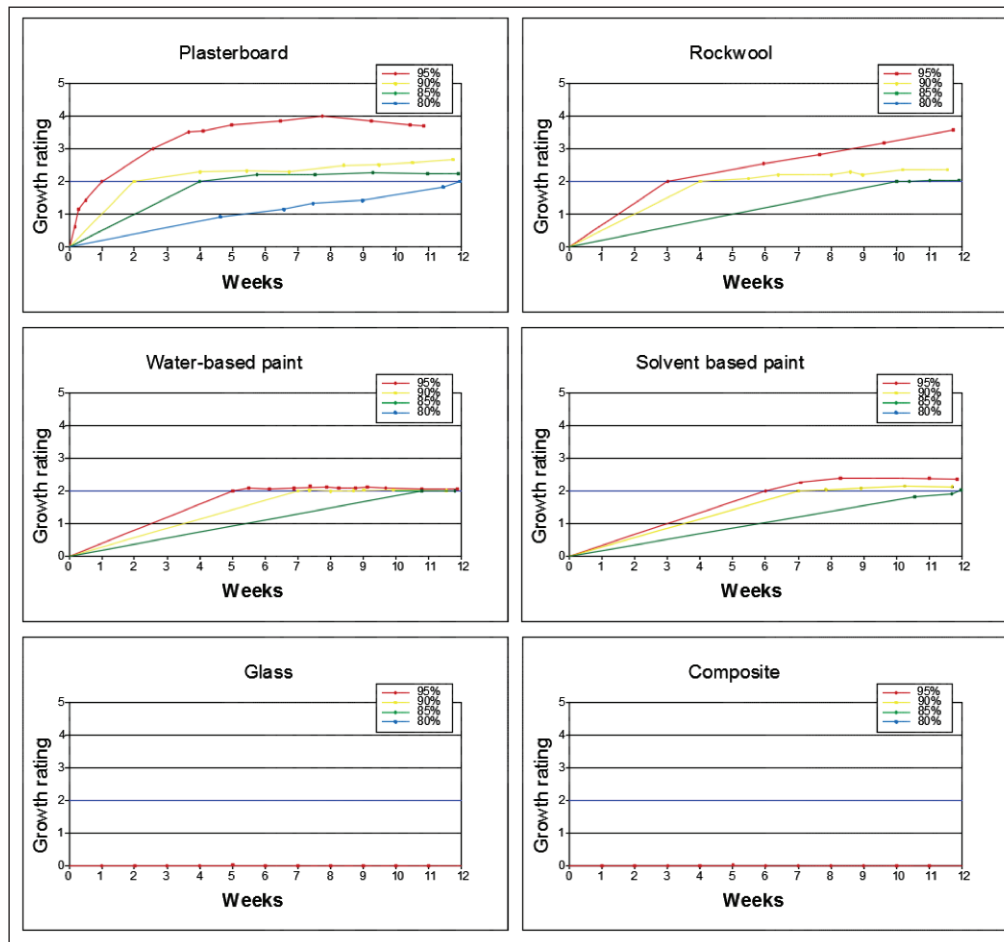
Material	Relative Humidity(%)
Plasterboard	80
Rock wool	85
Water-based paint	90
Solvent based paint	90
Glass	-
Composite	-

## 2.8. Definition of Critical Moisture Level

The tests were conducted at a constant relative humidity. The critical relative Humidity was determined by the case with the lowest relative humidity that met any of the preceding criteria. For instance, if the critical mould level requirements were satisfied at a relative humidity of 90%, the critical relative humidity for this material was considered to be 90%.

## 3. Results

Mold fungi growth was detected in all tested materials after varying exposure times and relative humidity conditions (%75-95 RH and 22°C) in the building materials laboratory of İTÜ -Faculty of Architecture. The growth of mould on plasterboard was detected using the naked eye and the light microscope for the upper and lower sides. The first stage of growth (rating 2) was detected in plasterboard after one week of exposure, and rating 3 was detected after three weeks, depending on the test series (Figure 1).



**Figure 1.** Fungal growth on test pieces of substrate at various relative humidity at 22° C during 3 month.

As the exposure continued, the highest rating for mold growth was detected in plasterboard. The majority of the mold fungi were *Penicillium* and *Aspergillus* species. Additionally, the rating 2 was detected in rockwool after three weeks, but only on surfaces in which spore suspension had been sprayed. After five weeks, a first sign of mold growth was detected just on top surface of water-based paint in which spore suspension had been sprayed.

When the exposure time was prolonged, mold growth was detected in all study materials. Numerous thin mould hyphae were discovered in solvent-based paint. The type and intensity of mould growth varied according to the material. In rockwool, dark, hyphae had been bonded to fibers, and the rockwool's solidity appeared to deteriorate over time, affecting its mold resistance (Figure 2). Mold fungi was also very dark on plasterboard (Figure 3).

Under 85% relative humidity, no growth of mold fungi was detected in Category II materials, while growth was detected in Category I materials. No growth was detected in Category III, under any humidity conditions. The results were summarized in Table 4.



Figure 2. Dark mould fungi on the surface of rockwool.



Figure 3. Dark mould fungi on the surface of plasterboard.

In this study, the time needed for samples to achieve critical relative humidity values is important. When critical mold growth occurs at the lowest possible relative humidity, building materials approach critical relative humidity. The estimated critical relative humidity for the materials tested after 3 months of incubation. During the test, the highest relative humidity was %95 and the lowest relative humidity was %75 (Figure 4). The time required for critical mold growth at specified relative humidity could be determined using this information (Table 5).

The results show that the higher the relative humidity of the environment, the shorter the time required for critical mould growth on the substrate. Mold growth on plasterboard, for instance, takes 12 weeks at a relative humidity of less than 80%, but just two weeks at a relative humidity of 90%. (Figure 4).

Table 5. The required time for the critical relative humidity level of the material (at 22° C).

Material	Required time
Plasterboard	12
Rock wool	10
Water-based paint	11
Solvent based paint	12
Glass	-
Composite	-

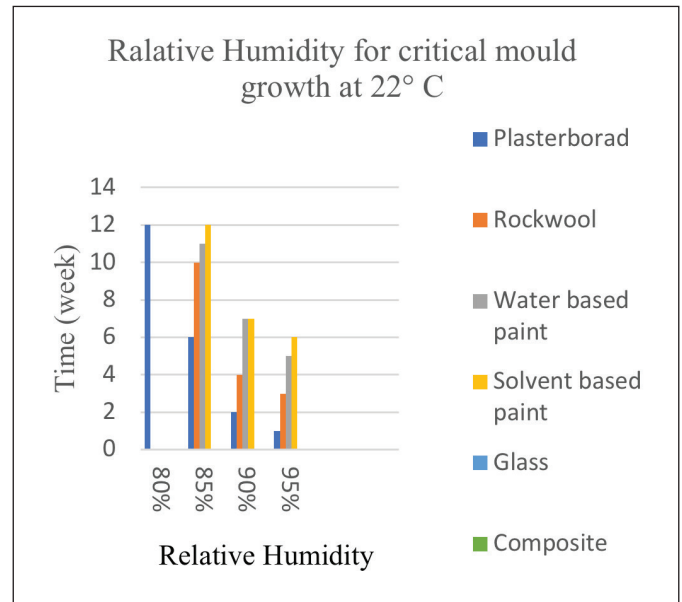


Figure 4. Graph of the time required for critical mould growth. at the specified relative Humidity. (time is determined weekly).



#### 4. Discussion

Numerous laboratory techniques have been developed to determine a material's resistance to mold growth (Adan 1994, Chang et al. 1995, Pasanen et al. 2000, Wang 1992). The technique we employed in this research has certain similarities to and differences from previous methods reported in the literature. Differences may exist in the sensitivity of individual materials to mould, despite belonging to the same group of materials, as well as variations in test setup and analysis techniques.

The duration of the experiment is a critical factor in these studies. The longer the test, the greater the chance of fungal growth. However, for practical reasons, these tests cannot be conducted indefinitely and results must be presented at the appropriate time. According to literature, 12 weeks is an appropriate duration for this method (Johansson et al. 2012, Viitanen 2004). Additionally, the time required for materials to exhibit first signs of fungal growth at critical relative humidity varies (Viitanen et al. 2010). It's worth noting that the higher the relative humidity, the shorter the time required for exposure to other mold-growing conditions. To evaluate a material's critical moisture level, it must be tested at various humidity levels. According to the literature on humidity conditions for fungi growth, the minimum required relative humidity for growth is 75% and the maximum required is 95% (Tsongas et al. 2016, Dedesko and Siegel 2015, Grant et al 1989, Holme et al. 2008). In our study, the relative humidity conditions in the laboratory were determined to be a minimum of 75% and a maximum of 95%.

We examined a combination of spores from six distinct fungus species to simulate the natural habitat (Table 1). As a result, the cumulative effect of these various mold types on the materials was determined. As well, building materials exhibit varying degrees of resistance to mold fungi formation based on their properties. Due to the varied resistance of construction materials, this study investigated three distinct categories. Moreover, to determine the relative humidity of building materials, samples from each category were chosen.

Environmental factors have an effect on the critical moisture level. However, material characteristics have a major influence in fungus development and were taken into account while categorizing construction materials in this research.

We used a method in which samples with a rating of 2 or higher were considered to have failed and were not further investigated in order to characterize the course of growth

and the time at which the threshold moisture level was reached. This method of evaluating a material's resistance to development enables the creation of criteria for what constitutes acceptable behavior in practice. These results may be used to evaluate the mold resistance of novel materials at varying amounts of moisture. After determining the substrate's critical relative humidity, the manufacturer/architect may choose the right material to reduce the risk of mould development, taking into consideration the anticipated temperature and relative humidity conditions.

We acknowledge that our study has a number of limitations. As a result, this test cannot be used to forecast the duration of exposure to a substance beyond the period specified in the laboratory. Such predictions need further study. All of these variables vary across trials, including the fungus, the inoculation technique, the temperature, the relative humidity, the time, the analytical method, and the analysis frequency. To achieve the intended outcome in this research, the advantages and disadvantages of all prior studies and studies in this area were thoroughly examined. Numerous these factors have an effect on the critical moisture level given to a material based on the facts and experiences discussed in this section. The test in this research was done at a constant temperature of 22 ° C and a constant relative humidity. Hydrothermal conditions, on the other hand, vary inside structures. It has an effect on mold development (Nielsen 2004, Viitanen 2004). Even yet, there is a potential of contamination, which may impair mould development. Additional study is required to make such forecasts. It is essential to check the material at a range of different humidity and variety of different moisture levels to determine its critical moisture content.

It is necessary to establish the critical relative humidity of building materials in order to assess their resistance to fungal growth. Numerous factors influenced a building material's critical relative humidity. In this study, temperature, relative humidity, substrate categories, incubation period, and evaluation criteria for mould development have been analyzed. Due to the fact that different substrate categories exhibit variable degrees of fungal resistance, each substrate category must be evaluated individually. In this context, a critical relative humidity was determined for each category according to the results of the experiments conducted in this study. Temperature is also a factor to consider when describing critical Relative humidity. When the temperature decreases, the mold's relative humidity requirement should be higher. This study investigated fungal growth at a temperature of only 22 ° C. Further research is necessary

to make such predictions, as well as to verify whether laboratory tests accurately reflect real-world conditions and how duration affects the outcome.

### Acknowledgments

We would like to express our thanks to technician İbrahim Öztürk, who always helped us with our material usage in the building materials laboratory of İTÜ-Faculty of Architecture.

### Funding

The authors have not received any financial support for the research, authorship or publication of this study.

The Declaration of Conflict of Interest/ Common Interest

No conflict of interest or common interest has been declared by the authors.

### Authors' Contribution

The first author contributed 60%, the second author 20% and the third author 20%.

### The Declaration of Ethics Committee Approval

This study does not require ethics committee permission or any special permission.

### The Declaration of Research and Publication Ethics

The authors of the paper declare that they comply with the scientific, ethical and quotation rules of Karaelmas Science and engineering Journal in all processes of the paper and that they do not make any falsification on the data collected. In addition, they declare that Karaelmas Science and engineering Journal and its editorial board have no responsibility for any ethical violations that may be encountered, and that this study has not been evaluated in any academic publication environment other than Karaelmas Science and engineering Journal.

## 5. References

- Adan, O. C. G. 1994.** On the fungal defacement of interior finishes. Ph. D. Thesis, Eindhoven Technical University, Holland.
- Andersen, B., Frisvad, J. C., Søndergaard, I., Rasmussen, I. S., Larsen, L. S. 2011.** Associations between fungal species and water-damaged building materials. *AEM*, 77(12), 4180–4188. <https://doi.org/10.1128/AEM.02513-10>
- Ayerst, G. 1969.** The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. *J. Stored Prod Res*, 5(2), 127–141. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(69\)90055-1](https://doi.org/10.1016/0022-474X(69)90055-1)
- Chang, J. C. S., Foarde, K. K., Vanosdell, D. W. 1995.** Growth evaluation of fungi (*Penicillium* and *Aspergillus* spp.) on ceiling tiles. *Atmos Environ*, 29(17), 2331–2337. [https://doi.org/10.1016/1352-2310\(95\)00062-4](https://doi.org/10.1016/1352-2310(95)00062-4)
- Dedesko, S., & Siegel, J. A. 2015.** Moisture parameters and fungal communities associated with gypsum drywall in buildings. *Microbiome*, 3(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/S40168-015-0137-Y>
- Department of Defense (U.S.), 2010.** MIL-STD-810G. Environmental Engineering Considerations and Laboratory Tests. Method 508.6. Fungus.
- Doll, S. C and Burge, H. A. 2001.** Characterization of Fungi Occurring on “New” Gypsum Wallboard. Conference Proceedings IAQ 2001. Moisture, Microbes, and Health Effects: Indoor Air Quality and Moisture in Buildings, San Francisco, California.
- Frühwald, E., Wadso, L. 2008.** Image analysis study of mould susceptibility of spruce and larch wood dried or heat-treated at different temperatures. *Sci Eng*, 3(1–2), 55–61. <https://doi.org/10.1080/17480270802607889>
- Grant, C., Hunter, C.A., Flannigan, B., Bravery, A.F. 1989.** The moisture requirements of moulds isolated from domestic dwellings. *Int biodeterior biodegrad*, 259-284. [https://doi.org/10.1016/0265-3036\(89\)90002-X](https://doi.org/10.1016/0265-3036(89)90002-X)
- Hofbauer, W., Krueger, N., Breuer, K., Sedlbauer, K. 2008.** Mould resistance assessment of building materials – Material specific isopleth-systems for practical application. International Conference on Indoor Air Quality and Climate, 465, 8 pp, Copenhagen.
- Holme, J., Noreng, K., Kvande, T. 2008.** Moisture and Mould Growth in Compact Roofs – Results from a Three-Stage Field Survey. 8th Symposium on Building Physics, Report R-189, Nordic Countries.
- Horner, E., Morey, P. R., Ligman, B. K., Younger, B. 2001.** How Quickly must gypsum board and ceiling tile be dried to preclude mold growth after a water accident? Indoor Air Quality 2001 Moisture, Microbes, and Health Effects: Indoor Air Quality and Moisture in Buildings Conference Papers, California.
- Hyvärinen, A., Meklin, T., Vepsäläinen, A., Nevalainen, A. 2002.** Fungi and actinobacteria in moisture-damaged building materials—concentrations and diversity. *Int Biodeterior Biodegrad*, 49(1), 27-37. <https://doi.org/10.1128/AEM.00588-06>
- Jagels, A., Stephan, F., Ernst, S., Lindemann, V., Cramer, B., Hübner, F., Humpf, H. U. 2020.** Artificial vs natural *Stachybotrys* infestation—Comparison of mycotoxin production on various building materials. *Indoor air*, 30(6), 1268-1282. <https://doi.org/10.1111/ina.12705>

- Johansson, P., Ekstrand-Tobin, A., Svensson, T., Bok, G. 2012.** Laboratory study to determine the critical moisture level for mould growth on building materials. *Int Biodeterior Biodegrad*, 73, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.05.014>
- Johansson, P., Conference, I., Interactions, C. M., Johansson, P. 2018.** Determination of the Critical Moisture Level for Mould Growth on Building Materials. Ph. D. thesis, Lund University Faculty of engineering, Sweden.
- Klamer, M., Morsing, E., Husemoen, T. 2004.** Fungal growth on different insulation materials exposed to different moisture regimes. *Int biodeterior biodegrad*, 54(4), 277-282. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.03.016>
- Moon, H. J. 2005.** Assessing Mold Risks in Buildings under Uncertainty. Phd Thesis, College of Architecture Georgia Institute of Technology, Georgia.
- Nielsen, K. 2004.** Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism. *Int Biodeterior Biodegrad*, 54(4), 325-336. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.05.002>
- Nielsen, K.F. 2002.** Mould growth on building materials: Secondary metabolites, mycotoxins and biomarkers. Ph. D. thesis. Technical University of Denmark.
- Pasanen, A.L., Kasanen, J.P., Rautiala, S., Ikaheimo, M., Rantamaki, J., Kaariainen, H., Kalliokoski, P. 2000.** Fungal growth and survival in building materials under fluctuating moisture and temperature conditions. *Int Biodeterior Biodegrad*, 46(2), 117-127. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(00\)00093-7](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00093-7)
- Ritschkoff, A.C., Viitanen, H.A., Koskela, K. 2000.** The response of building materials to the mould exposure at different humidity and temperature conditions. *Healthy Buildings 2000*, 317-322 pp, Finland.
- Samson, R. A., Schimmelcultures, C., Miller, J. D. 2001.** Microorganisms in Home and Indoor Work Environments: diversity, health impacts, investigation and control. CRC press, London. <https://doi.org/10.4324/9780203302934>
- Sedlbauer, K. 2002.** Prediction of Mould Growth by Hygrothermal Calculation. *J. Build Phys*, 25(4), 321-336. <https://doi.org/10.1177/0075424202025004093>
- Stanaszek-Tomal, E. 2020.** Environmental Factors Causing the Development of Microorganisms on the Surfaces of National Cultural Monuments Made of Mineral Building Materials Review. *Coatings 2020*, Vol. 10, Page 1203, 10(12), 1203.
- Tsongas, G. A., Riordan, F. 2016.** Minimum conditions for visible mold growth. *ASHRAE J*, 58(9), 32.
- Viitanen, H. 2004.** Critical conditions for the mould growth in concrete and in other materials contacted with concrete-durability of concrete against mould growth, VVT Working Papers.
- Viitanen, Hannu, Vinha, J., Salminen, K., Ojanen, T., Peuhkuri, R., Paajanen, L., Lähdesmäki, K. 2010.** Moisture and bio-deterioration risk of building materials and structures. *J. Build Phys*. <https://doi.org/10.1177/1744259109343511>
- Viitanen, H. 1998.** Factors affecting the development of mould and brown rot decay in wooden material and wooden structures: Effect of humidity, temperature and exposure Department of Forest Products. Ph.D. thesis, Uppsala, The Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden.
- Wang, Q. 1992.** Wood-based boards-Response to attack by mould and stain fungi. Ph. D. thesis, Uppsala Swedish Univ. of Agricultural Sciences, Sweden.
- Wu, H., and Wong, J. W. C. 2020.** Current challenges for shaping the sustainable and mold-free hygienic indoor environment in humid regions. *Letters in applied microbiology*, 70(6), 396-406. <https://doi.org/10.1111/lam.13291>



# Yeni Nesil Yüksek Güçlü IGBT'ler İçin Dinamik Modelleme ve Deneysel Doğrulama

## *Dynamic Modelling and Experimental Validation of New Generation High Power IGBTs*

Osman Tanrıverdi<sup>1\*</sup> , Deniz Yıldırım<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>TÜBİTAK Raylı Ulaşım Teknolojileri Enstitüsü, Elektrikli Tahrik Sistemleri Grubu, Kocaeli, Türkiye

<sup>2</sup>İstanbul Teknik Üniversitesi, Elektrik-Elektronik Fakültesi, Elektrik Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

### Öz

Bu çalışmada, karakterize edilmiş IGBT dinamik modelleme yapılmıştır. Bu dinamik modelleme için IGBT bilgi dokümanı kullanılmıştır. Kurulan model IGBT çift darbe test devresinde denenmiştir. Sonuçlar deneysel çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın temel amacı yüksek güçlü çeviricilerle yapılan benzetim çalışmalarında sonuçların özellikle iletim ve kesime geçiş anlarında gerçeğe yakın olmasını sağlamaktır. Yine IGBT kapı sürme devresi tasarım aşamasında da model, algoritmanın benzetim ortamında geliştirilmesi esnasında fayda sağlayacaktır. Benzetimlerde ANSYS Simplorer programı kullanılmıştır. Modelleme için yeni nesil yüksek güçlü IGBT modülü olan MBM450FS33F model Hitachi marka IGBT seçilmiştir. Bu ürün yeni paket çift IGBT'li modül olup yüksek güç yoğunluğu, düşük endüktans ve kolay paralellenebilir özellikleriyle yüksek güçlü çeviricilerde tercih edilmektedir. Deneysel sonuçlar kurulan çift darbe test düzeneği üzerinden alınmıştır. Benzetim ve deneysel çalışmalar arasındaki farklar grafik ve çizelgelerle verilmiş, program üzerinde yapılan IGBT modelin gerçek modül ile yakınlığı anahtarlama enerjisi hesaplamaları ile de kontrol edilmiştir. Sonuçlar kurulan modelin gerçeğe yakın olduğunu, bu modelin kullanıldığı sistem benzetimlerinde uygulanabilir olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** IGBT modelleme, IGBT kayıpları, Yüksek güçlü IGBT, Çift darbe testi, Model doğrulama

### Abstract

In this paper, IGBT dynamic model is characterized by the circuit simulation tool. IGBT datasheet is used for the details need to built dynamic model. After that, the model is used in the double pulse test circuit simulation. And the results compared with the real test results. Main idea of this research is to have an IGBT dynamic model as close as possible to real one in order to use the model in the gate drive design simulations. A software tool of Ansys Simplorer is used for the simulations and the IGBT that is used for the research is MBM450FS33F. This is the new packaging generation high voltage dual IGBT that has the feature of high power density, low inductance and easy paralleling for the converter applications. Experimental test measurements are also performed with double pulse test setup. The comparison of the simulation and the experiment results for both voltage and current waveforms, especially peak values and the turn off and turn on energy losses are given in detail. The results are shown that the dynamic IGBT model that is built can be used for the system simulations. It achieves an acceptable accuracy considering the compared results.

**Keywords:** IGBT modelling, IGBT losses, High power IGBT, Double pulse test, Model verification

### 1. Giriş

Günümüzde IGBT anahtarlama elemanları yüksek güçlü güç elektroniği çeviricilerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Yüksek akım ve gerilim altında anahtarlanmaları, bu anahtarların

güvenilir bölgede çalışmalarını kritik hale getirmiştir. Güç çeviricileri uygulamalarında öncelikli olarak devre benzetim programları ile çalışılması, özellikle güç katı tasarımının ve kontrol algoritması tasarımının vazgeçilmezidir. Bu, tasarımcılara hem zamanda kolaylık, hem de gerçek sistemde oluşacak risklerin önceden görülmesini ve gerekli aksiyonların alınmasını sağlamıştır. Bu sistemlerde, özellikle yüksek gerilim ve akım altında anahtarlama geçişlerinde oluşabilecek gerilim ve akım aşımalarını görebilmek için günümüzde güç elektroniği elemanlarının dinamik modelinin oluşturulması elzemdir. IGBT anahtarlama elemanlarının

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: [osman.tanriverdi@tubitak.gov.tr](mailto:osman.tanriverdi@tubitak.gov.tr)

Osman Tanrıverdi  [orcid.org/0000-0002-7234-0456](https://orcid.org/0000-0002-7234-0456)

Deniz Yıldırım  [orcid.org/0000-0001-6216-6290](https://orcid.org/0000-0001-6216-6290)





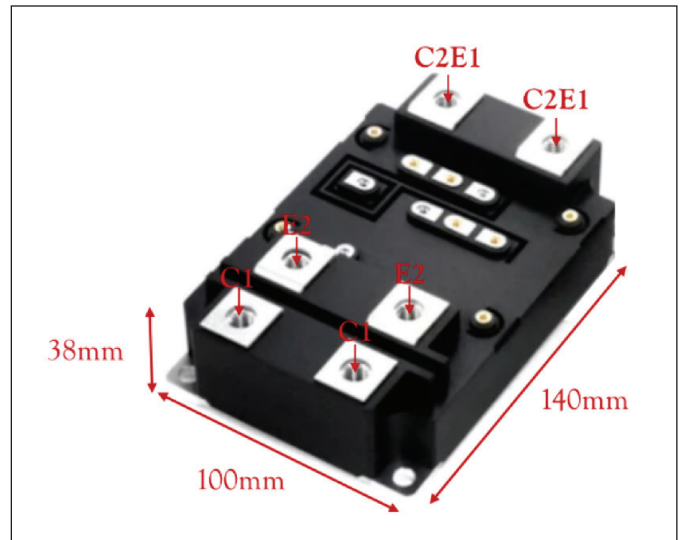
dinamik modeli ile gerçekte sistemin güvenilir aralıkta çalışmasını benzetim programı ile önceden kestirilebilmek mümkündür. Literatürde farklı komplekslikte, farklı IGBT elemanlarının modelleme çalışmaları yapılmıştır (Sheng vd 2000). Bu modelleme çalışmalarının farklılığı, modelin kullanılacağı uygulamaya göre değişmektedir. Çoğu devre benzetim programlarının kendi kütüphanelerinde standart IGBT modeli bulunur. Fakat bu modeller genel IGBT modeli olup, sürekli hal için uygundur. Dinamik (kesime ve iletme girme) geçişlerde gerçek durumdan ciddi anlamda uzak davranırlar. IGBT modelleri genel olarak matematiksel ve davranışsal modeller olarak ikiye ayrılmaktadırlar (Ji vd 2012). Bu çalışmada davranışsal modelleme tekniği bir benzetim programı üzerinden yapılmış, IGBT modülün kapasitif ve endüktif elektriksel parametreleri ile birlikte akım-gerilim-enerji grafikleri girilmiş, detay parametrelerin çıkartılması programa bırakılmıştır. Bu da çalışmanın diğer modelleme tekniklerine göre daha pratik bir yöntem olmasını sağlamıştır. Ayrıca diğer modelleme çalışmalarına göre oluşturulan modelin gerçek model ile deneysel olarak nasıl karşılaştırılacağı basitçe sunulmuş, yüksek güçlü çeviricilerde anahtarlama geçişlerinde önemsenerek kritik akım-gerilim ve zaman bilgileri detaylı verilmiştir.

Bu çalışmanın temel amacı, ürün bilgi dokümanına göre karakterize edilmiş IGBT modelin benzetimdeki davranışı ile gerçek sistemdeki davranışını karşılaştırmaktır. Bu sayede modelde kullanılan IGBT modülün, özellikle anahtarlamanın geçiş anlarında gerçeğe ne kadar yakın olduğu ölçülmüş olur. Çalışmada öncelikle IGBT komponentinin bilgi dokümanı verileri kullanılarak iletme geçiş ve kesime geçiş anlarındaki davranışının parametresel modellenmesi yapılmıştır. Modelleme ve devre benzetimleri için ANSYS Simplorer benzetim programı kullanılmıştır. Bilgi dokümanı grafikleri ve termal veriler adım adım girilmiş ve model oluşturulmuştur. IGBT modelinin gerçeğe ne yönde ve ne kadar yakın olduğunun önemi kullanıldığı uygulamaya göre değişkenlik gösterir. Bu çalışma ile oluşturulan model, güç elektroniği güç çeviricileri tasarımında kullanılarak çeviricinin anahtarlama anında güvenilir bölgede (SOA) çalışıp çalışmadığını gerçek sistemi kurmadan benzetim programı ile önceden anlamaya yeterlidir. IGBT sürücü devresi tasarımı için de bu model kullanılabilir. Özellikle anahtarlama geçişlerindeki dalga biçimlerini gerçeğe yakın görmek, sürücü kontrol algoritmasını yüksek gerilim ve akım altında deneysel çalışmalar öncesinde analiz edebilmeyi elverişli kılar. Fiziksel komponent parametrelerine göre matematiksel modeller oluşturmaya gerek duymaksızın amaca uygun IGBT modeli bu çalışmada gerçekleştirilmiştir.

Bu dinamik model anahtarlama geçiş anlarını görmek için yeterli seviyededir.

Oluşturulan modelin gerçeğe yakınlık derecesine her iki ortamda kurulan çift darbe test devresi ile bakılmıştır. Bunun için gerçekte alınan anahtarlama grafikleri ve bu grafiklerden elde edilen verilerle hesaplanan anahtarlama enerjileri, oluşturulan modelin kullanıldığı benzetim devresinden alınan grafik verileri ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar yüzde sapma şeklinde çizelge ile verilmiştir. Ayrıca, özellikle IGBT kesime geçiş sırasında sistemdeki kaçak endüktanstan dolayı DC baraya yansıyan gerilim sıçramasının miktarı da elde edilen grafiklerle karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmanın bir diğer amacı da Şekil 1'de görülen 2017 yılının ikinci yarısında IGBT üreticilerinin ticari olarak piyasaya sürdüğü yeni paketleme tipinde 3300V 450A çift IGBT'li modüllerin modellenmesi ve deneysel olarak incelenmesidir. Bu çalışmada nHPD<sup>2</sup> ailesi Hitachi marka MBM450FS33F (MBM450FS33F datasheet, 2017) model IGBT için dinamik model kurulup ilk defa piyasaya sürülen bu modüllerin anahtarlama testleri hem deneysel olarak hem de benzetim ortamında gerçekleştirilmiştir. nHPD<sup>2</sup> ailesi bu modüllerin iç yapısındaki silikon ve iletkenlerdeki iyileştirmeler ile birlikte bir takım avantajları bulunmaktadır. Modülün iç endüktansı aynı gerilim sınıfı tekli IGBT modüllere göre %75 azaltılmıştır. Güç yoğunluğu ise yine tekli yüksek güçlü modüllere göre %10 oranında artmıştır. Bu modüller yüksek güçlü çevirici sistemlerinde paralellenebilir modülerlikte kullanılmaya uygundur. Burada; P ve N güç terminallerinin bir tarafta, AC terminalin de fiziksel olarak bu girişlere karşı tarafta olması yapısal anlamda



Şekil 1. Yeni nesil 3300V 450A-600A IGBT modül paketi.

paralellenmesine olanak sağlamaktadır. Ayrıca bu yapı ile birlikte, evirici sistemlerinde DC bara kondansatörleri ve yük bağlantıları kolaylıkla yapılabilmektedir (Kawase vd 2015).

## 2. Gereç ve Yöntemler

### 2.1. Modelleme

IGBT modelleme için ANSYS Simplorer programı ile ürün bilgi dokümanı verileri kullanılarak aktif komponentler modellenmektedir (Oustad vd 2016). Programda 3 farklı IGBT modül seviyesinde modelleme yapılmaktadır: Ortalama IGBT Model, Temel Dinamik IGBT Model ve Geliştirilmiş Dinamik IGBT Model. Ortalama IGBT modelde IGBT statik modelleme yapılabilmekte olup geçiş durumları dinamik olarak modellenmemektedir. Bu çalışmada kullanılan Temel Dinamik model, IGBT anahtarlama geçişlerinin benzetimde görülebildiği dinamik bir modeldir. Bu çalışma kapsamında yeterli olduğu için bu modelleme tipi seçilmiştir. Bu modele IGBT bilgi dokümanında bulunan tüm akım-gerilim ve termal grafiklerin girilebildiği gibi, modül için kapasite ve endüktans bilgileri de parametresel bir girdi olarak kullanılmaktadır.

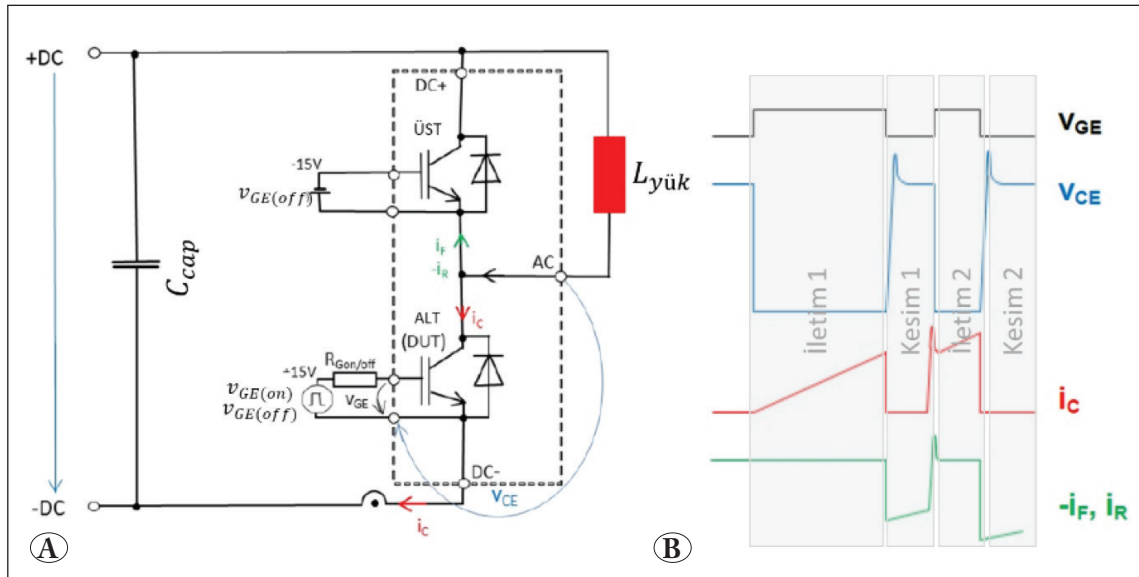
Temel dinamik modelleme 11 basamaktan oluşmaktadır. İlk bölümde IGBT anahtarlama nominal gerilim ve akım değerleri, IGBT kapı gerilim değerleri, IGBT kapı giriş ve Miller kapasite değerleri girilmiştir. İkinci bölümde kollektör-emiter güç terminal direnç ve endüktans değerleri, kapı sürme direnç değerleri girilmiştir. Üçüncü bölümde IGBT bilgi dokümanından  $i_C - v_{GE}$  grafik değerleri, sonraki bölümde  $i_C - v_{CE}$  grafik değerleri girilmiştir.

Beşinci bölümde  $i_F - v_F$  diyot iletimsel grafik değerleri, sonraki bölümlerde ise IGBT ve paralel ters diyotun termal empedans değerleri girilmiştir. Diğer bölümlerde ise program IGBT modülün analitik detay parametrelerini oluşturmaktadır.

### 2.2. Çift Darbe Test Düzenegi

Anahtarlama benzetim ortamında ve deneysel ortamda yapılmıştır. Buna göre dalga şekilleri çıkartılmış ve maksimum noktalar karşılaştırılmıştır. Deneysel testler günümüzde IGBT dinamik davranışlarını nominal gerilim ve akım değerlerinde test etmeye olanak sağlayan ve Şekil 2'de görülen "Çift Darbe Test Devresi" üzerinde yapılmıştır. Bu test metodu ile IGBT'lerin hem kesime geçiş hem de iletme geçiş durumlarında yaşanan değişimler tek bir ölçüm aralığında görülebilmektedir (Musikka vd 2013). Bu değişim durumlarında IGBT'ler nominal gerilim-akım değerlerinde DC bara kondansatörlerinden çekilen enerji ile çalıştırılmış olmaktadır.

Çift darbe test devresinde endüktif yük kullanılır, üst IGBT'nin diyot elemanı endüktif yükün enerjisini alt IGBT kesime girdiğinde kendi üzerinden boşaltır. Alt IGBT elemanı 2 kere iletme ve kesime sokulur. Verilen ilk darbeye kollektör akımı belirli bir  $i_C$  değerine erişir. Sisteme bağlanan yükün endüktans değeri alt IGBT kesim durumunda akımın fazla değişmemesi için yeterince büyük olmalıdır. İkinci darbe PWM işareti ile alt IGBT ikinci kez iletme girer. İletime girdiği anda ilk etapta sistemden üst IGBT diyotundan dolayı tersine toparlama akımı akar. Bunun nedeni, iki darbe arası kesim esnasında üst IGBT



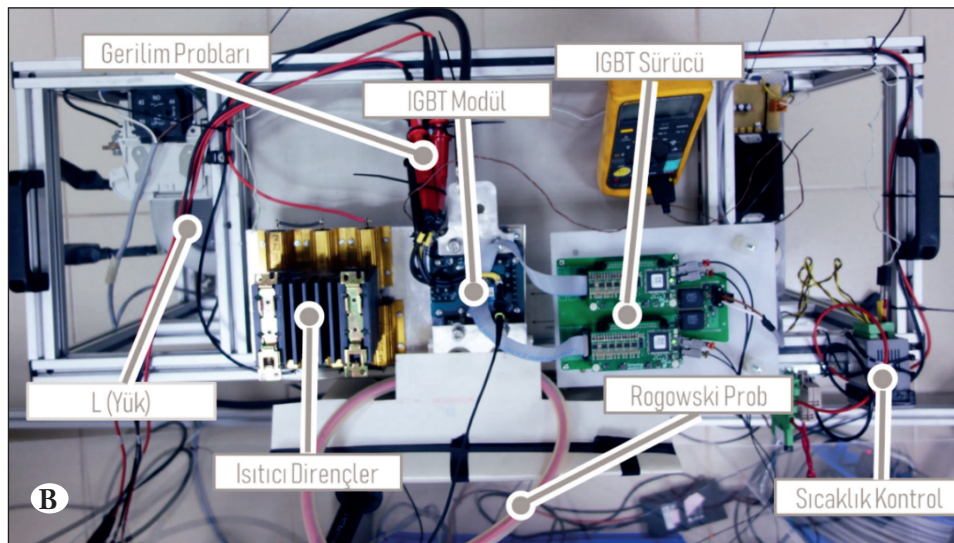
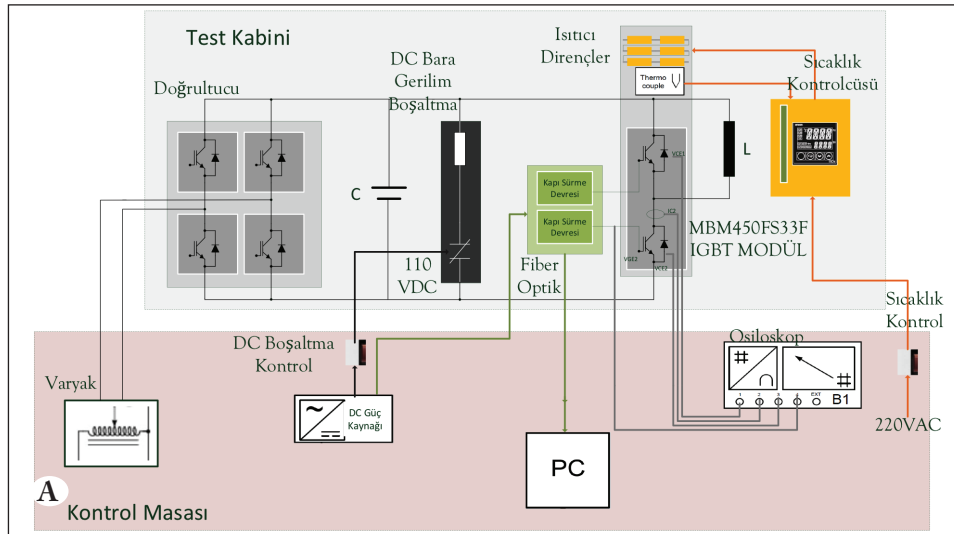
Şekil 2. IGBT çift darbe test devresi  
A) Devre şeması  
B) Çift darbe dalga şekilleri.

diyotu endüktif yükün enerjisini iletim yönünde tükettiği, yani iletim yönünde akım akıttığı, ikinci darbe ile kesime gitmesi gerektiği noktada ters toparlanma akımının DC pozitif-negatif yönünde akım akıtmasıdır. Ters toparlanma bittiği anda akım sıfırdan değil ilk darbeye akımın yükseldiği noktadan tekrar akmaya başlayarak yükün endüktans değerine ve iletim süresine bağlı olarak artış gösterir. İkinci gerilim darbesi sonunda IGBT kesime gittiği sırada sistemdeki endüktif etkiden dolayı alt IGBT kollektör-emiter geriliminde ( $V_{CE2}$ ) aşım görülür.

Bu çalışma için kurulan test düzeneği Şekil 3A'da görüldüğü üzere 2 ayrı bölümden oluşmaktadır: 1) Test kabini 2) Kontrol masası. İlgili beslemeler ve kontrol birimleri yüksek gerilimin olduğu test kabininden izole şekilde konumlandırılmıştır. Deney düzeneği için hazırlanan çift darbe test güç katı Şekil 3B'de detayları ile verilmiştir. DC

bara gerilimi bir varyak ile doğrultucu üzerinden DC bara kondansatörünü doldurmak suretiyle oluşturulmaktadır. Doğrultucu biriminde IGBT modüllerin paralel diyotları kullanılmıştır. Testi yapılan IGBT modülü DC bara kondansatörüne geniş sandviç bara ile bağlanmıştır. DC bara geriliminin kondansatör üzerinden kısa zamanda boşalması için direnç ile kontaktör seri bir şekilde baraya bağlanmış olup kontrolü bir buton yardımıyla 110VDC güç kaynağı üzerinden yapılmaktadır. IGBT anahtarlama elemanını istenilen sıcaklıkta test edebilmek için sıcaklık şartlandırma devresi de sisteme entegre edilmiştir. Kullanılan tüm elemanlar Çizelge 1'de listelenmiştir.

Deneysel çalışmada IGBT anahtarlama elemanı, 25 derece ve 125 derecede Amantys marka ZP33NP1 model IGBT sürücüsü ile anahtarlansmıştır. Bunun için IGBT modülü soğutucu plakaya ısıtıcı dirençler ile bağlanmıştır.



**Şekil 3.** Çift darbe test güç katı düzeneği  
A) Blok şema  
B) Deneysel ortam.



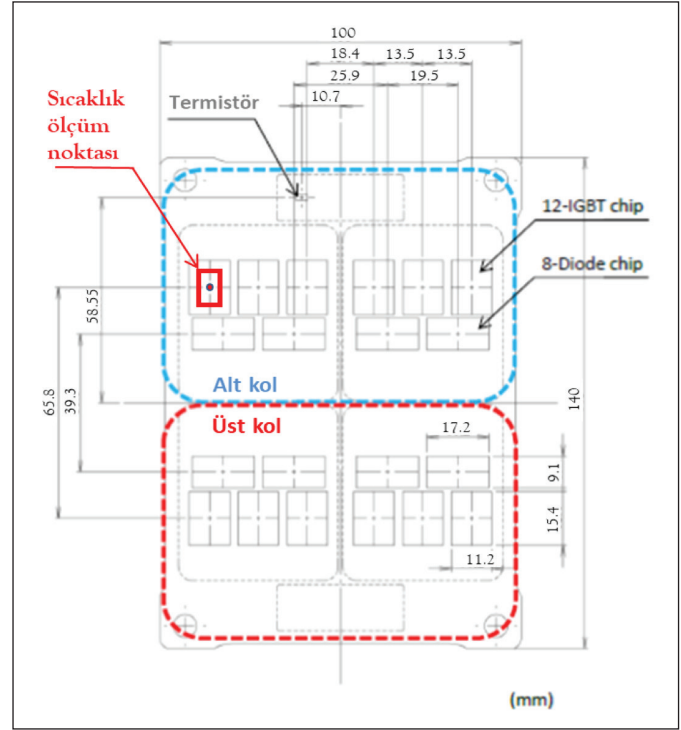
Sıcaklık şartlandırılmış, IGBT tabanı kontrollü şekilde 125 dereceye ısıtılmıştır. Buna göre bir adet sıcaklık kontrolcüsü yardımıyla ısıtıcı dirençler kullanılarak IGBT'nin tabanının bağlanmış olduğu alüminyum plaka kontrollü bir şekilde ısıtılmaktadır. Alüminyum plakada ısıtıcı dirençlerin altına bağlanan termokupl yardımıyla istenen sıcaklık değerinde sabit tutulmaktadır. IGBT sıcaklığı ise ayrı bir sıcaklık probu ile ölçü aleti üzerinden okunmaktadır.

IGBT modülün ısıtılmasında kritik nokta modül içi çip bölgesine en yakın noktanın tespiti, yani o noktanın sıcaklığının bilinmesidir. MBM450FS33F IGBT modül içerisinde 12 adet IGBT çip, 8 adet de diyot çip bulunmaktadır. Şekil 4'de modül içerisindeki çiplerin yerleşimi görülmektedir. Modül içerisindeki IGBT çiplerinin kırmızı kare içine alınmış olan birimin altından sıcaklık ölçülmüştür.

Dinamik modelin IGBT iletim ve kesime geçiş durumlarını analiz edebilmek için Şekil 5A'daki çift darbe test devresi oluşturulmuştur. Benzetim ortamında kurulan devrede kapı dirençleri gerçekte olduğu gibi iletim ve kesim için iki ayrı direnç şeklinde eklenmiştir. Kapı gerilimi ve sürme dirençleri IGBT dokümanında verilen değerlerde benzetime girilmiştir. Sistemdeki endüktif yük seri endüktör ( $L_{yük}$ ) ve direnci ( $R_{yük}$ ) şeklinde modellenmiştir. Gerilim ise çift darbe testinde yapıldığı üzere iki darbe şeklinde verilmiştir.

Çift darbe test sisteminde kaçak endüktans 5 ayrı endüktör kaynaklı oluşmaktadır: DC bara kondansatörü iç endüktörü

( $L_{cap}$ ), sistem (+) bara endüktörü ( $L_{poz}$ ), sistem (-) bara endüktörü ( $L_{neg}$ ), üst IGBT endüktörü  $L_{IGBT1}$ , alt IGBT endüktörü  $L_{IGBT2}$ . Bara endüktör yolları Şekil 5B'de görülmektedir.



Şekil 4. MBM450FS33F IGBT modül içi çip yerleşimi (Üretici firmadan özel alınmıştır).

**Çizelge 1.** Çift darbe test düzeneği malzeme listesi (Test Kabini (1), Kontrol Masası (2)).

Malzeme/Ekipman	Model/Ürün Kodu
Doğrultucu (1)	4 adet MBN1500E33E2 IGBT modülü
DC Bara Kondansatörü (1) (1)	Electronicon E56.N37-465790, 4600 $\mu$ F 2000VDC
IGBT (1)	Hitachi MBM450FS33F, 3300V 450A
IGBT Sürücü (1)	Amantys ZP33NP1 model sürücü
Yük Bobini (1)	100uH 3000A/5ms
DC Boşaltma Kontaktörü (1)	Microelectrica Scientifica LTC 250, 1500VDC 250A
DC Boşaltma Direnci (1)	Tyco Electronics, 22ohm 1kW
Isıtma Dirençleri (1)	Arcol, 10ohm 100W
Sıcaklık Kontrolcüsü (1)	ENDA ETC 442
Gerilim Probu (1)	Tektronix THDP0100
Rogowski Akım Probu (1)	PEM CWT 30R
Varyak (2)	0-220VAC/0-2800VAC
Multimetre (2)	Fluke 87V
Osiloskop (2)	Tektronix MSO 4104
Güç Kaynağı (2)	GWInstek SPD-3606



$$L_{kaçak} = L_{poz} + L_{IGBT1} + L_{IGBT2} + L_{neg} + L_{cap} \quad (1)$$

Sistemde bulunan kaçak endüktans, deneysel olarak IGBT iletim ya da kesime geçiş esnasındaki grafiklerinden hesaplanabilmektedir (Volke ve Hornkamp 2015). Burada kesime geçiş anındaki anahtarlama dalga şekillerinden hesaplama yapılmıştır. Anahtarlama testi sonucunda hesaplanan endüktans, kapama anındaki alt IGBT kollektör-emiter gerilim sıçraması ve alt IGBT kollektör akımı değişimi kullanılarak hesaplanmıştır.

Alt IGBT uçları üzerinden gerilim sıçraması görmek DC baradaki gerilim sıçramasını görmekten daha sağlıklı bir ölçümdür. Çünkü ölçümlere göre IGBT üzerindeki gerilim sıçramasının değeri DC baradaki gerilim sıçramasının

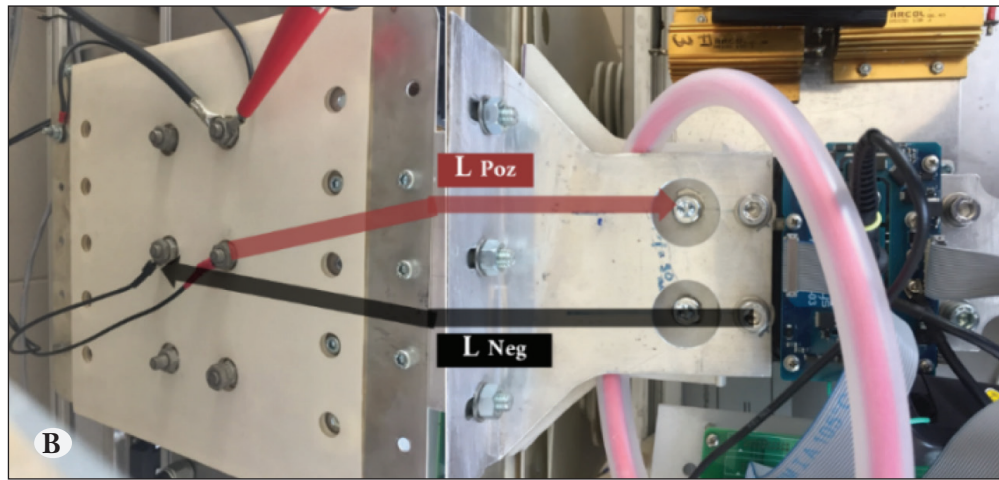
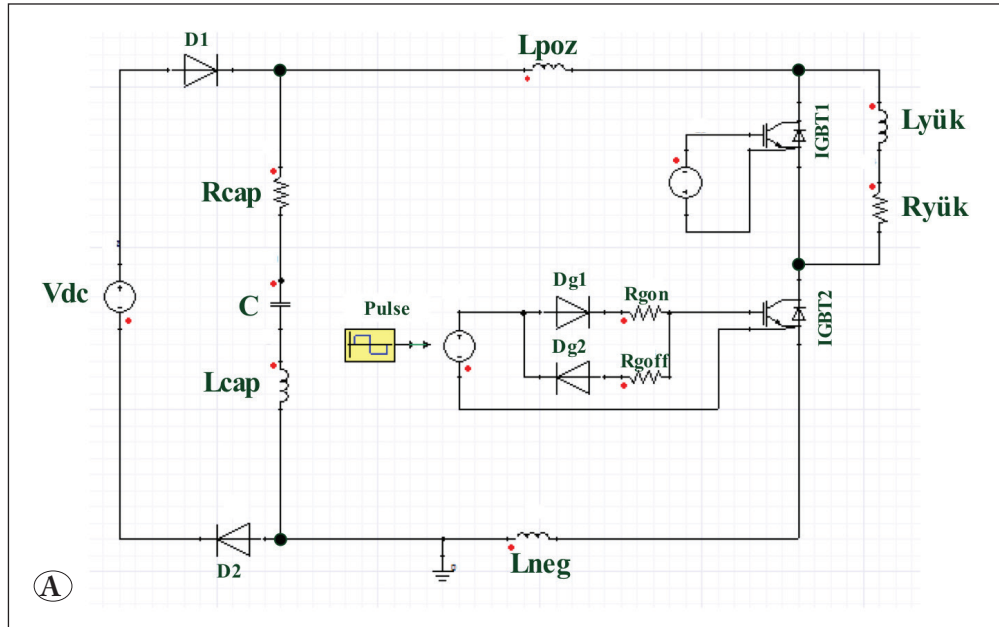
yaklaşık 2 katıdır. Sistemin endüktansı aşağıdaki Denklem 2 yardımıyla hesaplanmıştır. Burada “ $L$ ” endüktans, “ $v_{CE}$ ” IGBT<sub>2</sub> kollektör-emiter gerilimindeki anlık yükselme ve “ $d_j/dt$ ” IGBT<sub>2</sub> kollektör akımının zamanla değişimidir.

$$v_{CE} = L \times di_c/dt$$

$$220V = L \times \frac{358A}{148ns} \quad (2)$$

$$L_{kaçak} = 90nH$$

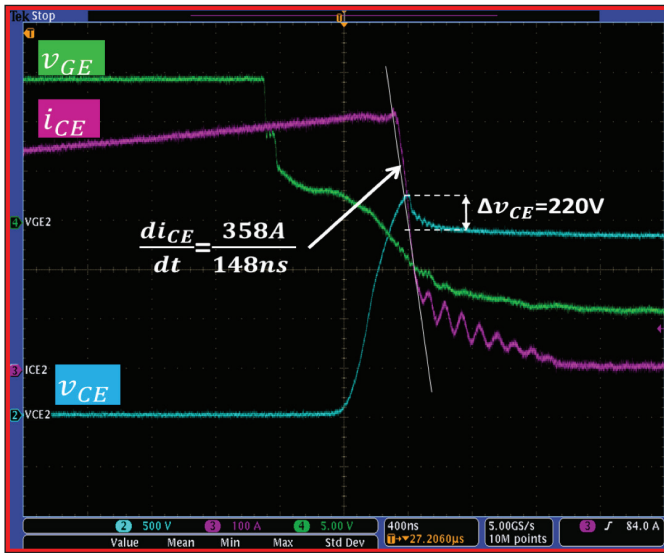
Buna göre deneysel çalışmalardan alınan Şekil 6'deki dalga şekilleri üzerinden yapılan hesaplamalarda kaçak endüktansın yaklaşık  $90nH$  olduğu görülmüştür ve benzetimde bu değer toplamda  $90nH$  olarak Şekil 5'de



Şekil 5. A) Benzetim ortamında kurulan çift darbe test devresi (B) Bara endüktör yolları.

**Çizelge 2.** Çift darbe testi güç elemanları elektriksel parametreleri.

Parametre	Değer
$R_{cap}$	500 $\mu\Omega$
$L_{kaçak}$	90nH
$C_{cap}$	4600 $\mu$ F
$L_{yük}$	100 $\mu$ H
$R_{yük}$	2m $\Omega$
$V_{dc}$	1800V



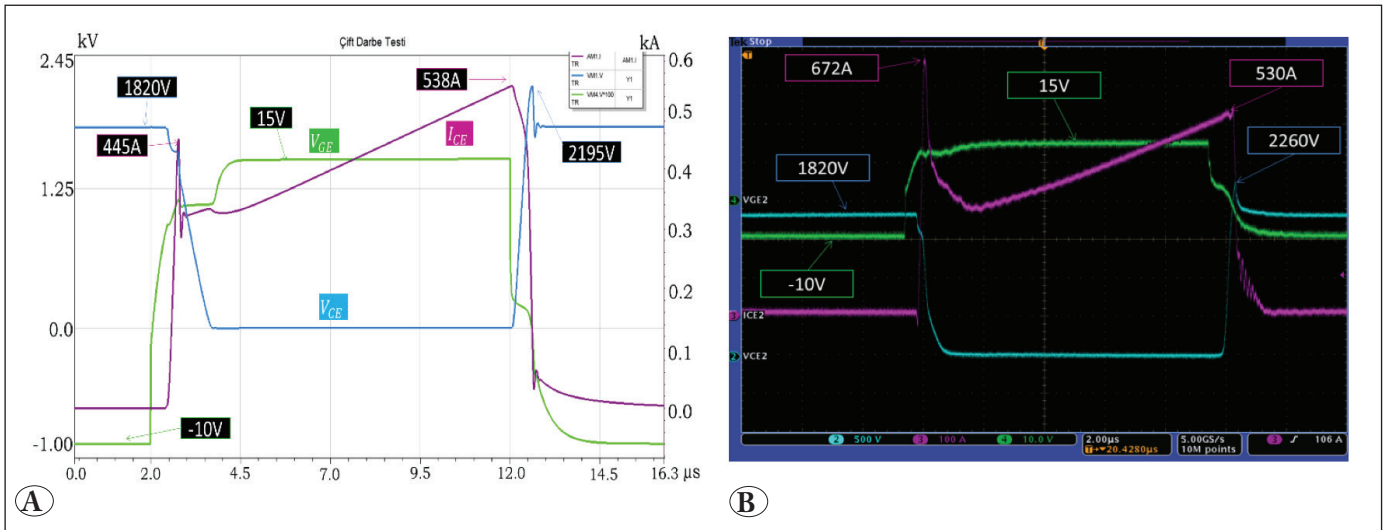
**Şekil 6.** Deneysel ortamda IGBT kesime geçiş anında dalga şekilleri (DC bara gerilimi  $V_{DC}=1800V$ , Kollektör akımı  $I_C=450A$ , Kapı direnci  $R_g=12\text{ ohm}$ ).

benzetim devresindeki endüktörlere girilmiştir. Devrede kullanılan güç elemanlarının elektriksel parametreleri Çizelge 2'de verilmiştir.

### 3. Bulgular

IGBT dinamik modelleme ile IGBT elemanının anahtarlama geçiş anlarında gerçek sisteme yakın sonuçlar çıkarması beklenmektedir. Bunun için dalga şekilleri her iki ortamda da incelenmiştir. Modelin doğruluk yakınsaması için ilk kriter anahtarlama geçiş anlarında IGBT akım ve gerilim aşım değerlerinin deneysel ve benzetim ortamlarında birbirine yakın çıkmasıdır. IGBT iletme geçiş esnasında IGBT paralel diyotu ters toparlanmasından dolayı oluşan akım aşımı ve IGBT kesime geçiş esnasında sistem kaçak endüktanstan dolayı oluşan gerilim aşımı bahsi geçen elektriksel zorlanma faktörleridir. Burada kesime geçiş esnasında oluşan gerilim aşımı sistemde daha kritik problemler doğurabilmektedir. Bu yüzden akım aşımına göre daha fazla öneme sahiptir. Güç elektroniği güç çeviricilerinde DC baraya bağlı olan bara kondansatörleri belirli bir gerilim dayanımına sahiptir. Bu sistemlerde en büyük arıza oranı olan komponent bara kondansatörleri olduğundan (Choi vd 2015), gerilim sıçramasının tepe değeri kondansatörlerin zarar görmemesi açısından önem arz etmektedir.

Her iki durumdaki çalışmada da Şekil 7'de görüldüğü gibi özellikle IGBT kesime geçiş durumunda akım ve gerilim tepe değerleri birbirine çok yakındır. Akım ve gerilim grafiklerine bakıldığında, IGBT kesim durumunda testlerde



**Şekil 7.** IGBT 2. anahtarlama darbesi dalga şekilleri (mavi: Kolektör-emiter gerilimi ( $V_{CE}$ ), mor: Kolektör akımı ( $I_{CE}$ ), yeşil: Kapı gerilimi ( $V_{GE}$ )) **A**) Benzetim ortamında dalga şekli **B**) Deneysel ortamda dalga şekli.

gerilim **2260V**'a çıkarken, benzetimde **2195V**'a kadar aşım yapmıştır. Bu da yaklaşık %3'lük bir fark olduğunu gösterir. Bu fark esnasında benzetim esnasında yapılacak algoritmanın IGBT'nin güvenli bölgede çalışıp çalışmadığı konusunda bize gerçek çalışmaya göre çok yakın sonuç vermektedir. Bunun dışında, IGBT iletim esnasında üst IGBT'nin ters toparlanma akımından dolayı aşım yapan kollektör akımının tepe değeri gerçek testlerde **670A** iken benzetim sonuçlarında **455A** olarak görülmüştür. Bunun nedeninin de IGBT üzerindeki diyotun modellemeye yalnızca  $i_F - v_F$  grafiğinin girilebildiği, dinamik davranışının modellenmesinde benzetim programının performansının düşük olmasıdır.

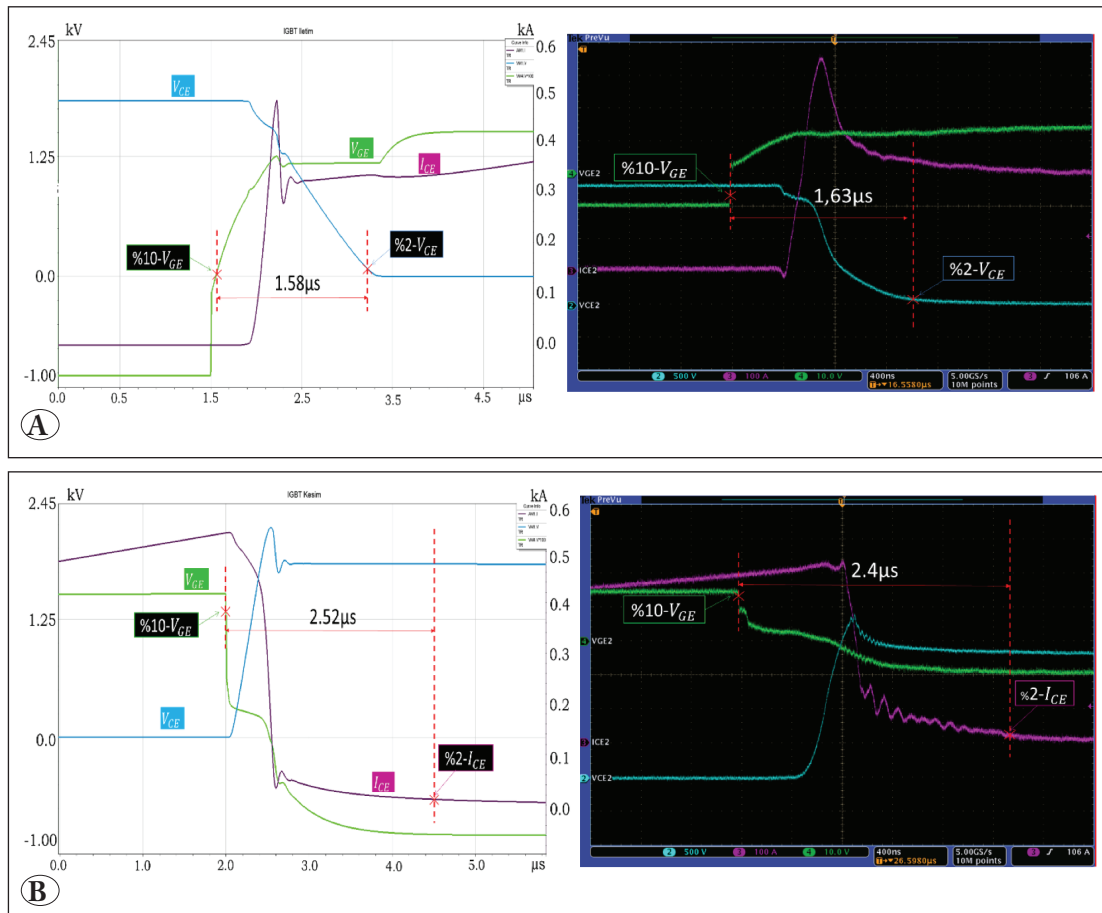
Anahtarlama ölçümlerinde enerji hesaplamaları IEC 60747-9 standardına göre Denklem 3'deki kayıp hesaplarıyla yapılmaktadır (IEC 60747-9:2007, AN1403 Semikron App. Note). Bu standarda göre enerji integral limitleri akım-gerilim büyüklüklerinin belirli yüzdeleridir.

$$E_{on} = \int_{t_1}^{t_2} v_{CE}(t) \cdot i_C(t) dt \quad E_{off} = \int_{t_3}^{t_4} v_{CE}(t) \cdot i_C(t) dt \quad (3)$$

İntegral limitleri iletim geçişi için  $t_1, v_{GE(on)}$ 'un %10'u,  $t_2, v_{GE(on)}$ 'un %2'si, kesime geçiş için  $t_3, v_{GE(off)}$ 'un %90'ı,  $t_4, i_{C(on)}$ 'un %2'si olarak alınır.

IGBT iletim ve kesim durumlarında deneysel çalışma ve benzetim çalışmasında grafiklerden enerji kayıpları hesaplamak için yukarıdaki standarda göre zaman aralıkları belirlenmiştir. Buna göre Şekil 8'de görüldüğü üzere iletime ve kesime geçiş süreleri yaklaşık aynı çıkmıştır. Çizelge 3'de verilen bu sonuçlara göre her iki ortamda IGBT anahtarlama kayıp hesaplarının karşılaştırması yapılabileceği görülmektedir.

IGBT benzetim modelinin doğrulanması için bir diğer kriter de anahtarlama geçişleri esnasındaki enerji kayıp hesaplarının karşılaştırılmasıdır. Enerji hesapları, IGBT iletime ve kesime geçiş aralıklarında 25 ve 125 °C sıcaklıkları için 1800VDC  $v_{CE}$  gerilimi ve 100-500A  $i_C$  akım kademelerinde anahtarlama dalga şekilleri üzerinden yapılmıştır. Bunun için benzetim ve deneysel ortamlarda elde edilen dalga şekilleri kullanılarak IEC 60747-9:2007 standardında verilen zaman aralıkları içerisinde ".csv"



**Şekil 8.** IGBT benzetim ve deneysel ortamda dalga şekilleri. (mavi: Kolektör-emiter gerilimi ( $V_{CE}$ ), mor: Kolektör akımı ( $i_C$ ), yeşil: Kapı gerilimi ( $V_{GE}$ )) **A)** İletime geçiş anında **B)** Kesime geçiş anında.

dosyası ile 10000 ölçüm verisi alınmıştır. Gerilim ve akım değerleri çarpılmış, enerji hesabı için standarda göre belirlenen integral limitleri baz alınmıştır.

Deneysel verilerde kollektör akımını ölçmek için kullanılan Rogowski akım probunun bir gecikmesi mevcuttur. CWT 30R akım probunun kablo uzunluğu 4 m, bobin uzunluğu ise 70 cm'dir. Akım probunun yüksek frekans Bode diyagramı üzerinden görülen yüksek frekansta 40ns'lik bir faz kayması oluşmaktadır ve bu gecikme hesaplara katılmıştır (CWT Technical Note 2011). Buna göre enerji hesapları ve iki farklı ortamın sonuçlarındaki hata yüzdeleri Çizelge 4'deki gibi çıkarılmıştır. Şekil 9'da ise akıma bağlı enerji kayıpları farklı sıcaklıklarda grafiksel olarak verilmiştir.

Görüldüğü gibi nominal çalışma koşullarından düşük güç yönünde uzaklaştıkça hata payı büyümektedir. Fakat önemli olan IGBT anahtarlama elemanının sınır çalışma değerlerinde benzetim ve deneysel verilerin yakınsadığının görülmesidir. Sistemin güvenli bölgede çalışması bu bölgeler için kritiktir. Bununla birlikte IGBT kesime geçiş durumunda gerçek ölçümlerde akımın belirli bir değerden sonra daha yavaş sönümlenmesinden dolayı  $E_{off}$  enerji kayıpları benzetimdekinden daha yüksek çıkmıştır.

#### 4. Tartışma

Bu çalışmada yüksek güçlü bir IGBT modülün benzetim

**Çizelge 3.** IGBT iletme ve kesime geçiş süreleri.

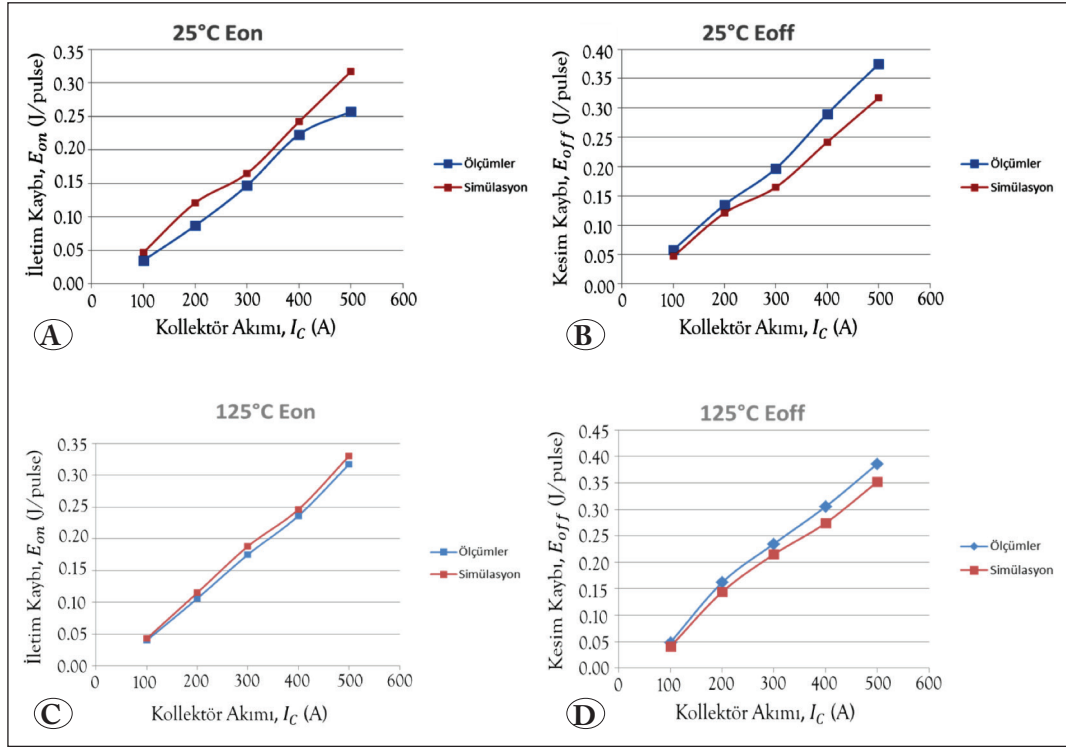
İletme Geçiş Süresi Değer		Kesime Geçiş Süresi	
Benzetim	Deney	Benzetim	Deney
1.58 $\mu$ s	1.63 $\mu$ s	2.52 $\mu$ s	2.4 $\mu$ s

**Çizelge 4.** IGBT kayıpları ölçüm sonuçları.

Çalışma Koşulları			Deneysel		Benzetim		Hata Yüzdesi	
$T_j$ [°C]	$i_C$ [A]	$v_{CE}$ [V]	$E_{on}$ [J/pulse]	$E_{off}$ [J/pulse]	$E_{on}$ [J/pulse]	$E_{off}$ [J/pulse]	$E_{on}$ [%]	$E_{off}$ [%]
125	500	1800	0.317	0.386	0.33	0.352	3.94	9.66
125	400	1800	0.236	0.305	0.246	0.274	4.07	11.31
125	300	1800	0.175	0.235	0.188	0.215	6.91	9.30
125	200	1800	0.106	0.162	0.115	0.144	7.83	12.50
125	100	1800	0.04	0.049	0.043	0.041	6.98	19.51
25	500	1800	0.257	0.375	0.285	0.317	9.82	18.30
25	400	1800	0.223	0.29	0.218	0.242	2.29	19.83
25	300	1800	0.147	0.197	0.133	0.165	10.53	19.39
25	200	1800	0.087	0.135	0.096	0.121	9.38	11.57
25	100	1800	0.035	0.058	0.04	0.047	12.50	23.40

programında dinamik modeli oluşturulmuştur. Bu dinamik modeli oluşturmak için ANSYS Simplorer benzetim programı kullanılmıştır. Dinamik model, IGBT'nin iletme ve kesime geçiş anlarında gerçeğe yakın sonuç verebilecek doğrulukta ve yeterliliktedir. Literatürde IGBT modelleme ile alakalı birçok çalışma mevcuttur (Azar vd 2004, Bryant vd 2008, Duan vd 2018, Haddi vd 1998, Ji vd 2015, Liv d 2018, Ma vd 2020, Meng vd 2017, Nawaz vd 2013, Song vd 2020, Sfakianis vd 2014, Xue vd 2017). Bu çalışmalar, IGBT'nin fiziksel ve matematiksel eşitliklerle oluşturulan modeller olup farklı benzetim ve matematiksel ortamlarda gerçekleştirilmektedir. Bu modeller genel olarak analitik modeller olup yarı iletken fiziğine dayanırlar. Analitik modellemelerde IGBT yarı iletken anahtarın fizik tabanlı matematiksel eşitlikleri farklı yakınsama ve kabullerle farklı uygulamalar için çözümler (Baliga 2011, Clemente vd 1993, Hefner ve Diebolt 1994, Hefner 1995, Saadeh vd 2012). Fakat bu modelleme teknikleri, bu çalışma ile oluşturulan dinamik modele göre daha karmaşık eşitlik ve parametre girdisi gerektirmektedir. Bu çalışmada IGBT modeli oluşturma ANSYS ile daha basit çözüm sunabilmektedir. Çünkü daha üst seviye ve daha pratik bir teknik uygulanmaktadır. IGBT bilgi dokümanı üzerinden girilen R-L-C değerleri ve grafikler sonrası IGBT modülün detay parametrelerinin çıkartılması işini program yapmaktadır. Oluşturulan benzetim modelinin doğruluğunun deneysel çalışma ile karşılaştırması ve bu sayede modelin doğrulanma yöntemi de literatürdeki çoğu IGBT modelleme çalışmalarından farklı ek olarak verilmektedir. Çalışmanın amacı; oluşturulan bu modelin iletme ve kesime geçiş zamanlarında gerçek modül ile dinamik davranışta yakınlığını ölçmektir. Bunun için deneysel





Şekil 9. 25°C ve 125°C'de kolektör akımına göre anahtarlama kayıpları.  
 A) 25°C iletim esnasında  
 B) 25°C kesim esnasında  
 C) 125°C iletim esnasında  
 D) 125°C kesim esnasında.

ortamda ve benzetim ortamında farklı akım kademelerinde IGBT modülü çift darbe test düzeneğinde anahtarlama, gerilim-akım tepe değerleri karşılaştırılmıştır. Enerji kayıpları da model ile gerçek modül benzerliği arasındaki bir diğer parametredir. Enerji hesapları IEC 60747-9:2007 standardında verilen sınır değerler baz alınarak hem deneysel ortamda hem de benzetim ortamından alınan veriler ile hesaplanmıştır. Sonuç olarak, IGBT modeli benzetim ortamında gerçeğe yakın referans olacak değerler vermiştir. Bu durum, IGBT modülün nominal çalışma değerlerinde gerçek ortamda anahtarlama öncesi benzetim ortamında da sistemin güvenli bölgede çalışıldığı konusunda gerçeğe çok yakın bilgi vermesini sağlayacaktır. IGBT üreticilerin 2017 yılında yeni piyasaya çıkarmaya başladıkları yüksek güçlü çift IGBT'li 3300V 450A modül için modelleme yapılmasıyla birlikte, çalışma ayrı bir öneme sahip olmuştur.

## 5. Kaynaklar

- Azar, R., Udrea F., De Silva, M., Amaratunga, G. ve Dawson, F. 2002. Advanced SPICE Modelling of Large Power IGBT Modules, *IEEE Trans. Ind. App. Con. 37th*, 40(3), doi: 10.1109/IAS.2002.1042786.
- Baliga, B. J. 2011. Advanced High Voltage Power Device Concepts. NewYork: Springer-Verlag, Ch. 7, pp. 293–383.
- Bryant, A., Lu, L., Santi, E., Hudgins, J. L. ve Palmer, P. R. 2008. Modeling of IGBT Resistive and Inductive Turn-On Behavior, *IEEE Trans. Ind. App.* 44(3), 904-914. doi: 10.1109/TIA.2008.921384.
- Choi, U., Blaabjerg, F. ve Lee, K. 2015. Study and Handling Methods of Power IGBT Module Failures in Power Electronic Converter Systems. *IEEE Trans. on Pow. Elec.* 30(5), 2517-2533. doi: 10.1109/TPEL.2014.2373390
- Clemente, S. M. ve Dapkus, D. A. 1993. IGBT models account for switching and conduction losses. *Power Conv. Intell. Motion*, 19(8), 51–54.
- Duan, Y., Xiao, F., Luo, Y. ve Iannuzzo, F. 2019. A Lumped-Charge Approach Based Physical SPICE-Model for High Power Soft-Punch Through IGBT. *IEEE J. Emer. Sel. Top Pow. Elec.* 7(1), 62-70. doi: 10.1109/JESTPE.2018.2874105.
- Haddi, A., Maquad, A., Elmazria, O. ve Hoffmann, A. 1998. A Simplified Spice Model For IGBT, *Act. Pass. Elec. Comp.*, 21(3), 279–292, doi.org/10.1155/1998/89240.
- Hefner, A. R. Jr. ve Diebolt, D. M. 1994. An Experimentally Verified IGBT Model Implemented in the Saber Circuit Simulator, *IEEE Trans. Pow. Elec.* 9(5), 532 – 542, doi:10.1109/63.321038.
- Hefner, A. R. Jr. 1995. Modeling Buffer Layer IGBTs for Circuit Simulation, *IEEE Trans. Pow. Elec.* 10(2), 111 – 123, doi:10.1109/63.372596.

- Ji, S., Lu, T., Zhao, Z., Fujihira, T. ve Igarashi, S. 2015.** Physical Model with Parameter Extraction Method for Fuji Electric 1.7kV IGBT. *18th Int. Conf. Elec. Mach. Syst. (ICEMS)*. doi: 10.1109/ICEMS.2015.7385103.
- Ji, S., Lu, T., Zhao, Z., Yuan, L. 2012.** Modelling of high voltage IGBT with easy parameter extraction. *7th Int. Pow. Elec. and Motion Cont. Conf.* doi: 10.1109/IPEMC.2012.6258985.
- Kawase, D., Inaba, M., Horiuchi, K. ve Saito, K. 2015.** High voltage module with low internal inductance for next chip generation - next High Power Density Dual (nHPD2). *Int. Exh. and Conf. for Pow. Elec. Intel. Motion, Rene. Ener. and Ener. Man., PCIM Europe*.
- Li, X., Luo, Y., Duan, Y., Liu, B., Huang, Y. Ve Sun, F. 2018.** Stray Inductance Extraction of High-Power IGBT Dynamic Test Platform and Verification of Physical Model. *IEEE Int. Pow. Elec. App. Conf. Exp. (PEAC)*. doi: 10.1109/PEAC.2018.8590475.
- Ma, T., Jia, Y. ve Luo, Y. 2020.** Physical Model of FS-IGBT Considering Dynamic Avalanche Electrical Characteristics and Analysis of Chip Non-uniform Stress, *IEEE Int. Conf. Inf. Tech. Big Data Artif. Intel. (ICIBA)*, doi: 10.1109/ICIBA50161.2020.9277207.
- Meng, J., Ning, P., Wen, X. ve Li, L. 2017.** A finite difference method modeling for IGBT and diode in PSPICE. *Chinese J. Elec. Eng.* 3(3), 85-93. doi: 10.23919/CJEE.2017.8250428.
- Musikka, T., Popova, L., Juntunen, R., Lohtander, M., Silventoinen, P., Pyrhönen, O., Pyrhönen, J. ve Maula, K. 2013.** Improvement of IGBT Model Characterization with Experimental Tests, *15th Euro. Conf. Pow. Elec. App. (EPE)*. doi: 10.1109/EPE.2013.6631841.
- Nawaz, M., Chimento, F., Mora, N. ve Zammoni, M. 2013.** Simple Spice Based Modeling Platform for 4.5 kV Power IGBT Modules, *IEEE En. Conv. Cong. Exp.* doi:10.1109/ECCE.2013.6646712.
- Nicolai, U. 2014.** AN 1403: Determining switching losses of SEMIKRON IGBT modules, Revision 00, Semikron.
- Oustad, D., Lefebre, S., Petit, M., Lhotellier, D. ve Ameziane, M. 2016.** Comparison of modeling switching losses of an IGBT based on the datasheet and an experimentation, *18th Euro. Conf. Pow. Elec. App. (EPE'16 ECCE Europe)*. doi: 10.1109/EPE.2016.7695494.
- Saadeh, M., Mantooth, H. A., Balda, J. C., Hudgins, J.L., Santi, E., Ryu, S. Ve Agarwall, A. 2012.** A unified silicon/silicon carbide IGBT model. *27. Ann. IEEE Appl. Pow. Elec. Conf. and Exp. (APEC)*, doi: 10.1109/APEC.2012.6166055.
- Sfakianis, G., Nawaz, M. ve Chimento, F. 2014.** A Temperature Dependent Simple Spice Based Modeling Platform for Power IGBT Modules, *En. Conv. Cong. Exp. (ECCE), IEEE*. doi: 10.1109/ECCE.2014.6953788.
- Sheng, K., Williams, B. W. ve Finney, S. J. 2000.** A Review of IGBT Models, *IEEE Trans. Pow. Elec.*, 15(6), 1250 – 1266, doi: 10.1109/63.892840.
- Song, P., Zang, L., Zou, L., Zhao, T. ve Sun, Y. 2020.** An Improved Transient Model of High Voltage IGBT Based on Vector Fitting. *IEEE Int. Conf. High Vol. Eng. App. (ICHVE)*, doi: 10.1109/ICHVE49031.2020.9279756.
- Volke, A. ve Hornkamp, M. 2015.** Infineon, Second Edition, IGBT Modules, Technologies, Driver and Application, 534 pp.
- Xue, P., Fu, G. Ve Zhang, D. 2017.** Modeling Inductive Switching Characteristics of High-Speed Buffer Layer IGBT. *IEEE Trans. Pow. Elec.*, 32(4), 3075 – 3087. doi: 10.1109/TPEL.2016.2570838.
- CWT Technical Notes. 2011.** Power Electronic Measurements Ltd. <https://gmw.com/wp-content/uploads/2019/06/CWT-Technical-notes-HF-and-Rise-time-01A.pdf>.
- IEC 60747-9. 2007** Semiconductor devices - Discrete devices - Part 9: Insulated-gate bipolar transistors (IGBTs).
- MBM450FS33F IGBT Module datasheet. 2017.** Hitachi Semiconductor, [https://www.hitachi-power-semiconductor-device.co.jp/products/igbt/pdf/IGBT-SP-14035R5\\_MBM450FS33F\\_web.pdf](https://www.hitachi-power-semiconductor-device.co.jp/products/igbt/pdf/IGBT-SP-14035R5_MBM450FS33F_web.pdf).
- Application Note. 2015.** Measuring Method of Stray Inductance for Inverter Circuit. Hitachi Semiconductor, [https://www.hitachi-power-semiconductor-device.co.jp/en/products/igbt/pdf/stray\\_inductance.pdf](https://www.hitachi-power-semiconductor-device.co.jp/en/products/igbt/pdf/stray_inductance.pdf).



## Determination of Total Phenol Contents, Antibacterial and Antioxidant Activity of Some Mosses Species

*Bazı Yosun Türlerinin Toplam Fenol İçeriklerinin, Antibakteriyel ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi*

Şükran Öztürk<sup>1\*</sup> , Yasin Hazer<sup>2</sup> , Banu Kaşkatepe<sup>3</sup> , Muhammet Ören<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Zonguldak Bulent Ecevit University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Zonguldak, Turkey

<sup>2</sup>Zonguldak Bulent Ecevit University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botanical, Zonguldak, Turkey

<sup>3</sup>Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Ankara Turkey

<sup>4</sup>Zonguldak Bulent Ecevit University, Faculty of Science, Department of Biology, Zonguldak, Turkey

### Abstract

The aim of this study were to determine total phenol contents, antibacterial and antioxidant activity of bryophyte species including *Plasteurhynchium striatum* (Spruce) M. Fleisch, *Palamocladium euchloron* (Bruch ex Müll. Hal.) Wijk & Margad. and *Cratoneuron filicinum* (Hedw.) Spruce and *Campyliadelphus chrysophylus* (Brid.) R.S. Chopra. Antibacterial activity of methanolic, ethanolic, chloroform, acetone and water extracts of these species was determined by microdilution method. Antioxidant activity of these species was evaluated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical-scavenging ability. The total phenol content of these species was determined quantitatively using the folin ciocalteu reagent, with gallic acid equivalents as the standard.

The highest DPPH free radical scavenging activity was observed in about 65% *C. filicinum*. Total phenolic content of *P. euchloron* was determined the highest extract value of 0,027±0,002 mg/g. The methanol extract of bryophytes was found to have significant antioxidant activity and phenolic contents. Antibacterial effect of the extracts was not observed against the tested microorganisms.

**Keywords:** Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Bryophytes, Total phenol contents

### Öz

Bu çalışmanın amacı *Cratoneuron filicinum* (Hedw.) Ladin, *Campyliadelphus chrysophylus* (Brid.) R.S. Chopra, *Plasteurhynchium striatum* (Spruce) M. Fleisch, *Palamocladium euchloron* (Bruch ex Müll. Hal.) Wijk & Margad gibi briyofit türlerinin toplam fenol içeriklerini, antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini belirlemektir. Bu türlerin metanolik, etanolik, kloroform, aseton ve su ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri mikrodilüsyon yöntemi ile, antioksidan aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil serbest radikal süpürme yeteneği ile, Toplam fenol içerikleri ise standart olarak gallik asit eşdeğerleri ile folin ciocalteu reaktifi kullanılarak nicel olarak belirlenmiştir.

En yüksek DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi yaklaşık %65 ile *C. filicinum*'da gözlemlendi. *P. euchloron*'un toplam fenolik içeriği en yüksek ekstre değeri 0,027±0,002 mg/g olarak belirlenmiştir. Briyofitlerin metanol ekstraktının önemli antioksidan aktiviteye ve fenolik içeriğe sahip olduğu bulundu. Ekstraktların test edilen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkisi gözlemlenmedi.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite, Briyofitler, Toplam fenol içeriği

\*Corresponding author: [sukranozturk79@gmail.com](mailto:sukranozturk79@gmail.com)

Şükran Öztürk [orcid.org/0000-0003-2729-171X](https://orcid.org/0000-0003-2729-171X)

Yasin Hazer [orcid.org/0000-0001-8870-0017](https://orcid.org/0000-0001-8870-0017)

Banu Kaşkatepe [orcid.org/0000-0002-9722-4267](https://orcid.org/0000-0002-9722-4267)

Muhammet Ören [orcid.org/0000-0003-1839-3087](https://orcid.org/0000-0003-1839-3087)



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC)".

## 1. Introduction

There has been an increasing interest in studies on the potential use of plants as natural biologically active compounds in the pharmaceutical industry all over the world (Pejin and Bogdanović-Pristov 2012, Pejin et al. 2013, Yağlıoğlu et al. 2017). The evaluation of the biological activities of the bryophytes provides a significant contribution to the search of possible drug sources.

Bryophytes, the second largest group, which comes after seed plants, were separated into three divisions within the subkingdom of Bryobiotina as a result of recent molecular studies. These divisions are composed of Bryophyta, Marchantiophyta, and Anthocerotophyta (Glime 2007, Goffinet and Shaw 2009).

Bryophytes has been widely used as a herbal medicine in China and India and among Native Americans since ancient times. Bryophytes have high amounts of terpenoids, phenolics, glycosides, fatty acids and some rare aromatic compounds that can contribute to the prevention of cancer and other chronic diseases (Mainasara et al. 2021).

Most of studies, however, have focused on higher vascular plants, specifically the angiosperms. Compared to angiosperms, pharmaceutical studies on bryophytes are relatively fewer (Magtoto et al. 2015). Similar to other plants, bryophytes possess antimicrobial and antioxidant properties (Bodade et al. 2008). Some research has indicated the potential of mosses as natural sources of antioxidant (Pejin and Bogdanović-Pristov 2012, Pejin et al. 2013, Yağlıoğlu et al. 2017).

Extracts of some bryophytes plants that have a high concentration of phenolics have good antioxidant activity (Hinneburg et al. 2006, Rice-Evans et al. 1995). The antioxidant and total phenol content of *Marchantia diptera* Nees & Mont. (Marchantiaceae), *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. (Ditrichaceae), *Dicranum polysetum* Sw., *Dicranum scoparium* Hedw. (Dicranaceae), *Leucobryum glaucum* (Hedw.) Ångstr. (Leucobryaceae), *Mnium marginatum* (With.) P. Beauv. (Mniaceae), *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv., *Polytrichum formosum* Hedw. (Polytrichaceae), *Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt. (Entodontaceae), *Thuidium tamariscinum* (Hedw.) Schimp. (Thuidiaceae), *Brachythecium rutabulum* (Hedw.) Schimp. (Brachytheciaceae), *Calliergonella cuspidata* (Hedw.) Loeske (Hypnaceae), *Hypnum mammillatum* (Brid.) Loeske (Hypnaceae), *Polytrichastrum alpinum* (Hedw.) G. L. Sm., *Bryum moravicum* Podp. and *Rhodobryum ontariense* (Kindb.) Kindb. medicinal bryo-

phyte species have been studied by different researchers indicating that they have high antioxidant activity and phenolic content, which might give new direction in medicine as a source of antioxidant agents in the future (Hsiao et al. 1996, Chobota et al. 2008, Bhattarai et al. 2009, Cvetić et al. 2009, Pejin and Bogdanović-Pristov 2012, Pejin et al. 2013, Pejin et al. 2014).

Also, some researchers have performed phenolic content and antimicrobial activity of the Bryophytes (Cansu et al. 2013, Cansu et al. 2014, Tosun et al. 2014, Tosun et al. 2015, Çöteli et al. 2017, Çöteli et al. 2019).

The aim of this study were to determine the antioxidant and antimicrobial activity together with the total phenol content of four moss species including *Plasteurhynchium striatum* (Spruce) M. Fleisch, *Palamocladium euchloron* (Bruch ex Müll. Hal.) Wijk & Margad. *Cratoneuron filicinum* (Hedw.) Spruce, *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) R.S. Chopra. that are also used as components of traditional medicine preparations. (Cui et al. 2005, Shai et al. 2010).

## 2. Material and Methods

### 2.1. Plant Material and Sample Preparation

Research materials were collected from Zonguldak province in Turkey. They were identified and deposited in Zonguldak Bülent Ecevit University-Bryophyte herbarium (ZNG 2428, 3294, 5851, 5869). In this study, spectrophotometric measurements were measured with Tetra Mark T80 + UV / VIS Spectrometer PG Instruments. DPPH, BHT, BHA, gallic acid, folin reactive, methanol and NaCO<sub>3</sub> were supplied from Sigma-Aldrich and Merck.

### 2.2. Sample Extraction

Samples were freeze dried (Lyolab freeze dryer) and ground in a mortar. The samples (1 g) were extracted with 10 ml 80% MeOH in a shaker for one hour and filtered, while the remaining material was re-extracted with 15 ml %80 MeOH overnight. Filtered extracts were combined and concentrated in 80% MeOH with an evaporator. Dried extracts were stored at 4°C till their use. They were completed to 2 ml with %100 MeOH to determine antioxidant activity, total phenolic compounds. The methanolic, ethanolic, chloroform, acetone, and water extracts of mosses were prepared for the antimicrobial activities.

### 2.3. Total Phenolic Content

The total phenol amount of samples was based on Singleton et al. (1965). Folin-ciocalteu stock solution was diluted



with a 1:3 rate of water. After 20 g of sodium carbonate was dissolved in 250 ml water, it was left for one night to be filtered the next day. 250 mg gallic acid was dissolved in %10 ethanol. Solutions of this gallic acid were prepared in 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 mg/l concentrations. From a one-gram-fresh sample, a 2 mg/ml solution was obtained. From each Sample/Gallic acid solution, 20 µl were taken. 100 µl Folin-ciocalteu solution was added in 1.58 ml of distilled water, and it stayed there for about five minutes. 300 µl %20 sodium carbonate was added in each, and they stayed in a dark place for 2 hours. Their absorbances were measured at 765 nm. Finally, the calibration curve of gallic acid absorptions was formed (Singleton and Rossi 1965). A strong correlation ( $R^2=0.99407$ ) for the total phenolic content was found.

The total phenolic content of the plant extracts and the standard antioxidant materials were determined according to the Folin Ciocalteu method (Singleton et al. 1999).

#### 2.4. Antioxidant Assessment Parameters

##### *DPPH Free Radical Scavenging Assay*

The antioxidant activity of samples was measured with the DPPH assay. The free radical scavenging effects of the extracts on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) were determined according to the Sanchez-Moreno method (Wang et al. 1996). The changes in the absorbance of the specimens were measured at 517 nm with a UV spectrophotometer (Tetra), where pure methanol was used. Radical scavenging activity was expressed as the percent inhibition (%) of DPPH radical and was calculated with the following formula (Ellnain et al. 2003, Abdille et al. 2005, Mainasara et al. 2021).

The antioxidant activity (Inhibition (%)) was calculated as follows:

$$AA_{\text{Inhibition}}(\%) = \frac{(\text{absorbance sample} - \text{absorbance empty sample}) \times 100}{\text{absorbance control}}$$

#### 2.5. Antimicrobial Screening

The screening of the antimicrobial activity of the crude extract of the colloid and rhizoid of mosses were carried out individually on active cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. All strains were procured from the Ankara University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Turkey.

The minimum inhibitory concentrations (MIC) of extracts were determined with broth microdilution method according to the recommendation of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standards (ISO 20776-1 2006). For this purpose, 100 µL of Cation adjusted Mueller Hinton Broth (CMHB) (Becton Dickinson) was added to each well of 96-well microplates, then 100 µL of sample was placed in the first well to obtain double-fold dilutions. In the last stage, the bacterial suspensions, prepared equal to McFarland 0.5 turbidity with a densitometer (Biosan), was diluted 1/100 and 100 µL was added to all wells. Microplates were incubated at 37°C for 16-20 h. After incubation, the lowest concentration that inhibit the visible growth of the microorganism defined as MIC. Ciprofloxacin was used as control.

### 3. Result

#### 3.1. Total Phenol Content (TPC)

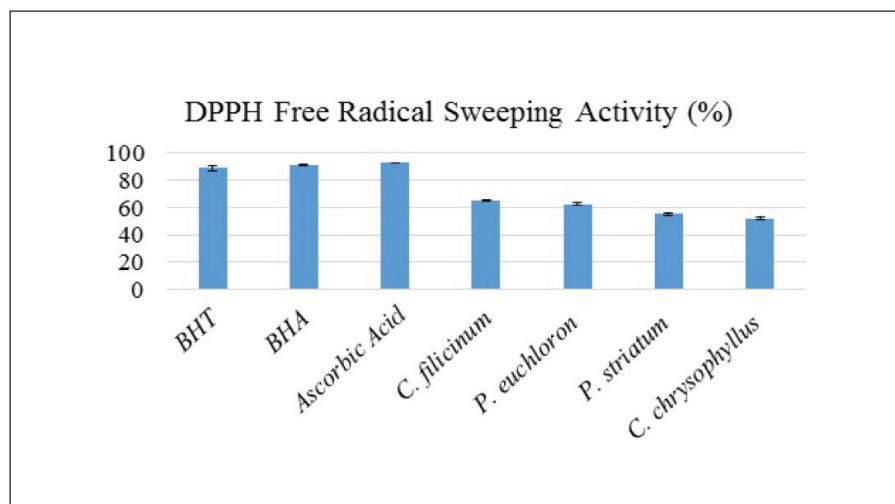
The TPC of the moss extracts were expressed as mg GAE/100 g dw of extract. The methanol extracts of samples were found to have significantly higher TPC ( $p \leq 0.05$ ). The methanol extract of *P. euchloron* showed the highest TPC ( $0.027 \pm 0.002$  mg/g GAE/100 g) among all moss extracts. The maximum TPC in methanol extracts was determined in *P. striatum* ( $0.022 \pm 0.002$  mg/g GAE/100 g), *C. chrysophyllus* ( $0.008 \pm 0.001$  mg/g GAE/100 g) and *C. filicinum* ( $0.0055 \pm 0.0015$  mg/g GAE/100 g) (Table 2).

#### 3.2. Antimicrobial and Antioxidant activity

The tested extracts have no antibacterial activity against the investigated microorganisms with the microdilution method ( $>500$  µg/mL) (Table 1), however the methanol extract of mosses was found to have significant antioxidant activity and phenolic contents.

Four mosses species were screened for their potential as antioxidants using the DPPH radical scavenging activity method. The DPPH radical is widely used in assessing free radical scavenging activity because of the ease of the reaction. The % inhibition values of DPPH due to the absorbance measured at 517 nm in the radical scavenging experiments are shown in Table 1. In parallel to the examination of the antioxidant activity of plant extracts, the values for three standard compounds were obtained and then compared to the values of the antioxidant activity. The standard substances were BHA, BHT and ascorbic acid.

The free radical scavenging capacity of the four moss species in different extracts, the three positive controls viz. BHA,



**Figure 1.** DPPH Free Radical Sweeping Activity (%).

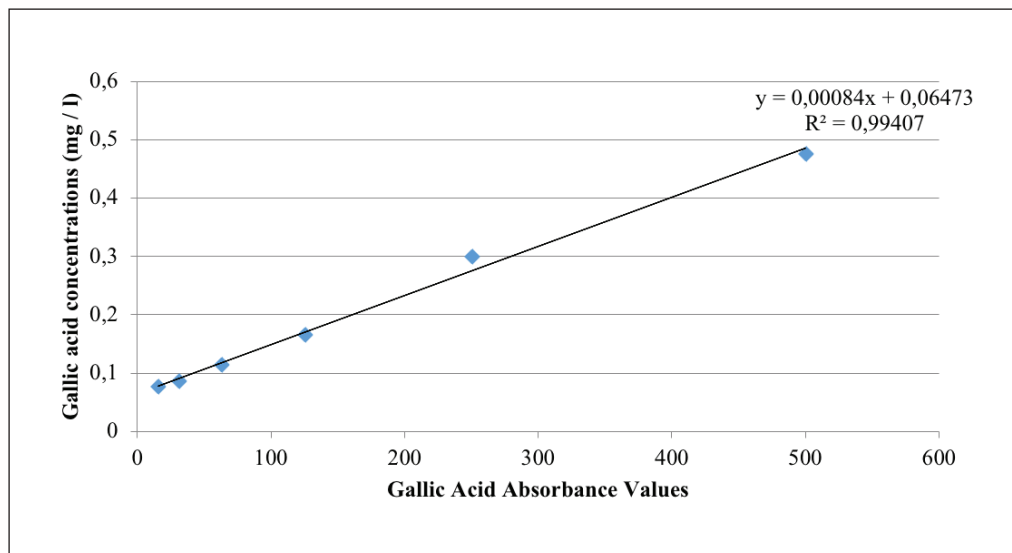
**Table 1.** Result of the antimicrobial activity of the moss extracts with microdilution (MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )).

Moss Extracts Microbial Strain	Plasteurhynchium striatum	Palamocladium euchloron	Cratoneuron filicinum	Campyliadelphus chrysophyllus	Ciprofloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	>500	>500	>500	>500	0.5
(MRSA) ATCC 43300	>500	>500	>500	>500	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>500	>500	>500	>500	0.0039
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>500	>500	>500	>500	0.25
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.	>500	>500	>500	>500	

BHT, and ascorbic acid were compared through their ability to scavenge DPPH radical. The DPPH radical scavenging capacity of the bryophytes extracts and the positive controls increased in a dose dependent manner at a concentration of 0.1–0.5 mg/ml. The rate of DPPH radical scavenging capacity was found to depend on bryophytes species and extracting solvent (Kumar et al. 2013). DPPH radical scavenging capacity of methanol was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in comparison with the other extract for most of the moss species. The maximum DPPH radical scavenging capacity in methanol extracts was retained by *C. filicinum* (%65) and *P. euchloron* (%62). Ascorbic acid (%92), BHA (%91), and BHT (%89) were found to produce a significantly higher ( $p < 0.05$ ) DPPH radical scavenging effect when compared to the moss extracts (Table 2), (Figure 1).

**Table 2.** Percentage inhibition of DPPH free radical of plants extract at 517nm.

Solution	DPPH Free Radical Scavenging Activity (%)
BHT	88.9227
BHA	91.2591
Ascorbic Acid	92.8188
<i>C. filicinum</i>	65.1127
<i>P. euchloron</i>	62.7124
<i>P. striatum</i>	55.2202
<i>C. chrysophyllus</i>	51.9416



**Figure 2.** Prepared using the gallic acid standard for total phenolic substance identification standard working chart.

**Table 3.** Total phenol contents of plant extracts determined by total phenol contents.

Sample	mg/g (Gallic Acid Equivalent)
<i>P. euchloron</i> Average	0.027±0.002 mg/g
<i>P. striatum</i> Average	0.022 ± 0.002 mg/g
<i>C. chrysophyllus</i> Average	0.008 ± 0.001 mg/g
<i>C. filicinum</i> Average	0.0055 ± 0.0015 mg/g

The total phenolic contents in the plant extracts were expressed in terms of gallic acid equivalent using the Folin-Ciocalteu's reagent. The values obtained for the concentration of total phenols were expressed as mg of GA/g of extract (Table 3), (Figure 2).

#### 4. Discussion

Antioxidants fight against free radicals and protect us from various diseases. They exert their action either by scavenging the reactive oxygen species or protecting the antioxidant defense mechanisms (Umamaheswari and Chatterjee 2008). In this study, the percentages of inhibition of the antioxidative activity of four moss species were determined and also contributed significantly to literature due to lack of studies evaluating the antioxidative properties of moss extracts.

The most important groups of natural antioxidants are phenolic substances (Tunalier et al. 2002). Therefore, the determination of the quantity of phenolic compounds is very crucial to understand the antioxidant capacity of

plant extracts (Das and Pereira 1990, De Gaulejac et al. 1999, Sabovljević et al. 2001). Total phenolic content was determined by using the Folin-Ciocalteu reagent. The total phenolic content of the different fractions of plants was solvent dependent and expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) in all the plant extracts. In studies it was indicated that the total phenolic concentration in plant material was directly associated with antioxidant activity. (Velioglu et al. 1998). The total phenolic compounds in fractions varied widely, ranging from 0.008 ± 0.001 mg/g to 0.027±0.002 mg/g were expressed as gallic acid equivalents (GAE). *P. euchloron* exhibited the highest total phenolic content.

Also, the antioxidant activities of the extracts were compared with BHT and BHA, which are synthetic antioxidants. Furthermore, the antioxidant activities of the extracts were compared with ascorbic acid that is a natural antioxidant. Ascorbic acid (%92), BHA (%91), and BHT (%89) were found to produce a significantly higher ( $p < 0.05$ ) DPPH radical scavenging effect when compared to the bryophyte extracts. The maximum DPPH radical scavenging capacity in methanol extracts was retained by *C. filicinum* (%65) and *P. euchloron* (%62). Highly radical scavenging effects of different concentrations of *C. filicinum* was demonstrated in this study. However, the radical scavenging effects of *P. striatum*, *P. euchloron* and *C. chrysophyllus* were not found as great as that of *C. filicinum*.

Only %5 of the bryophytes have been chemically analyzed in the literature so far in the World (Sabovljevic et al. 2012). These studies are increasing day by day. It is considered that

bryophytes will become more important in the future due to have a wide variety of phenolic compounds and antioxidant effects, and to be a potential sources in the future.

Similarly, in our literature survey we found no study related phytochemical content of the *P. striatum*, *P. euchloron*, *C. filicinum* and *C. chrysophyllus* species.

When the scientific researches carried out up to now are examined, the DPPH radical used in the DPPH method is used for the differences in the concentrations of plant extracts used in the research, DPPH radical or antioxidants may vary depending on exposure to light and air. It is clear that different results are obtained in this case (Mishra et al. 2012).

An extract derived from *Perilla frutescens* sprouts was shown to exhibit potent antioxidative properties, including the ability to effectively scavenge DPPH, anti-inflammatory activity, and antiemetic effects. So, four moss species in this study may have similar effects as *P. frutescens*. (Jeong et al. 2014).

#### 4.1. Disclosure Statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

## 5. References

- Abdille, H., Singh, RP., Jayaprakasha, GK., Jena, BS. 2005. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. Food Chem., 90:891-896. Doi: 10.1016/j.foodchem.2004.09.002.
- Bhattarai, HD., Paudel, B., Lee, HK., Joung, H., Yima, H. 2009. In vitro antioxidant capacities of two benzenophthoxanthones: Ohioensins F and G isolated from the antarctic moss *Polytrichastrum alpinum*. Z. Naturforsch., 64:197-200. Doi: 10.1515/znc-2009-3-408
- Bodade, RG., Borkar, PS., Arfeen, MS., Khobragade, CN. 2008. In vitro screening of bryophytes for antimicrobial activity. Journal of Medicinal Plants., 7:23-28.
- Cansu, T.B. Yaylı, T. Özdemir, N. Batan, Ş. Alpay-Karaoğlu ve N. Yaylı "Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils of mosses (*Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. and *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwägr.) growing in Turkey", Turkish journal of Chemistry, 37(2), 213-219, (2013).
- Cansu, T.B. Özdemir, N. Batan, B. Yaylı, Ş. Alpay-Karaoğlu ve N. Yaylı "Essential Oil Analysis and Antimicrobial Activity of *Neckera complanata* (Hedw.) Huebener and *Neckera crispa* Hedw. (*Neckeraceae*) Grown in Turkey", Asian Journal of Chemistry, 26 (7), 2005-2008, (2014).
- Chobota, V., Kubicova, L., Nabbout, S., Jahodar, L., Hadacek, F. 2008. Evaluation of antioxidant activity of some common mosses. Z Naturforsch C J Biosci., 63. 476-482. Doi: 10.1515/znc-2008-7-802.
- Cui, Y., Kim, DS., Park, KC. 2005. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. J. Ethnopharmacol., 96:79-85. Doi: 10.1016/j.jep.2004.08.037
- Cvetić, T., Sabovljević, A., Pristov, JB., Sabovljević, M. 2009. Effects of day length on photosynthetic pigments and antioxidative metabolism of in vitro cultured moss *Atrichum undulatum* Hedw. P. Beauv. (Bryophyta). Bot Serb., 33(1):83-88.
- Çöteli E, Alataş M, Batan N. 2017. "Syntrichia ruralis ve Syntrichia montana (Pottiaceae) Taksonlarının Glutasyon İçeriklerinin Karşılaştırılması", Anatolian Bryology, 3(1): 25-30.
- Çöteli E, Alataş M, Batan N, Hazer Y. 2019. "Comparing of Glutathione Ingredients of Some Species in Bryaceae Family", Anatolian Bryology, 5(1): 15-21.
- Das, NP., Pereira, TA. 1990. Effects of flavonoids on thermal autooxidation of palm oil: structure-activity relationship. J. Am. Oil Chem. Soc., 67:255-258.
- De Gaulejac, NSC., Glories, Y., Vivas, N. 1999. Free radical scavenging effect of anthocyanins in red wines. Food Res. Int., 32:327-333. Doi: 10.1016/S0963-9969(99)00093-9.
- Ellnain-Wojtaszek, M., Kruczynski, Z., Kasprzak, J. 2003. Investigation of the free radical scavenging activity of *Ginkgo biloba* L. leaves. Fitoterapia, 74:1-6. Doi: 10.1016/s0367-326x(02)00306-4.
- Glime, JM. 2007. Economic and ethnic uses of bryophytes. In flora of North America Editorial Committee, ed. Flora of North America, North of Mexico. Bryophyta 27:14-41.
- Goffinet, B., Shaw, AJ. 2009. Bryophyte biology, 2nd ed., Cambridge University Press, The Edinburgh Building, Cambridge CB2 8RU, UK, 565. Ann. Bot., 104:vi-x. Doi: 10.1093/aob/mcp109.
- Hinneburg, I., Dorman, HJG., Hiltunen, R. 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chem., 97:122-129. Doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.028
- Hsiao, G., Teng, CM., Wu, CL., Ko, FN. 1996. Marchantin H as a natural antioxidant and free radical scavenger. Arch. Biochem. Biophys., 334(1):18-26. Doi: 10.1006/abbi.1996.0424.
- International Organization for Standardization. 2006. ISO 20776-1: Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems - Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -Part 1: Reference method for testing the *in vitro* activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.



- Jeong, SI., Kim, HS., Jeon, IH., Kang, HJ., Mok, JY., Cheon, CJ., Yu, HH., Jang, SI. 2014.** Antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from *Perilla frutescens*. *Korean J Food Sci Technol.*, 46:87-93. Doi: 10.9721/KJFST.2014.46.1.87.
- Kumar, J., Dhar, P., Tayade, AB., Gupta, D., Chaurasia, OP., Upreti, DK., Arora, R., Srivastava, RB. 2014.** Antioxidant Capacities, Phenolic Profile and Cytotoxic Effects of Saxicolous Lichens from Trans-Himalayan Cold Desert of Ladakh. *PLoS One.*, 9:6. Doi: 10.1371/journal.pone.0098696.
- Magtoto, LM., Alonzo, EAM., Lacerna, MZT., Santiago, JC. 2015.** Total Phenol Content and Antioxidant Activity of *Bryum billardieri* Schwaegr. *IJCPR.*, 7(1):19-20.
- Mainasara, MM., Abu Bakar, MF., Md Akim, A., Linatoc, AC., Abu Bakar, FI., Ranneh, YKH. 2021.** Secondary Metabolites, Antioxidant, and Antiproliferative Activities of *Dioscorea bulbifera* Leaf Collected from Endau Rompin, Johor, Malaysia. *Based Complement Alternat Med.*, 2021:8826986. Doi: 10.1155/2021/8826986.
- Mishra, K., Ojha, H., Chaudhury, NK. 2012.** Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chem.*, 130:1036-1043. Doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.127.
- Pejin, B., Bogdanović-Pristov, J. 2012.** ABTS cation scavenging activity and total phenolic content of three moss species. *Hem Ind.*, 66(5):723-726. Doi: 10.2298/hemind120131022p.
- Pejin, B., Bogdanovic-Pristov, J., Pejin, I., Sabovljevic, M. 2013.** Potential antioxidant activity of the moss *Bryum moravicum*. *Nat. Prod. Res.*, 27(10):900-902. Doi: 10.1080/14786419.2012.665915.
- Pejin, B., Savic, A., Kien-Thai, Y., Mojovic, M. 2014.** Further *in vitro* evaluation of antiradical activity of the moss *Rhodobryum ontariense* tea using EPR and fluorescence spectroscopy. *Cryptogamie Bryol.*, 35(2):173-179. Doi: 10.7872/cryb.v35.iss2.2014.173.
- Rice-Evans, CA., Miller, NJ., Bolwell, PG., Bramley, PM., Pridham, JB. 1995.** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.*, 22:375-383. Doi: 10.3109/10715769509145649.
- Sabovljević, M., Bijelović, A., Grubišić, D. 2001.** Bryophytes as a potential source of medicinal compounds. *Lek. Sirov.*, 21:17-29.
- Sabovljević, A., Vujcic, M., Skoric, M., Bajic-Ljubcic, J., Sabovljević, M. 2012.** Axenically culturing the bryophytes: Establishment and propagation of the pleurocarpous moss *Thamnobryum alopecurum* Nieuwland ex Gangulee (Bryophyta, Neckeraceae) in *in vitro* conditions. *Pak. J. Bot.*, 44(1):339-344.
- Shai, LJ., Masoko, P., Mokgotho, MP., Magano, SR., Mogale, AM., Boaduo, N., Eloff, JN. 2010.** Yeast alpha glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in Phalaborwa. *S. Afr. J. Bot.*, 76:465-470. Doi: 10.1016/j.sajb.2010.03.002.
- Singleton, VL., Rossi, JA. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16:144-158.
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In L. Packer (Ed.). *Oxidants and antioxidants, part A. Meth. Enzymol.*, 299: pp. 152-178. New York: Academic Press. Doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Tosun, G.B. Yaylı, T. Özdemir, N. Batan, N. Yaylı ve Ş. Alpay-Karaoğlu** "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Tortella inclinata* var. *densa*, *T. tortuosa* and *Pleurochaete squarrosa*", *Asian Journal of Chemistry*, 26(7), 2001-2004, (2014).
- Tosun, G.B. Yayli, T. Özdemir ve N. Batan, A. Bozdeveci ve N. Yayli** "Volatiles And Antimicrobial Activity of the Essential Oils of the Mosses *Pseudoscleropodium purum*, *Eurhynchium striatum*, and *Eurhynchium angustirete* Grown in Turkey", *Records of Natural Products*, vol.9, pp.237-242, (2015).
- Tunaher, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, KHC., Duman, H., Kırmır, N. 2002:** Bazı Sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, s. 76-93, Eskişehir.
- Umamaheswari, M., Chatterjee, TK. 2008.** *In vitro* antioxidant activities of the fractions of *Coccinnia grandis* L. leaf extract. *Afr. J. Trad. Compl. Altern. Med.*, 5:61-73.
- Velioglu, YS., Mazza, G., Gao, L., Oomah, BD. 1998.** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agri. Food Chem.* 46:4113-4117. Doi: 10.1021/jf9801973.
- Yağlıoğlu, MS., Abay, G., Demirtaş, I., Yağlıoğlu, AS. 2017.** Phytochemical screening, antiproliferative and cytotoxic activities of the mosses *Rhytidiadelphus triquetrus* (Hedw.) Warnst. and *Tortella tortuosa* (Hedw.) Limpr. *Anatolian Bryol.* 3(1):31-42. Doi: 10.26672/anatolianbryology.317785
- Wang, H., Cao, G., Prior, RL. 1996.** Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 44:701-705. Doi: 10.1021/jf950579y.



## Levamisolün Model Organizma *Galleria mellonella*'nın Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi

*The Effect of Levamisole on Some Biological Parameters of Model Organism Galleria mellonella*

Volkan Keleş\*, Ender Büyükgüzel

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Zonguldak

### Öz

İmidotiyazol türevi antihelmintik bir madde olan levamisolün büyük bal mumu güvesi, *Galleria mellonella*'nın, larva, pup ve ergin evresindeki yaşama oranı, gelişim süreleri ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkileri incelendi. *G. mellonella* birinci evre larvaları 0,001, 0,01 ve 0,1 g/100 g levamisol içeren yapay besinler ile beslendi. Denenen levamisol konsantrasyonları levamisol içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında *G. mellonella*'nın yaşama ve gelişim parametrelerini üzerinde olumsuz yönde etkilediği tespit edildi. Levamisolün %0,001 g ve %0,01 g'lık konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 7.evreye ulaşan larva oranını istatistiksel olarak önemli derecede düşürdü. Denenen en yüksek konsantrasyonda (%0,1 g) bu oran kontrol grubuna göre (%98,75) 3 kat azalarak %28,75 olarak belirlendi. Levamisol içeren yapay besinlerde beslenen gruplarda kontrol grubuna göre pup olma oranı ve ergin olma oranında da benzer etkiler gözlemlendi. Levamisolün farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinde yetiştirilen böcekler, levamisol içermeyen kontrol grubuna göre 7.evre larva, pup ve ergin evrelere daha geç ulaştı. Levamisolün %0,001 g ve %0,01 g'lık konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böceğin ergin ömür uzunluğunu uzatırken denenen en yüksek levamisol konsantrasyonu (%0,1 g) böceğin ergin ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 3 gün azalttı. Elde edilen sonuçlar neticesinde yapay besinle birlikte alınan levamisolün model organizma *G. mellonella*'nın hem aktif beslenme gösterdiği larval evrede hem de pup ve ergin dönemi olmak üzere daha sonraki gelişim evrelerinde olumsuz etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Levamisol, *Galleria mellonella*, Yaşama oranı, Gelişme süresi, Ergin ömür uzunluğu

### Abstract

The effects of levamisole, an imidothiazole derivative anthelmintic, on survival rate, development time and adult longevity of greater wax moth, *Galleria mellonella*, larvae, pupae and adult stage were investigated. First instar larvae of *G. mellonella* were fed on artificial diet containing 0,001, 0,01 and 0,1 g/100 g of levamisole. Experimented levamisole concentrations negatively affected the survival and developmental parameters of *G. mellonella* when compared to the control diet without levamisole. The concentrations of 0,001% g and 0,01% g of levamisole significantly decreased survival rates of 7<sup>th</sup> instar larvae when compared to the control group. Similar results obtained from the survival of pupal and adult stages. Insects that fed on artificial diet with different concentrations of levamisole reached the 7<sup>th</sup> instar larva, pup and adult stages later than the control group without levamisole. While the concentrations of 0,001% g and 0,01% g of levamisole extended adult longevity of insect, the highest concentration of levamisole tested (0,1% g) reduced the adult longevity of the insect by approximately 3 days compared to the control group. As a result, it has been demonstrated that levamisole taken with artificial diet has negative effects both in the larval stage that shows active feeding and in the subsequent developmental stages, including the pupal and adult stages of model organism *G. mellonella*.

**Keywords:** Levamisole, *Galleria mellonella*, Survival rate, Developmental time, Adult longevity

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: [volkankeles@outlook.com](mailto:volkankeles@outlook.com)

Volkan Keleş [orcid.org/0000-0001-5035-8148](https://orcid.org/0000-0001-5035-8148)

Ender Büyükgüzel [orcid.org/0000-0002-4442-5081](https://orcid.org/0000-0002-4442-5081)



## 1. Giriş

Tarım zararlıları ile mücadelede sıklıkla başvurulan geleneksel yöntemlere nazaran daha çevre dostu yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Ekonomik açıdan önemli zararlara sahip birçok böcek türünün laboratuvar ortamında kitle halinde üretimlerinin yapılması hem bu böceklerin fizyolojilerinin anlaşılmasına hem de çevre dostu yeni kimyasal maddelerin tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. Bunun için laboratuvar ortamında bu böceklerin kültürünün yapılması önemli bir basamaktır (Zahran vd. 2018, Zeng vd. 2019).

Laboratuvar şartlarında böcek kültürlerinin oluşturulmasında kullanılan yapay besinlerin kalitesi bu tür çalışmalar için önemli kısmı oluşturmaktadır. Böcek kültür ortamlarında çok sık karşılaşılan mikrobiyal kontaminasyonların önüne geçebilmek için yapay besin bileşenlerine klinik açıdan önemli olan çeşitli antibiyotikler eklenmektedir (Büyükgüzel ve Kalender 2007, 2008, 2009, Büyükgüzel ve Kayaoğlu 2014, Aslan vd. 2019, Üstündağ vd. 2020).

Böceğin gelişimini optimum koşullarda sağlamak için kullanılan bu maddeler genel olarak yan etkisi düşük ve yüksek organizmalarda görülen prevalansı yüksek hastalıkların tedavisinde kullanılan klinik öneme sahip antibiyotiklerdir. Çeşitli bakteriyel, fungal veya helmintik enfeksiyonların tedavisi için geliştirilen bu antibiyotiklerin böceklerin yapay besininde yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında yaşama ve gelişim parametrelerini olumsuz yönde etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir (Hoffmann vd. 2014, Li vd. 2020, Büyükgüzel ve Büyükgüzel 2019, Wu vd. 2020).

Antimikrobiyal ajanların etkinliğinin ve toksisitesinin değerlendirilmesinde fare ve sıçan gibi omurgalı model organizmalar son yıllarda bazı etik kaygılardan dolayı yerini *Galleria mellonella*'ya bırakmıştır (Vogel vd. 2011, Lange vd. 2018, Piatek vd. 2020, Kastamonuluoğlu vd. 2020). *G. mellonella*'nın laboratuvar şartlarında başarılı bir şekilde kitle halinde üretimi ve kullanılan yapay besinlerin kalitesinin artırılması bu çalışmalar için oldukça önemlidir (Büyükgüzel ve Kalender 2007, 2008, 2009, Büyükgüzel ve Büyükgüzel 2016, 2019, Li vd. 2020).

Büyük bal mumu güvesi, *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) bal peteklerine yaptığı tahribat nedeniyle ekonomik açıdan öneme sahip tarım zararlısı bir böcek türüdür. Hayat döngüsünü tam başkalaşım geçirerek sürdüren *G. mellonella* larva, pup ve ergin olmak üzere fizyolojik ve morfolojik olarak farklı süreçleri içeren üç farklı gelişim evresine sahiptir (Lange vd. 2019, Cutuli vd.

2019). Zirai olarak önemli bir zararlı olan *G. mellonella*'nın aktif beslenme davranışı gösterdiği larval evresi memeliler ile karşılaştırıldığında fizyolojik olarak yüksek homoloji göstermesi ve bu benzerliklerin diğer yüksek organizmalara göre daha az kompleks olması global olarak öneme sahip çeşitli hastalıkların moleküler mekanizmasının anlaşılmasında sıklıkla model organizma olarak tercih edilmesini sağlamıştır (Mikulak vd. 2018, Bismut ve Eztray 2019, Pereira ve Rossi 2020).

1966 yılında keşfedilmiş imidazotiyazol türeviden levamizol memelilerde görülen akciğer ve bağırsak paraziti enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan sentetik bir antibiyotiktir (Miller 1980, Martin vd. 2012). Levamizol spesifik olarak nematodların kas hücre duvarındaki nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanıp, reseptöre bağlı kalsiyum iyon kanallarını açarak hücre içi kalsiyum derişiminin artmasına neden olur. Hücre içindeki kalsiyum miktarının artması sürekli kasılmaya yol açar ve hedef organizmayı felç ederek etkisiz hale getirir (McKellar ve Jackson 2004, Holden-Dye ve Walker 2007).

Yapılan çalışmalarda levamizolün antihelmintik etkisinin yanı sıra doğal öldürücü hücrelerin ve T hücrelerinin aktivesini artırdığı tespit edilmiştir. İltihaplı romatizma gibi enfeksiyon hastalıklarının çoğunda ve özellikle 3. evre kolon kanserinin tedavisinde cerrahi müdahale sonrası uygulanan kemoterapi kürlerinde immünostimülant olarak kullanılmaktadır (Scheinfeld vd. 2012, Chapuis vd. 2019).

Bu çalışmada, levamizolün yukarıdaki uygulamalarının dışında model organizma olarak kullanılan *G. mellonella*'nın yapay besinine eklenerek laboratuvar şartlarında böceğin biyolojisi üzerine etkisi gözlemlenmek amacıyla *G. mellonella*'nın 7.evre larva, pup ve erginlerindeki yaşama ve gelişim parametreleri ve ergin ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntemler

### 2.1. *G. mellonella* Kültürü

Laboratuvarımızda daha önceden kültüre alınmış olan yumurtadan yeni çıkmış birinci evre *G. mellonella* larvaları  $28 \pm 2$  °C ve %65  $\pm$  5 nispi nemde soğutmalı inkübatörde (Nüve, Es 500) ve devamlı karanlığın sağlandığı ortamda, Bronskill (1961) tarafından geliştirilen yapay besin (420 g buğday kepeği, 150 mL süzme bal, 150 mL gliserin, 20 g öğütülmüş koyu renkli eski petek ve 30 mL saf su) kullanılarak ergin evreye kadar yetiştirilerek stok kültür oluşturuldu.

## 2.2. Levamizolün Uygulanması

Deneylerde kullanılan imidazotiyazol türevi bir antihelmintik olan levamizol ( $C_{11}H_{12}N_2S$ , [6-phenyl-2,3,5,6-tetrahydroimidazo(2,1-b)(1,3)thiazole], suda çözünebilir, 204.291 g/mol, 500 g, Parti no: 1000204922) Deva İlaç Şirketi'nden temin edildi. Levamizol konsantrasyonları daha önce gerçekleştirilmiş olan çalışmalardaki veriler göz önüne alınarak ön denemeler çerçevesinde oluşturuldu (Büyükgüzel ve Kayaoğlu 2014, Çalık vd. 2015, Sugeçti vd. 2016, Sefer ve Büyükgüzel 2017, Çelik vd. 2019). Yapılan ön denemeler sonucunda yapay besine ilave edilecek levamizol konsantrasyonları %0,001 g, %0,01 g, %0,1 g ve %1 g olarak belirlendi fakat denenen en yüksek konsantrasyonda (%1 g) gelişim gözlenmediği için bu grup deney düzeneğinden çıkarıldı.

İçeriği verilen yapay besin bileşenleri geniş bir kap içinde yaklaşık olarak 15-20 dakika karıştırılarak yapay besin elde edildi. Belirlenen levamizol miktarı 100 gram besin başına düşen gram antibiyotik olarak yapay besinin içerisine doğrudan ilave edilip, iyice homojen oluncaya kadar karıştırıldı.

## 2.3. Beslenme Deneyleri

*Galleria mellonella* birinci evre larvaları yumuşak uçlu fırça yardımıyla kontrol ve levamizol konsantrasyonları içeren kavanozlara bırakıldı. Kavanozlar  $28 \pm 2$  °C ve  $\%65 \pm 5$  nispi nemde devamlı karanlığın sağlandığı ortamda ergin evreye kadar yetiştirildi.

Denenen levamizol konsantrasyonlarının böceğin 7.evre larva, pup ve erginlerindeki yaşama oranı, gelişim süresi ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkisinin belirlenmesi için yapay besin içerisinde olgunlaşan 7. evre larvalar 30 mL'lik saklama kaplarında stok kültürün yürütüldüğü şartlarda ( $28 \pm 2$  °C ve  $\%65 \pm 5$  nispi nemde soğutmalı inkübatörde devamlı karanlığın sağlandığı ortamda) saklandı ve deney düzeneği her gün kontrol edildi. Levamizol içermeyen kontrol grubu ve levamizol içeren gruplar ile yapılan deneyler dört farklı zamanda tekrar edildi.

## 2.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Yaşama oranı, gelişme süreleri ve ergin ömür uzunluğu ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde "ONE-WAY ANOVA" (Tek Yönlü Varyans Analizi) kullanıldı. Ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için gelişme süresi ve ergin ömür uzunluğunda "LSD Testi" (SPSS statistical software version 15.0 for windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA), yaşama oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde

"Chi square Testi" ( $\chi^2$ ) (Snedecor ve Cochran 1989), kullanıldı. Ortalamalar arasındaki fark ise 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

## 3. Sonuçlar

Yapay besine doğrudan ilave edilen levamizolün %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g olmak üzere denenen bütün konsantrasyonlarının *G.mellonella*'nın yaşama ve gelişim parametreleri üzerine olumsuz bir etki gösterdiği tespit edildi (Şekil 1, 2).

Levamizolün %0,001 g ve %0,01 g'lık konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 7.evreye ulaşan larva oranını istatistiksel olarak önemli derecede düşürdü. Denenen en yüksek konsantrasyonda (%0,1 g) bu oran kontrol grubuna göre (%98,75) 3 kat azalarak %28,75 olarak belirlendi. Levamizol içeren yapay besinlerde beslenen gruplarda kontrol grubuna göre pup olma oranı ve ergin olma oranında da benzer etkiler gözlemlendi (Çizelge 1).

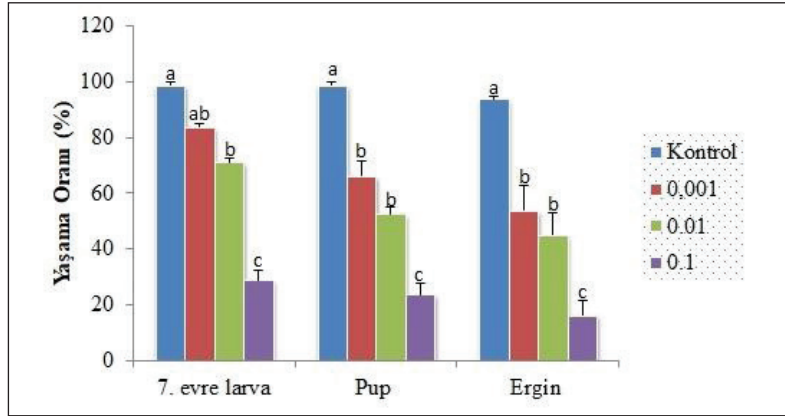
Levamizolün farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinde yetiştirilen böcekler, levamizol içermeyen kontrol grubuna göre 7.evre larva, pup ve ergin evrelere daha geç ulaştı. Denenen en yüksek levamizol konsantrasyonu (%0,1 g) böceğin 7. evre larval döneme ulaşma süresini yaklaşık olarak 2 gün, pup evresine ulaşma süresini 10 gün ve ergin olma süresini 7 gün uzattı fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı çıkmadı (Çizelge 2).

Levamizolün %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böceğin ergin ömür uzunluğunu uzatırken, denenen en yüksek levamizol konsantrasyonu (%0,1 g) böceğin ergin ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 3 gün azaltarak önemli bir etki gösterdi (Çizelge 3).

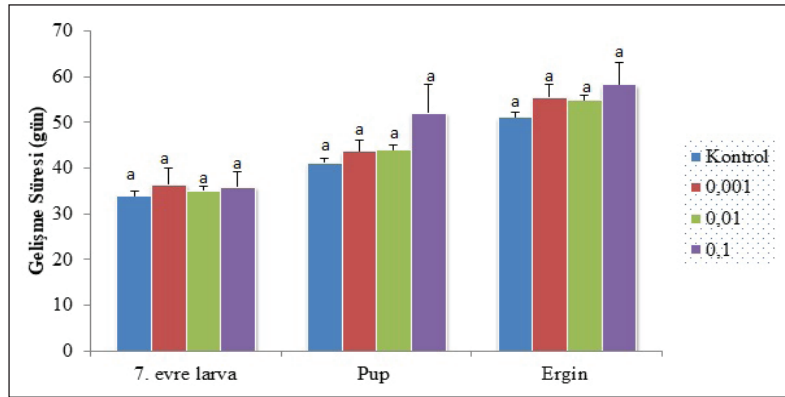
## 4. Tartışma

Tarım zararlılarıyla mücadelede çevre dostu yeni yaklaşımların geliştirilmesinde ve prevalansı yüksek hastalıkların tedavisi için kullanılan klinik açıdan önemli antibiyotiklerin etkinliğinin ve toksisitesinin belirlenmesinde kullanılan model organizmaların yaşama ve gelişim parametrelerindeki değişiklikler yapılan uygulamaların önemli bir basamağını oluşturmaktadır (Zorlu vd. 2018, Yusof vd. 2019). Özellikle ergin ömür uzunluğu çeşitli etken maddelerin ekotoksikolojisinin belirlenmesinde ve bu maddelerin detoksifikasyonu veya birikmesine bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres ile yakın ilişkili hastalıkların anlaşılmasında önemli bir parametreyi oluşturmaktadır (Ning vd. 2016, Ghoneim vd. 2019).





Şekil 1. Levamizolün *G. mellonella*'nın yaşama oranına etkisi. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ( $P>0,05$ , LSD Testi).



Şekil 2. Levamizolün *G. mellonella*'nın gelişme süresine etkisi. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ( $P>0,05$ , LSD Testi).

Çizelge 1. Levamizolün *G. mellonella*'nın yaşama oranına etkisi.

Levamizol (g/100g)	7. evreye ulaşan larva oranı (%) (Ort <sup>†</sup> ± S.E) <sup>†</sup>	Pup olma oranı (%) (Ort <sup>†</sup> ± S.E) <sup>†</sup>	Ergin olma oranı (%)
			(Ort <sup>†</sup> ± S.E) <sup>†</sup>
0,000 <sup>§</sup>	98,75 ± 1,08 <sup>a</sup>	98,75 ± 1,08 <sup>a</sup>	93,75 ± 1,08 <sup>a</sup>
0,001	83,75 ± 5,12 <sup>ab</sup>	66,25 ± 5,12 <sup>b</sup>	53,75 ± 2,72 <sup>b</sup>
0,01	71,25 ± 9,25 <sup>b</sup>	52,50 ± 9,12 <sup>b</sup>	45,00 ± 7,71 <sup>b</sup>
0,1	28,75 ± 3,70 <sup>c</sup>	23,75 ± 3,70 <sup>c</sup>	16,25 ± 5,41 <sup>c</sup>

<sup>†</sup>Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 adet 1. evre larva kullanıldı. <sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ( $P>0,05$ , LSD Testi). <sup>§</sup>Kontrol besini (Levamizol içermeyen).

Çizelge 2. Levamizolün *G. mellonella*'nın gelişme süresine etkisi.

Levamizol (g/100g)	7. evreye ulaşma süresi (gün) (Ort <sup>†</sup> ± S.E) <sup>†</sup>	Pup olma süresi (gün) (Ort <sup>†</sup> ± S.E) <sup>†</sup>	Ergin olma süresi (gün)
			(Ort <sup>†</sup> ± S.E) <sup>†</sup>
0,000 <sup>§</sup>	33,96 ± 3,06 <sup>a</sup>	41,45 ± 3,47 <sup>a</sup>	51,22 ± 3,30 <sup>a</sup>
0,001	36,51 ± 1,81 <sup>a</sup>	43,57 ± 2,39 <sup>a</sup>	55,59 ± 2,00 <sup>a</sup>
0,01	35,09 ± 2,35 <sup>a</sup>	43,99 ± 2,75 <sup>a</sup>	54,95 ± 2,25 <sup>a</sup>
0,1	35,98 ± 3,28 <sup>a</sup>	52,22 ± 6,01 <sup>a</sup>	58,34 ± 4,65 <sup>a</sup>

<sup>†</sup>Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 adet 1. evre larva kullanıldı. <sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ( $P>0,05$ , LSD Testi). <sup>§</sup>Kontrol besini (Levamizol içermeyen).

**Çizelge 3.** Levamizolün *G. mellonella*'nın ergin ömür uzunluğuna etkisi.

Levamizol (g/100g)	Ergin ömür uzunluğu (gün)
	(Ort <sup>±</sup> S.E) <sup>†</sup>
0,000 <sup>§</sup>	9,64 ± 0,5 <sup>ab</sup>
0,001	12,24 ± 0,7 <sup>a</sup>
0,01	10,96 ± 1,6 <sup>a</sup>
0,1	6,14 ± 1,3 <sup>b</sup>

<sup>†</sup>Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 adet 1. evre larva kullanıldı.  
<sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir (P>0,05, LSD Testi). <sup>§</sup>Kontrol besini (Levamizol içermeyen).

Tarım zararlılarıyla mücadelede birçok böcek türü için bü-yüme inhibitörü ve doğal bir insektisit olan azadiraktinin kullanıldığı bir çalışmada, azadiraktinin subletal konsantrasyonlarının (LC<sub>50</sub>: 16.564 ppm) *G. mellonella*'nın gelişim sürelerini uzattığı ve ömür uzunluğunu azalttığı tespit edilmiştir (Er vd. 2016). Çalışmamızda yapay besin ile birlikte verilen levamizolün yapılan çalışma ile benzer olarak *G. mellonella*'nın larva, pup ve ergin evredeki yaşama oranını düşürdüğü, gelişme sürelerini uzattığı ve ergin uzunluğunu düşürdüğü tespit edilmiştir. Benzer etki Erbaş ve Altuntaş (2020) tarafından yapılan çalışmada da belirtilmiştir. Bir bitki sekonder metaboliti olan juglonun kullanıldığı bu çalışmada ise besin ile beraber verilen junglon konsantrasyonlarının (LC<sub>30</sub>: 1.59 mg / 2 g, LC<sub>50</sub>: 2.38 mg / 2 g ve LC<sub>70</sub>: 3.18 mg / 2 g) *G. mellonella*'nın larva, pup ve erginlerinin yaşama oranını düşürdüğü, bu evrelere ulaşma sürelerini uzattığı ve ergin ömür uzunluğunu düşürdüğü gözlemlenmiştir (Erbaş ve Altuntaş 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip olan benzimidazol türevi antihelmintik maddelerin model organizma *G. mellonella* üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmalar arasında parazitik organizmaların mikrotübüllerini hedef alan benzimidazol sınıfı anthelmintiklerden mebendazolün kullanıldığı bir çalışmada yapay besine ilave edilen mebendazol konsantrasyonlarının (%0,005 g, %0,05 g, %0,5 g ve %1 g) artmasıyla paralel olarak *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki yaşama oranının düştüğü, ergin ömür uzunluğunun ve tüm evrelerdeki gelişme sürelerinin kısaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler doğrultusunda mebendazolün denenen konsantrasyonlarının böceğin yaşama ve gelişme parametrelerini olumsuz yönde etkilediği ifade edilmiştir (Çalık vd. 2016). Bizim çalışmamızda, %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g olmak üzere yapay besin ile birlikte veri-

len levamizol konsantrasyonlarının benzer bir şekilde böceğin 7. evre larva, pupa ve ergin dönemdeki yaşama oranını kontrol besinine göre ortalama %75 oranında düşürdüğü ve denenen en yüksek levamizol konsantrasyonunun (%0,1 g) ergin ömür uzunluğunu ise yaklaşık olarak 4 gün kısalttığı belirlenmiştir.

Yeni nesil benzimidazol türevi bir antihelmintik olan triklabendazol *G. mellonella*'nın yetiştirilmesinde kullanılan yapay besine %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonlarda ilave edilmiş ve yapılan beslenme deneyleri sonucunda böceğin 7. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki yaşama oranının önemli ölçüde düştüğü ve denenen en yüksek triklabendazol konsantrasyonunun böceğin pup ve ergin evrelere ulaşma süresini sırasıyla 4 gün ve 7 gün uzattığı tespit edilmiştir (Kılıç vd. 2015). Deneylerimizde kullandığımız en yüksek levamizol konsantrasyonunun (% 0,1 g) benzer bir şekilde *G. mellonella*'nın pup ve ergin evreye ulaşma sürelerini kontrol besinine göre sırasıyla 11 gün ve 7 gün uzattığı belirlenmiştir.

Benzimidazol türevleri arasında daha geniş bir etki spektruma sahip bir anthelmintik olan oksfendazol %1,5 g'lık konsantrasyonda yapay besin ile birlikte verildiğinde *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin evredeki yaşama oranını önemli ölçüde düşürdüğü, pup ve ergin olma sürelerini ise kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 3 gün uzattığı ve ergin ömür uzunluğunu önemli derecede kısalttığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmada böceğin yaşama ve gelişme parametrelerinde görülen olumsuz etkinin oksfendazolün böceğin orta bağırsağında oluşturduğu stresten kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür (Sugeçti vd. 2016). Çalışmamızda kullandığımız imidazotiyazol türevi bir anthelmintik olan levamizolün memeli sindirim kanalından kolayca emilebildiği bilinmektedir (Luyckx vd. 1982, Kouassi vd. 1986). Yapay besin ile birlikte alınan levamizol böceğin orta bağırsak ve yağ dokusunda biyotransformasyon reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan reaktif oksijen türlerinin yoğunluğunu artırarak benzer bir strese neden olmuş ve buna bağlı olarak da yaşama ve gelişim parametreleri üzerinde olumsuz bir etki göstermiş olabilir.

Yapılan bir başka çalışmada %0,003 g, %0,03 g ve %0,3 g'lık konsantrasyonlarda yapay besine ilave edilen salisilanilid türevi bir anthelmintik olan oksiklozanidin *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin evrelerinde yaşama oranını ve ergin ömür uzunluğunu önemli derecede düşürdüğü, tüm evrelerinde gelişme süresini uzattığı tespit edilmiştir. Böceğin yaşama ve gelişme parametrelerinde görülen bu etkinin oksiklozanidin denenen konsantrasyonlarının besin

kalitesine olan olumsuz etkisinden kaynaklanmış olabileceği öne sürülmüştür (Çelik vd. 2019). Bizim çalışmamızda %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g olmak üzere denenen levamizol konsantrasyonları benzer bir şekilde yapay besin bileşenlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirerek *G. mellonella*'nın yaşama ve gelişme parametrelerine olumsuz bir etki yapmış olabilir.

Nair ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise *G. mellonella* (Lepidoptera) ile aynı takımında bulunan ve tarım zararlısı olarak değerlendirilen *Helicoverpa armigera*, *Earias vittella*, *Spodoptera litura*, *Spodoptera exigua*, *Pectinophora gossypiella* ve *Chilo partellus* olmak üzere 5 farklı böcek türünün yetiştirilmesinde antifungal ajan olarak kullanılan formalinin yapay besin ortamındaki kontaminasyonu düşürdüğü fakat bu böceklerin larva, pup ve ergin olmak üzere tüm gelişim evrelerindeki yaşama oranına ve gelişim sürelerine olumsuz etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Nair vd. 2018). Çalışmamızda *G. mellonella*'nın yapay besinine ilave ettiğimiz antihelmintik bir madde olan levamizolün %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonlarının benzer bir şekilde kontrol grubuna göre böceğin 7. evre larva olma oranını ortalama % 45, pup olma oranını ortalama %50 ve ergin olma oranını ortalama %60 oranında düşürdüğü ve bu evrelere ulaşma sürelerini yaklaşık olarak 9 gün uzattığı tespit edilmiştir. Yaptığımız analizler sonucunda, yapay besin içeriğine ilave edilen levamizol konsantrasyonlarının artmasıyla paralel olarak seyreden tüm gelişim evrelerdeki yaşama oranı, gelişme süreleri ve ergin ömür uzunluğundaki olumsuz etki levamizolün böceğin larval dönemdeki beslenme davranışını önemli ölçüde değiştirerek, larva sonrasındaki evreler üzerinde de benzer bir etki göstermesine neden olmuş olabilir.

Salisinalid türevi bir antihelmintik madde olan niklozamidin *G. mellonella*'nın fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada da niklozamidin %0,001 g, %0,01 g, %0,1 g ve %1 g'lık konsantrasyonlarını içeren yapay besinle beslenen 1. evre larvaların, son evre larva, pup ve ergin evrelerindeki yaşama oranının düştüğü ve denenen en yüksek konsantrasyonda ergin olma süresinin önemli derecede uzadığı kaydedilmiştir. Buna ek olarak, böceğin yaşama ve gelişim parametrelerinde tespit edilen bu etkinin niklozamidin oluşturduğu prooksidan etkisinden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Büyükgüzel ve Kayaoğlu 2014). Bizim çalışmamızda da denenen en yüksek levamizol konsantrasyonunun (%0,1 g) böceğin ergin olma süresini yaklaşık olarak 7 gün uzattığı tespit edilmiştir. Böceğin yaşama oranı ve gelişme süreleri

üzerindeki olumsuz etki benzer bir şekilde denenen levamizol konsantrasyonlarının böcek üzerinde oluşturduğu prooksidan etkisinden kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak, %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonlarda yapay besine ilave edilerek oral yolla verilen imidazotiyazol türevi bir antihelmintik olan levamizolün *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin olmak üzere tüm gelişim evrelerinde böceğin yaşama ve gelişme parametrelerini olumsuz yönde etkilediği anlaşılmıştır. Levamizolün *G. mellonella* üzerinde gösterdiği olumsuz etkinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır.

## 5. Teşekkür

Bu çalışma "Levamizolün model organizma *Galleria mellonella*'nın tüm gelişim evreleri ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi" başlıklı doktora tez projesinden elde edilmiştir. 2021-50737594-07 kodlu proje desteği için Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz. Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi ve Biyokimyası Araştırma Laboratuvarı'nın imkanlarını kullanmamızı sağlayan Prof. Dr. Kemal Büyükgüzel'e teşekkür ederiz. Çalışmamızda kullandığımız levamizolü temin eden Deva İlaç Şirketi'ne teşekkür ederiz.

## 6. Kaynakça

- Aslan, N., Büyükgüzel, E., ve Büyükgüzel, K. 2019.** Oxidative effects of gemifloxacin on some biological traits of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Environ. Entomol.*, 48 (3): 667-673. Doi: 10.1093/ee/nvz039
- Bernardi, EB., Haddad, ML., Parra, JRP. 2000.** Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for Trichogramma mass production. *Rev. Brasil. Biol.*, 60 (1): 45-52
- Bismuth, H., Aussel, L., Ezraty, B. 2019.** The greater wax moth, *Galleria mellonella* to study host-pathogen interactions. *Med. Sci.*, 35 (4): 346-351. Doi: 10.1051/medsci/2019071
- Bronskill, J. 1961.** A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). *J. Lep. Soc.*, 15 (2): 102-104
- Buyukguzel, E., Buyukguzel, K. 2016.** Effect of acyclovir on the microbial contamination in the artificial and natural diets for rearing of *Galleria mellonella* L. larvae. *Karaelmas Sci. Eng. J.*, 6 (1): 105-110
- Büyükgüzel, E. 2009.** Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *J. Econ. Entomol.*, 102 (1): 152-159. Doi: 10.1603/029.102.0122

- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2007.** Penicillin-induced oxidative stress: effects on antioxidative response of midgut tissues in instars of *Galleria mellonella*. *J. Econ. Entomol.*, 100 (5): 1533-1541. Doi: 10.1093/jee/100.5.1533
- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2008.** *Galleria mellonella* (L.) survivorship, development and protein content in response to dietary antibiotics. *Entomol. Sci.*, 43 (1): 27-40. Doi: 10.18474/0749-8004-43.1.27
- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2009.** Exposure to streptomycin alters oxidative and antioxidative response in larval midgut tissues of *Galleria mellonella*. *Pestic. Biochem. Phys.*, 94 (2): 112-118. Doi: 10.1016/j.pestbp.2009.04.008
- Büyükgüzel, E., Kayaoglu, S. 2014.** Niklozamid'in *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae)'nın bazı biyolojik ve fizyolojik özelliklerine etkisi. *Türk. Entomol. Derg.*, 38(1): 83-99
- Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K. 2019.** Effects of a DNA gyrase inhibitor, novobiocin, on the biological parameters of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Entomol. Sci.*, 54 (1): 79-86. Doi: 10.18474/JES18-72
- Chapuis, PH., Bokey, E., Chan, C., Keshava, A., Rickard, MJFX., Stewart, P., Dent, OF. 2019.** Recurrence and cancer-specific death after adjuvant chemotherapy for Stage III colon cancer. *Colorectal Dis.*, 21 (2): 164-173. Doi: 10.1111/codi.14434
- Copping, LG., Duke, SO. 2007.** Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Manag. Sci.*, 63 (6): 524-554. Doi: 10.1002/ps.1378
- Cutuli, MA., Petronio Petronio, G., Vergalito, F., Magnifico, I., Pietrangelo, L., Venditti, N., Di Marco, R. 2019.** *Galleria mellonella* as a consolidated in vivo model hosts: New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. *Virulence*, 10 (1): 527-541. Doi: 10.1080/21505594.2019.1621649
- Çalık, G., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2016.** Reduced fitness in adults from larval, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) reared on media amended with the anthelmintic, mebendazole. *J. Econ. Entomol.*, 109 (1): 182-187. Doi: 10.1093/jee/tov305
- Çelik, C., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2019.** The effects of oxytetrozolidin on survival, development and total protein of *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Res.*, 21 (1): 95-108
- Er, A., Taşkıran, D., Sak, O. 2017.** Azadirachtin-induced effects on various life history traits and cellular immune reactions of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Arch. Biol. Sci.* 69 (2): 335-44. Doi: 10.2298/ABS160421108E
- Erbaş, ED., Altuntaş, H. 2020.** Lethal and sublethal effects of juglone on the life-history traits of *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae). *Acta. Zool. Bulg.*, 72: 43-48. Doi: 10.81043/aperta.2913
- Ghoneim, K., Tanani, M., Hamadah, Kh., Abdel-Khalig, A., Emam, D. 2019.** Deteriorated adult performance and reproduction of the Greater Wax Moth, (*Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) by the honey bee apitoxin. *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.*, 12 (4): 95-108. Doi: 10.21608/EAJBSA.2019.45828
- Holden-Dye, L., Walker, RJ. 2007.** Anthelmintic drugs. *WormBook*, 1.
- Hoffmann, MF., Preissner, SC., Nickel, J., Dunkel, M., Preissner, R., Preissner, S. 2014.** The Transformer database: biotransformation of xenobiotics. *Nucleic Acids Res. Spec. Publ.*, 42 (D1): D1113-D1117. Doi: 10.1093/nar/gkt1246
- Kayis, T., Altun, M., Coskun, M. 2019.** Thiamethoxam-mediated alteration in multi-biomarkers of a model organism, *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 26: 36623-36633. Doi: 10.1007/s11356-019-06810-7
- Kılıç, A., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2015.** Antihelmintik triklabendazolun yapay besin ile beslenen *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının yaşama ve gelişimine etkisi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 21 (6): 841-847. Doi: 10.9775/kvfd.2015.13731
- Lange, A., Schäfer, A., Bender, A., Steimle, A., Beier, S., Parusel, R., Frick, J. S. 2018.** *Galleria mellonella*: a novel invertebrate model to distinguish intestinal symbionts from pathobionts. *Front. Immunol.*, 9: 2114. Doi: 10.3389/fimmu.2018.02114
- Li, G., Xia, X., Zhao, S., Shi, M., Liu, F., Zhu, Y. 2020.** The physiological and toxicological effects of antibiotics on an interspecies insect model. *Chemosphere*, 248: 126019. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.126019
- Marklund, S., Marklund, G. 1974.** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47: 469-474. Doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x
- Martin, RJ., Robertson, AP., Buxton, SK., Beech, RN., Charvet, CL., Neveu, C. 2012.** Levamisole receptors: a second awakening. *Trends Parasitol.*, 28 (7): 289-296. Doi: 10.3389/fimmu.2018.02114
- McKellar, QA., Jackson, F. 2004.** Veterinary anthelmintics: old and new. *Trends Parasitol.*, 20 (10): 456-461. Doi: 10.1016/j.pt.2004.08.002
- Mikulak, E., Gliniewicz, A., Przygodzka, M., Solecka, J. 2018.** *Galleria mellonella* L. as model organism used in biomedical and other studies. *Przegl. Epidemiol.*, 72 (1): 57-73.



- Miller, MJ. 1980.** Use of levamisole in parasitic infections. *Drugs*, 20 (2): 122-130
- Nair, RV., Kulye, MS., Kamath, SP. 2019.** A single semi-synthetic diet with improved antimicrobial activity for mass rearing of lepidopteran insect pests of cotton and maize. *Entomol. Exp. Appl.*, 167 (4): 377-387. Doi: 10.1111/eea.12779
- Ning, S., Zhang, W., Sun, Y., Feng, J. 2017.** Development of insect life tables: comparison of two demographic methods of *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) on different hosts. *Sci. Rep.*, 7 (1): 1-10. Doi: 10.1038/s41598-017-05041-5
- Pereira, TC., De Barros, PP., Fugisaki, LRDO., Rossoni, RD., Ribeiro, FDC., De Menezes, RT., Junqueira, JC., Scorzoni, L. 2018.** Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogens. *J. Fungus*, 4 (4): 128. Doi: 10.3390/jof4040128
- Piatek, M., Sheehan, G., Kavanagh, K. 2020.** Utilising *Galleria mellonella* larvae for studying in vivo activity of conventional and novel antimicrobial agents. *Pathog. Dis.*, 78 (8): ftaa059. Doi: 10.1093/femspd/ftaa059
- Scheinfeld, N., Rosenberg, JD., Weinberg, JM. 2004.** Levamisole in dermatology. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 5 (2): 97-104. Doi: 1175-0561/04/0002-0097
- Sefer, EN., Büyükgüzel, K. 2018.** The Effect of piperazine on survivorship and development of *Galleria mellonella*. *Karaelmas Fen ve Müh. Derg.*, 8 (1): 365-372. Doi: 10.7212%2Fzkufbd.v8i1.1248
- Snedecor GS., Cochran, WG. 1989.** Statistical Methods. 8th ed. Ames, IA, USA: Iowa State University Press.
- SPSS Inc: User's Manual.** Version 15.0 for Windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2006.
- Sugeçti, S., Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K. 2016.** Laboratory assays of the effects of oxfendazole on biological parameters of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Entomol. Sci.*, 51 (2): 129-137. Doi: 10.18474/JES15-36.1
- Üstündağ, G., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2020.** Penicillin impact on survivorship, development, and adult longevity of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Entomol. Sci.*, 55 (4): 560-569. Doi: 10.18474/0749-8004-55.4.560
- Vogel, H., Altincicek, B., Glöckner, G., Vilcinskas, A. 2011.** A comprehensive transcriptome and immune-gene repertoire of the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. *BMC Genomics*, 12 (1): 1-19. Doi: 10.1186/1471-2164-12-308
- Yusof, S., Mohamad Dzomir, AZ., Yaakop, S. 2019.** Effect of irradiating puparia of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) on adult survival and fecundity for sterile insect technique and quarantine purposes. *J. Econ. Entomol.*, 112(6): 2808-2816. Doi: 10.1093/jee/toz217
- Wu, J., Li, J., Zhang, C., Yu, X., Cuthbertson, AG., Ali, S. 2020.** Biological impact and enzyme activities of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in response to synergistic action of Matrine and *Beauveria brongniartii*. *Front. Physiol.*, 2020 (11): 584405. Doi: 10.3389/fphys.2020.584405
- Zahran, NF., Hamza, AF., Sayed, WAA. 2018.** Impact of certain additives to diet on the biological and biochemical characteristics of peach fruit fly, *Bactrocera zonata*. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, 11 (4): 423-428. Doi: 10.1016/j.jrras.2018.07.007
- Zeng, J., Bi, B., Zhang, F., Cheng, G., Thi, MDV., Zhang, G. 2019.** Cu/ZnSOD always responded stronger and rapider than MnSOD in *Lymantria dispar* larvae under the avermectin stress. *Pestic. Biochem. and Phys.*, 156: 72-79. Doi: 10.1016/j.pestbp.2019.02.010
- Zorlu, T., Nurullahoğlu, ZU., Altuntaş, H. 2018.** Influence of dietary titanium dioxide nanoparticles on the biology and antioxidant system of model insect, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Res.*, 20 (3): 89-103.



## *Drosophila*: A Promising Model for Evaluating the Toxicity of Environmental Pollutants

### *Drosophila*: Çevresel Kirleticilerin Toksisitesini Değerlendirmek İçin Umut Veren Bir Model

Eşref Demir\* , Fatma Turna Demir 

Department of Medical Services and Techniques, Medical Laboratory Techniques Programme, Vocational School of Health Services, Antalya Bilim University, 07190, Dosemealti, Antalya, Turkey

#### Abstract

Environmental contamination has now become a major global issue with adverse effects on our health and food security. Humans and animals are being exposed to debilitating levels of contamination on a daily basis. Across the globe, air pollution alone causes millions of premature deaths annually, mainly from lung cancer, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), stroke, heart failure, and respiratory infections, and according to World Health Organization (WHO), 99% of humanity breathes air containing contaminants above recommended levels. The United Nations (UN) has identified “a pollution-free planet” goal among its three pillars, besides climate change and biodiversity for 2022–2025. In order to mitigate contamination and relieve our burden of pollution-related disease, we need to devise target-specific strategies. To that end, risk assessment of each chemical and natural contaminants and solid evidence from toxicity studies appear to be of paramount importance. Meticulous efforts should be made to look into possible mechanisms of action for each pollutant and detect their toxic potential and safe limits through comprehensive *in vivo* animal testing. Various factors such as high operational costs and ethical issues concerning the use of higher vertebrates frustratingly restrict the efficient use of traditional *in vivo* testing. Therefore, simpler and more dynamic model organisms like *Drosophila melanogaster* could be favored for toxicity studies, as 75% of the genes related with human diseases are known to have homologs in *D. melanogaster*, which facilitates research into different anomalies. This review aims to present the picture of studies regarding environmental pollutants that employed using *D. melanogaster*, attempting to offer a comprehensive analysis of risks involved in exposure to environmental pollutants.


**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, Environmental pollutants, Risk assessment, Ecotoxicity, *In vivo* model organism, Health

#### Öz

Çevre kirliliği artık sağlığımız ve gıda güvenliğimiz üzerinde olumsuz etkileri olan önemli bir küresel sorun haline gelmiştir. İnsanlar ve hayvanlar, günlük olarak kendilerini zayıflatıcı kontaminasyon seviyelerine maruz kalmaktadır. Dünya genelinde tek başına hava kirliliği başlıca akciğer kanseri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), felç, kalp yetmezliği ve solunum yolu enfeksiyonları sebebiyle her yıl milyonlarca erken ölüme neden olmakta ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, insanlığın %99'u önerilen seviyelerin üzerinde kirletici içeren havayı solumaktadır. 2022-2025 için iklim değişikliği ve biyolojik çeşitliliğin yanı sıra Birleşmiş Milletler (BM), üçüncü desteğini “kirlilik içermeyen bir gezegen” hedefi olarak belirlemiştir. Kirliliği azaltmak ve kirlilikle ilgili hastalık yükümüzü hafifletmek için hedefe özel stratejiler geliştirmemiz gerekmektedir. Bu amaçla, her bir kimyasal ve doğal kirleticinin risk değerlendirmesi ve toksisite çalışmalarından elde edilen somut kanıtlar çok önemli görünmektedir. Her kirletici için olası etki mekanizmalarını araştırmak ve kapsamlı *in vivo* hayvan testleri yoluyla bu kirleticilerin toksik potansiyellerini ve güvenli sınırlarını saptamak için titiz çaba gösterilmelidir. Yüksek çalışma maliyetleri ve daha yüksek omurgalıların kullanımına ilişkin etik sorunlar gibi çeşitli faktörler, geleneksel *in vivo* testlerin verimli kullanımını engelleyici bir şekilde kısıtlamaktadır. Bu nedenle, toksisite çalışmaları için *D. melanogaster* gibi daha basit ve dinamik model organizmalar tercih edilebilir, çünkü insan hastalıklarıyla ilgili genlerin %75'inin *D. melanogaster*'de homologları olduğu bilinmektedir, bu da farklı anomalilerin araştırılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu derleme, *D. melanogaster* kullanılarak çevresel kirleticilerle ilgili çalışmaları belirterek çevresel kirleticilere maruz kalmayla ilgili risklerin kapsamlı bir analizini sunmayı amaçlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila melanogaster*, Çevresel kirleticiler, Risk değerlendirmesi, Ekotoksosite, *In vivo* model organizma, Sağlık

\*Corresponding author: [esref.demir@antalya.edu.tr](mailto:esref.demir@antalya.edu.tr)

Eşref Demir  [orcid.org/0000-0002-2146-7385](https://orcid.org/0000-0002-2146-7385)

Fatma Turna Demir  [orcid.org/0000-0001-8045-8641](https://orcid.org/0000-0001-8045-8641)



## 1. Introduction

The chemical sector is one of the largest industries, and global plastics production, which totaled 368 million metric tons in 2019, is expected to grow by 4.4% in 2021 according to Baden Aniline and Soda Factory (BASF) Online Report 2020 (<https://report.basf.com/2020/en/>). Many consumer products, including foods, clothes, cleaning products, paints, cosmetics, and electronics contain chemical contaminants, and living organisms are often exposed to these contaminants through food intake and dermal contact, as well as inhalation and transfer via placenta. Toxicity from exposure to a range of environmental contaminants has also become a major health concern throughout the world. Epidemiological research has revealed that such exposure during prenatal period and early life deteriorates the healthy development of fetus or embryo (conceptus) as well as newborns (Wigle et al. 2008, Kadawathagedara et al. 2018). The common complications resulting from such exposure include embryonic mortality, fetal loss, intrauterine growth restriction, preterm birth, birth defects, childhood diseases, neuropsychological deficits, premature or delayed sexual maturation and certain adult cancers (Wigle et al. 2008).

Humans and animals could be exposed to a mixture of environmental contaminants that may act on several organ systems through different mechanisms. For instance, previous research has shown that endocrine disruptors working through distinct toxicity mechanisms to impair hormone-dependent signaling pathways in differentiating tissues produce cumulative dose-additive effects independent of the mechanism (Rider et al. 2012, Karwacka et al. 2019). Multicomponent mixtures of endocrine-disturbing chemicals have been found to act as antagonists which could disrupt pathways of oestrogen, androgen, and other hormones (Kortenkamp et al. 2007). Another important mechanism of action for environmental chemicals appears to be oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS) (Wells et al. 2009, Luo et al. 2010).

Susceptibility of embryo or fetus to developmental disturbances related to environmental contaminants depends on exposition time and dose. Besides, compromised antioxidant defense leaves the embryo prone to oxidative damage through *in utero* exposure to such contaminants, because the embryo lacks fully developed antioxidant enzymes and detoxification pathways (Al-Gubory and Garrel 2012). For this reason, the relationship of environmental contaminants and impaired fetal growth attracts significant attention from the fertility and reproductive health sector.

Several types of environmental contaminants may combine to produce different chemical mixtures, which include pesticides, nanopesticides, nanoparticles, micro-nanoplastics, heavy metals, pharmaceutical products, xenoestrogens, and various others (indoor air pollutants, haloalkanes, hydrazines, smog, etc.). Here we present examples of natural contaminants and synthetic compounds that might pose significant risks to human health, as they have a common mechanism of toxicity, with the idea that once we have deciphered this mechanism, we can make huge strides towards prevention and mitigation of this global problem.

## 2. Aims and Scope

Today, disordered urban growth constantly produces industrial, domestic, and agricultural waste that may contain harmful mixtures of chemicals, which tend to persist in nature, polluting our air, soil and freshwater resources. Therefore, research into possible mechanisms of action for environmental contaminants is of vital importance for the well-being of humans and animals (Bianchi et al. 2015). Comprehensive investigation of chemical contaminants for possible injurious effects through *in vivo* animal testing seems to be critical. Several factors such as high operational costs and ethical issues tend to restrict the use of traditional *in vivo* testing, therefore simpler experimental models like roundworms, zebrafish, and fruit flies are favoured, and however *Drosophila melanogaster* (fruit fly) stands out as an ideal model for cytotoxicity and genotoxicity studies. As we share a significant amount of genes with fruit flies - more than 60% of their DNA is identical to that of humans, almost 75% of the genes associated with human diseases have functional homologs in *D. melanogaster* (Demir 2020a, 2021b). Another advantage of *Drosophila* is that it shares various basic biological and physiological mechanisms and molecular pathways with mammals (Demir 2021b), which makes this insect an excellent model organism for various fields, including genotoxicity studies (Demir 2021b), and neurotoxicity screening (Rand 2010). *D. melanogaster* also offers a series of advantages over rodents, including rapid life cycle, ease of culturing, low costs, high fecundity, and simple genetics with only four pairs of chromosomes. Most importantly, ethical issues associated with vertebrate animals do not apply to fruit flies.

Another important point is that the microbiota plays a critical role in certain aspects of *Drosophila* physiology such as growth and reproduction (Charroux and Royet 2012).

*Drosophila* also features a specific microbiota with key roles in its physiology and pathology (Kuraishi et al. 2013) and changes in the gut microbiota can affect the health status of *Drosophila*, with changes in both growth and body size (Shin et al. 2011). This opens a new field to study harmful effects of environmental contaminants like micro-nano particles, as shown by research reporting that exposure to nanoparticles caused a drastic reduction in the diversity of the gut microbiota in *Drosophila* (Han et al. 2014).

Chronic exposure to environmental contaminants is known to be associated with several health conditions, including cancer, impaired immune and reproductive function, as well as imbalanced gastrointestinal microbiota, which regulates a range of host metabolic and immune processes. Here we discuss possible effects of various contaminants abundant in the environment and their impact on different ecosystems, addressing the bidirectional relationship between *D. melanogaster* and environmental contaminants to investigate their toxicological relevance in the case of *Drosophila* as an *in vivo* model. The substantial increase in the amount of contaminants naturally intensifies our exposure to such contaminants, raising concerns over their possible adverse effects on humans and non-target organisms. This makes

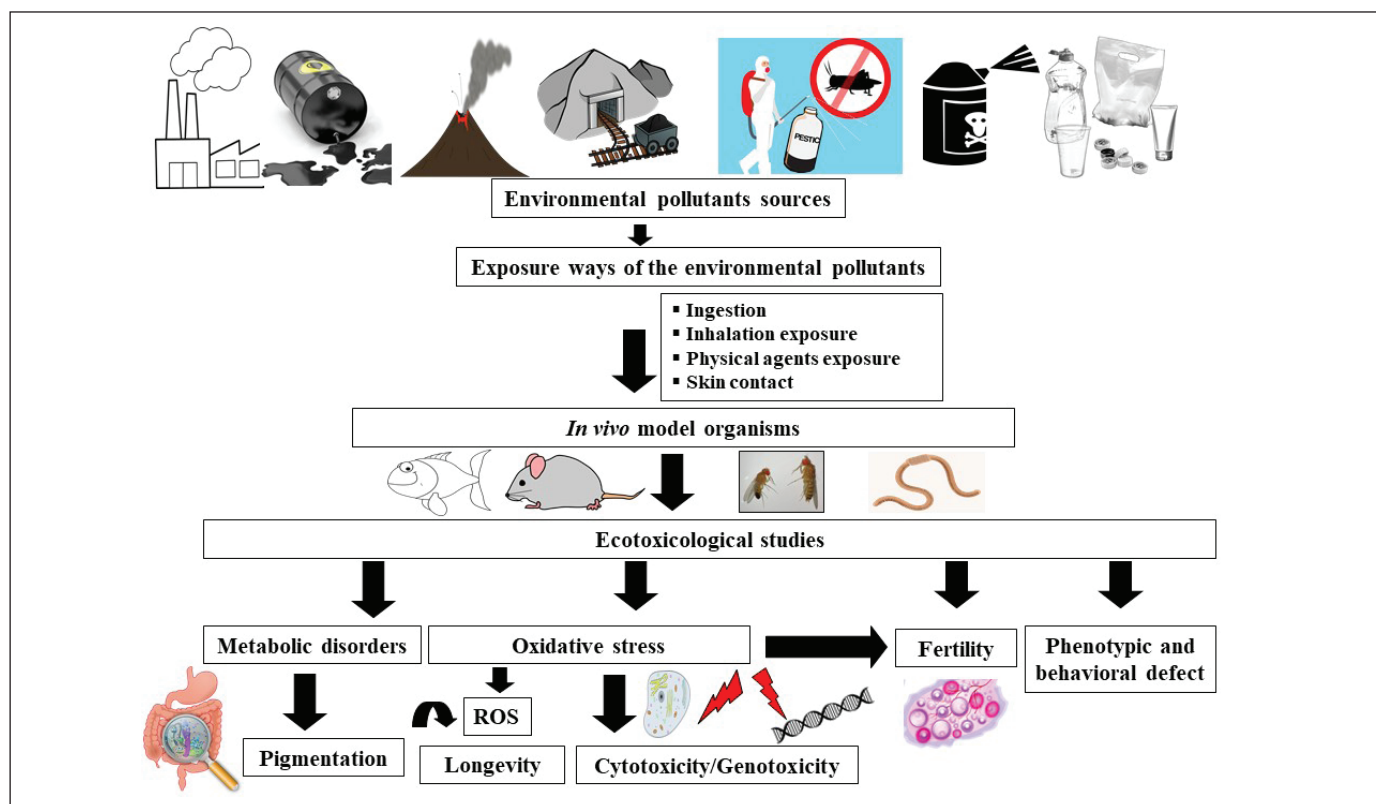
the risk assessment for their toxicity and genotoxicity imperative, as we urgently require conclusive evidence on their safety or toxicity/genotoxicity (Figure 1). Table 1 indicates that widespread risk assessment methods for mixtures of environmental pollutants and mixtures whose effects have been investigated in literature. The aims of this review are to present a comprehensive overview of different studies carried out with *D. melanogaster* and the potential risk of environmental pollutants exposure to health, and to demonstrate the advantages of using *Drosophila*.

### 3. Common Pollutants

#### 3.1. Pesticides and Nanopesticicides

Previous toxicity experiments have revealed that exposure to pesticides could result in lipid peroxidation and DNA damage in humans (Kapeleka et al. 2021) and in rodents (Milić et al. 2018). Experiments on aquatic animals show that oxidative stress might play a serious role in the mechanism by which pesticides create risks for developmental toxicity (Kumar et al. 2021).

The widespread use of pesticides and nanopesticides has been raising concerns over the last decades, since



**Figure 1.** Evaluation of the biological/toxicological effects of environmental pollutants.



**Table 1.** Widespread risk assessment methods for mixtures of environmental pollutants and mixtures whose effects have been investigated in literature.

Used method	Details of the method	Investigated mixture samples	References
Adjusted or weight of evidence HI	HI incorporates pairwise assessment	Environmental mixture of different antibiotics	Marx et al. 2015
Physiologically-based pharmacokinetic Modelling (PBPK)	The PBPK aims to foresee pharmacokinetic interactions in mixtures at the tissue level	Mixtures of trihalomethanes	Niu et al. 2015
		Mixture of pesticide residues	de Sousa et al. 2014
Hazard Index (HI)	HI is formed by the addition of hazard quotients for each component chemical in a mixture	A mixture of different phthalates in food goods	Chang et al. 2014
		Pesticide mixtures on vegetable and/or fruit	Jensen et al. 2015
Toxic Equivalency Factor (TEF)	The most commonly used type of relative potency factor (RPF) method is the TEF	Binary mixtures of metals including cadmium, lead and copper	Gao et al. 2016
Whole mixture assessment	Whole mixture approaches utilize toxicity data in the form of the biological reaction to an whole mixture	Industrial wastewater containing phenol derivatives, preservatives and surfactants	Carbajo et al. 2015
		Mixture of toxic metals and gases	Sriram et al. 2015

most could damage certain species not considered pests. Only about 0.1% of the pesticides is thought to reach the target species after common application methods like aerial spraying, and the rest causes environmental contamination (Demir 2020b). According to reports, the total pesticide-related death toll passed 100,000 across the globe (WHO 2015), with children and women most vulnerable to their injurious effects. Therefore, we urgently need risk assessment methods to swiftly and efficiently investigate ecotoxicity and cytotoxicity of pesticides and nanopesticides. *D. melanogaster* might prove to be a promising *in vivo* model organism for the risk assessment and toxicological classification of nanopesticides (Demir 2020b).

### 3.2. Nanoparticles

Thanks to their dynamic structures, use of nanoparticles (NPs) has been gaining momentum across a wide range of sectors including electronics, cosmetics, medicine, and pharmaceuticals (Demir 2021c). Carbon-based NPs may have detrimental effects on human health as well as on the environment. However, the current literature contains limited research on the toxic and environmental effects from direct and indirect exposure to NPs. According to recent estimates, the production of NPs will reach 21,713 tons by 2020, which is sure to increase our exposure to such materials (Demir 2021c). While researchers often prefer to

carry out *in vitro* studies for the detection of adverse effect of NPs, *in vivo* approaches seem to yield more relevant data for risk assessment. In that context, *D. melanogaster* is one of the most genetically and experimentally accessible model organisms used in biology as an *in vivo* model. Around 75% of the genes involved in human diseases have related sequences in *D. melanogaster*, fact that support its value as an effective model to study different human pathologies (Demir 2020b, 2021b).

### 3.3. Micro-Nanoplastics

Micro-nanoplastics (MNPLs) have recently attracted increasingly more attention, as they have been building up in the environment, multiplying our risk of exposure. A recent study has calculated that the oceans contain a total of 8.3 million pieces of MNPLs in every cubic meter of water (Brandon et al. 2020). Their abundant presence in nature and their tiny size facilitates their crossing cellular barriers and leads to potentially dangerous effects, thus calling for urgent risk assessment through *in vivo* toxicity studies.

Ingestion appears to be the primary route of exposure in many organisms, including aquatic animals, since MNPLs are usually found in their digestive tracts (Carbery et al. 2018). Besides, the tiny size of MNPLs allows their transfer through a range of tissues and organs (Alimba and Faggio 2019). Humans are mostly exposed to these plastics through consumption of seafood, however there is an alarmingly

limited amount of research to investigate potential toxicity of MNPLs in humans (Demir 2021b).

In an attempt to pinpoint environmental factors which could be considered to modulate risk of disease, researchers have proposed several biomarkers, including overproduction of ROS and RNS (Ghezzi 2020). Such biomarkers rank among the parameters used in toxicology studies looking into the effects of nanoplastics. A study exposing zebrafish larvae to nanoplastics detected ROS generation throughout the body, particularly in the head (Sökmen et al. 2019). The most common species of water flea, *Daphnia pulex*, was exposed to nanoplastics, which resulted in overproduction of ROS along with activation of the MAPK signalling pathway, impairing developmental and reproductive functions (Liu et al. 2020).

Another useful biomarker, genotoxicity plays a major role in the initiation and progression of different health problems, as DNA damage is known to cause genetic mutation, cancer, aging, and cell death (Barabadi et al. 2019). However, a rather limited number of studies has looked into genotoxic effects of MNPLs, and in those studies, hemocytes of aquatic organisms have been used as cell targets to detect any possible DNA damage. The researchers reported that MNPLs smaller than 100 µm induced DNA damage (Avio et al. 2015).

Although no contamination was thought to occur in Polar Regions, organic contaminants have been constantly detected in Antarctica since the early 1960s, when bases were set up for research purposes (Fidan and Ayar 2021). Increased fishing, touristic activity, and vehicle traffic appear to be the source of contamination in that region. A variety of sources such as waste disposal and ocean currents that carry microplastics (MPs) to Antarctica have been often shown as culprits (Fraser et al. 2016). Fidan and Ayar (2021) obtained water samples from three different stations in the Antarctic Peninsula to test the toxicity of water on *D. melanogaster*, reporting no adverse effects in flies, which could suggest that the contamination in that area has yet to reach the critical threshold.

Zhang et al. (2020) investigated possible interactions of MPs with other environmental and health hazards of common pollutants such as cadmium (Cd) and cadmium compounds in *D. melanogaster*, reporting that combined exposure to MPs with such materials could lead to gut damage in larvae and young flies, as well as impaired locomotor-behavioral function among adults. Besides, exposure to cadmium

components were found to induce dramatic levels of gene-silencing in somatic cells. Their findings further support the dynamic potential of *D. melanogaster* as an experimental model in studies assessing possible effects of exposure to other contaminants mediated by MPs.

In another study, Jimenez-Guri et al. (2021) exposed *D. melanogaster* to MPs like polyvinyl chloride through food culture, and although they detected no effects on the size of adult flies nor on their immune capacity as compared to controls, the researchers found significant changes in the fecundity and male-to-female ratio.

Furthermore, Liu et al. (2022) explored the impact of MP exposure on *Drosophila*, discovering that such exposure caused a serious damage to adult fly's retina along with lower reproductive capacity. Such MP-induced phenotypes could be attributed to the altered gene expression caused by ligand-receptor interaction, phototransduction, endocytosis, and signaling pathways of Toll and immune deficiency (Imd).

Lastly, Demir (2021b) demonstrated that polystyrene microplastics (PSMPs) produced genotoxic effects in *Drosophila*. In this study, PSMPs induced genotoxic activity predominantly via initiation of somatic DNA recombination in a concentration-dependent manner.

### 3.4. Heavy Metals

A common group of environmental contaminants, heavy metals may prove to be toxic at low concentrations during the period from embryo formation to fetal development and birth (Gundacker and Hengstschläger 2012). For instance, Cd, both natural and industrial sources, has shown toxicity in animal tests. Another common contaminant, mercury (Hg) may enter the food chain through fish and seafood. Exposure to mercury during pregnancy could jeopardize the development of embryo and fetus through ROS formation and oxidative damage to macromolecules (Davidson et al. 2008). Research on mixtures of heavy metals, such as Cd, nickel, and lead along with arsenic and Cd has found increased mortality and immobilisation rates in *Daphnia magna* (Le et al. 2013). In the literature, heavy metal accumulation in the different organs and tissues and genetic damage in the blood samples were detected in the wild rodents (*Microtus guentheri*) collected from heavy metal contaminated areas (Turna Demir and Yavuz 2020).

Shilpa et al. (2021) studied the effects of heavy metal accumulation by exposing *D. melanogaster* to lead (Pb), an

environmental pollutant known to be associated with autism spectrum disorder (ASD), during the larval and adult stages. They reported that exposure to varying doses of Pb (0.2 to 0.8 mM) resulted in accumulation of Pb inside *Drosophila* brain and caused oxidative stress, which apparently led to ASD-specific symptoms like increased social spacing and grooming, as well as decreased memory, climbing, and learning. Their findings suggest that oxidative stress caused by Pb exposure from larval stage could lead to human ASD-specific behavioral patterns in *Drosophila*. In a recent study, Yang et al. (2022) showed that Cd exposure caused DNA damage, oxidative stress via ROS, changes of apoptosis related genes in *Drosophila* larvae.

### 3.5. Pharmaceuticals

Wide range of pharmaceuticals are known to contaminate the environment which include non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) like high-dose aspirin, contraceptives, and antibiotics, whose mixture may prove to have highly toxic effects (Kümmerer 2009). In a toxicity study using *Daphnia magna*, a small planktonic crustacean, as a model organism, for example, exposure to mixture of NSAIDs was reported to cause significantly greater toxicity than individual medications (Cleuvers 2004). Another study reported that while exposure to individual drugs immobilized only 1% and 16% of *D. magna*, respectively, mixture of both drugs led to the immobilization of 95% (Cleuvers 2003), which represents a significantly greater toxicity than expected. Furthermore, a mixture of different antidepressant agents has been reported to result in higher deformity and mortality than single agents (Flaherty and Dodson 2005).

Antibiotics have also recently gained attention as emerging environmental pollutants associated with various harmful effects such as obesogenic properties. In a study, *D. melanogaster* were exposed to antibiotics, and the effects were measured on circadian rhythm, lipid metabolism, and microbiota. Circadian rhythm disorder was examined owing to its relationship with lipid metabolism and microbiota in obesity. Their results indicate that antibiotics could induce obesogenic effects as well as dysrhythmia and disturbances in lipid metabolism and microbiota (Yu et al. 2020).

### 3.6. Xenoestrogens

Considered as environmental chemical contaminants, xenoestrogens are known to act like endogenous hormones or impair endocrine processes, and they are abundant in most types of plastics, cosmetic products, packaging, drug coatings, and cosmetics (Klingmüller and Alléra 2011).

Toxicity tests on mammals have revealed their toxic effects on reproductive system and embryonic health (Varayoud et al. 2011). Plasticizers, chemicals employed to produce more durable plastics, pharmaceuticals, and cosmetic products are also known for their potential threat to endocrine processes. Animal trials indicate that chronic exposure to plasticizers, or more commonly known as phthalates, exerts a serious impact on reproductive health, possibly leading to infertility (Kay et al. 2013). Previous research using cell cultures derived from monkey kidney demonstrates that 24-hour exposure to propylparaben, a type of preservative often found in cosmetic creams, shampoos, and lotions, results in increased oxidative DNA damage and induce cell death or cell cycle arrest (Martín et al. 2010).

Commonly used in wood paints applied to ships to prevent them from damage from marine organisms, tributyltin (TBT) may leak into aquatic environments, potentially causing pollution. In rats, exposure to tributyltin compounds after embryonic implantation has been found to increase the rate of malformation and loss in fetus. Another endocrine-disrupting type of xenoestrogen, triclosan (TCS) is usually present across several ecosystems due to its widespread use in consumer products. It has been reported that chronic exposure to triclosan could impair thyroid homeostasis in female rats and pubertal development in their offspring (Paul et al. 2012). Besides, it has been observed that rats exposed to triclosan during pregnancy suffer hypothyroxinemia at all stages of reproduction (Paul et al. 2012).

## 4. Other Pollutants

### 4.1. Indoor Air Pollutants

Because individuals in modern cultures spend the majority of their time indoors, air contaminants such as volatile organic compounds (VOCs) occur more frequently and at higher concentrations indoors than outdoors, indoor air quality has become a serious health concern. Formaldehyde, acetaldehyde, benzene, toluene, and perchloroethylene are examples of rather hazardous indoor VOCs, with toluene and formaldehyde most commonly found in workplaces and households. VOC exposure can cause a variety of health problems. However, the majority of research on indoor air pollution has relied on measuring VOCs in household indoor/outdoor habitats and human samples. Animal models for inhalation toxicity research are rather limited, with rodents being the most frequently used models, though animal testing on such mammals for screening indoor air pollution has its drawbacks (Wang et al. 2012).

*D. melanogaster* is one of the most actively researched alternative model organisms because it offers significant benefits over other model organisms, notably in the monitoring of air pollution. These flies have been reliably used to test the toxicity of compounds at various developmental stages, including heavy metals, industrial VOCs, and anesthetic agents (Rand 2010). Research has also been utilizing *Drosophila* to understand the mechanisms and genetics underlying susceptibility to ethanol intoxication, to measure variations in metabolic rate during exposure to gasoline components, to analyze olfactory avoidance behavior, and to describe neurotransmitter pathways influenced by volatile fungal toxins. Toluene and formaldehyde exposure causes toxicity, and gene expression in fruit flies, according to (Eom et al. 2017).

The majority of inhalation toxicity research has been carried out on rodent models. However, some researchers adapted such toxicity studies to *Drosophila*, an excellent model for studying the molecular processes of responses to air pollutants. Despite the lack of lungs, the airway systems of *Drosophila* can be compared to respiratory systems of mammals to serve as valuable model species for inhalation toxicity tests (Posgai et al. 2009).

Several studies conducted by Win-Shwe and Fujimaki et al. (Win-Shwe and Fujimaki 2010) have demonstrated that long-term exposure to low levels of toluene can disrupt neuroimmune crosstalk in the central nervous system. A genome-wide gene expression profile analysis on *Drosophila* revealed that toluene exposure altered numerous genes involved in biological regulation, defensive response, metabolic function, cell cycle, and circadian rhythms (Moskalev et al. 2014). However, no studies on the neurotoxic consequences of formaldehyde inhalation in *Drosophila* have been published. The microarray experiment by Eom et al. (2017) suggested that formaldehyde inhalation might also impair the *Drosophila* nervous system.

Recently, Weitekamp and Hofmann (2021) examined the impact of indoor air pollutants on locomotor behavior and possible changes in gene expression in *D. melanogaster*, by analyzing their aggressive behavior and courtship routines because this in-vivo model offers a series of advantages in such testing. They reported that exposure to toluene or formaldehyde via inhalation resulted in significant changes in gene expression comparable to those reported in higher vertebrates, which seriously altered pathways associated with stress and immune capacity.

Another study by Thimmegowda et al. (2020) also exposed *D. melanogaster* to air pollutants, detecting marked changes in locomotor behavior, survival, heart rate, hemocytes, along with changes in the expression of certain genes, particularly those known to play a role in immunity, stress, and metabolism. Macedo et al. (2022) reported that 1-octen-3-ol, known as mushroom alcohol, is a fungal VOC caused adverse mitochondrial activity and induced oxidant stress (nitric oxide (NO) and ROS) in *D. melanogaster*.

Since the body of *D. melanogaster* carries genes quite similar to those of humans - as much as 60% of *D. melanogaster*'s DNA is identical to that of humans - it stands out as an ideal experimental model to test potential health hazards of exposure to environmental pollutants. Besides, more than 70 percent of genetic material responsible for human diseases, including ASD, diabetes mellitus, and various cancers, displays a functional homolog in *D. melanogaster* (Lloyd and Taylor 2020). *Drosophila* was found to be a suitable model organism to determine the entry of various environmental pollutants into cells following exposure via inhalation and ingestion. Particularly, lethality and genotoxicity upon such exposure to environmental pollutants have been thoroughly studied for its potential adverse health consequences.

#### 4.2. Haloalkanes

Over the recent decades, haloalkanes, a group of chemical compounds, have been utilized in industry as solvents, cleansers, anesthetics, and antiseptics. Some of these haloalkanes are thought to be present as pollutants in drinking water and chlorinated swimming pools. In general, haloalkanes are severely hepatotoxic and are proven human carcinogens. Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity has been widely researched throughout the years (Weber et al. 2003).

Lastly, Turna Demir (2022) noted that 1,4-Dioxane (DXN), which is a drinking water pollutant, caused toxic and genotoxic (mutagenic, recombinogenic, and DNA damage) effects in *D. melanogaster*. In addition, the nontoxic doses of DXN significantly induced oxidative stress, thermal sensitivity, abnormal phenotypic alterations, and climbing behavior.

#### 4.3. Hydrazines

Hydrazines are pollutants in the environment, are found in edible mushrooms, and are employed in medicine. Hydrazines are harmful in general, causing a range of toxic insults such as



liver toxicity, carcinogenicity, and mutagenicity. Hydralazine, the least hazardous of the hydrazines, causes DNA damage, severe forms of systemic lupus erythematosus, and a rise in lung tumor incidence in mice. Because of the importance of hydrazine derivatives as environmental and food pollutants, as well as their value in medicine, a substantial amount of study has been conducted to unravel the processes of toxicity of these molecules. According to research, when hydrazine derivatives are oxidized (mediated by metal ions, cytochrome P-450, and peroxidases), they produce free radicals that cause DNA oxidation and damage (Song et al. 2020). It has been postulated that substituted hydrazines can alkylate DNA by nucleophilic assault rather than free radical production. Nonetheless, DNA alkylation has been linked to carcinogenic events.

#### 4.4. Smog

Smog, a serious health issue in industrialized countries, is frequent in big metropolitan areas, particularly during hot, bright weather. People over 65, as well as those with heart or lung problems, are especially vulnerable since the NOs, sulfur dioxide, and ozone included in this pollution are known to cause cellular damage through the formation of free radicals. Sulfite exposure has also been linked to allergic responses and bronchoconstriction in susceptible human groups. Ozone is a hazardous gas that is one of the principal pollutants in photochemical smog. It has been linked to lung inflammation and alveolar epithelial damage. It has been proposed that free radicals produced by the breakdown of secondary ozonides, a reaction result of ozone with unsaturated lipids, cause these effects (Wong 2017). Ozone has also been shown to cause DNA damage in cells via free radical-mediated processes (Wagner et al. 2021).

Eom et al. (2017) conducted an inhalation toxicity test using toluene and formaldehyde on *D. melanogaster* in order to investigate potential dangers of indoor air pollution. Their computational behavior analysis detected that such exposure impaired behavioral patterns of *Drosophila*. Inhalation of these compounds were found to cause severe toxicity besides significant changes in behavior and gene expression.

### 5. Toxic Effects of Environmental Pollutants on the Gut Microbiota

Dramatic changes in microbiota composition and/or optimal functions are have been linked to various metabolic and immune diseases, such as Crohn's disease (Darfeuille-Michaud et al. 2004), diabetes (Qin et al. 2012), allergic reactions (Ling et al. 2014), and colorectal cancer (Nakatsu et al. 2015).

Previous scientific work has found that human exposure to endocrine-disrupting chemicals to obesity, diabetes, and metabolic syndrome. However, it is unclear how the gastrointestinal (GI) microbiota and environmental chemicals interact and whether these interactions are relevant for human health. A recent review suggests that GI microbes might be playing a role in obesity and diabetes by altering the absorption, disposition, metabolism and excretion of environmental chemicals. Here we present the xenobiotic-metabolising capabilities of the GI microbiota and then address certain environmental contaminants identified as substrates of the GI microbiota. Even though several chemical reactions are attributed to GI microorganisms, limited number of enzyme families have so far been nominated for microbial metabolism of xenobiotics, which include sulfatases,  $\beta$ -glucuronidases,  $\beta$ -lyases, azoreductases, and nitroreductases (Claus et al. 2016).

Within the last decades, research into gut microbiota employed mostly utilized mammal test models to explore the role of interaction between microbiota, gut, and brain. However, *Drosophila* allows researchers to efficiently study the mechanisms whereby gut microbes affect the brain functions through observations of innate behaviors including courting routines, aggression, locomotor behavior, and temperature-related behavior (Chiang et al. 2022). Although there are a few studies to have reported no relationship between gut microbiota and courting routine in *Drosophila* (Jia et al. 2021); we should note that those studies employed different wild-types and different methods.

Li et al. (2022) reported exhaust gases from traffic significantly impaired life span and locomotion in *Drosophila*, with an increase in bacterial load in the guts upon exposure to such gases, which could induce microbiome depletion in guts, thus triggering changes in Imd and DUOX gene expression.

Different types of environmental pollutants are metabolized in the gastrointestinal flora. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are most commonly found in cigarette smoke, diesel exhaust, particulate matter (PMs) in urban air pollution and certain foods like smoked and grilled meat. Some have been classified as probable human carcinogens, and exposure to PAHs is linked to greater risk of lung and bladder cancer. In their study investigating their effects on human microbiota, Van de Wiele et al. (2005) found that PAH molecules were not oestrogenic, while the colonic digests displayed a significant oestrogenic activity, which suggests that the microorganisms within the human colon might bioactivate

PAHs by converting them into oestrogenic molecules. As for further toxicological potential, rat and human gut microbiota have been shown to be able to regenerate benzo(a)pyrene from its hepatic conjugate and reverse the endogenous detoxification (Claus et al. 2016).

Although certain synthetic pesticides, such as dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), have been banned in most developed countries, some of them widely persist as a source of contamination. Developed in the 1940s, DDT, the first modern synthetic insecticide, has been found to promote oestrogenic and antiandrogenic activity in specific tissues (Kim et al. 2014). Exposure to this compound increases the risk of developing several different types of cancers and metabolic diseases (Mrema et al. 2013). *In vivo* research carried out on rats, found that rats receiving DDT by stomach tube metabolized it into Dichlorodiphenyldichloroethane (DDD), which suggests possible involvement of the GI microbiota in DDT metabolism. Unfortunately, the role of the gut microbiota on pesticide metabolism has not been adequately investigated, and further research is warranted in this field.

Humans are primarily exposed to polychlorobiphenyls (PCBs) via ingestion of contaminated food, as well as inhalation and dermal contact. They have been associated with an increased risk of breast cancer (Negri et al. 2003), impaired reproductive function (Buck Louis 2014), and metabolic disruptions (Kim et al. 2014). The major metabolic route in mammals is hydroxylation followed by excretion, so the gut microbiota could be playing a crucial role in the formation of MeSO<sub>2</sub>-PCBs. The metabolism of PCBs to MeSO<sub>2</sub>-PCBs mediated by gut bacteria appears to be important from a toxicological perspective, because of their lipophilicity. Such compounds have been reported to accumulate in the human liver, lungs and adipose tissue, and may well be linked to lung dysfunction complaints occurring in poisoning due to food contamination incidents (Claus et al. 2016).

Some metals, including mercury, lead, cadmium, and arsenic, could be highly poisonous to living creatures. The highest toxicity is recorded in organic mercury compounds, and methylmercury (MeHg) is the main source of organic mercury in humans. Exposure to MeHg comes almost exclusively from consumption of seafood. Experiments that associated a decline or lack of gut microbiota with reduced faecal excretion of total mercury have been reported to confirm that demethylation for mercury is carried out by a microbial community in the gastrointestinal tract (Claus et al. 2016).

Another source of metal contamination, bismuth is a crystalline metal that can easily melt and so is often used in cosmetics, pharmaceuticals, alloys and pigments. Faeces samples collected from humans and isolated gut segments from rats have been found to metabolize bismuth into trimethyl bismuth, which is a toxic derivative of this metal (Michalke et al. 2008). Most notably, derivatives of other elements such as arsenic, antimony, tin and lead, have been reported to be produced at higher rates. Since volatile derivatives of metals often have greater toxicity than their inorganic precursors, such transformations mediated by gut microbiota might exert a significant impact on the host organism, however further *in vivo* studies are required to reach conclusive evidence in this respect.

Several chemical compounds are derived from benzene, which include phenol, toluene, and aniline. Nitrobenzene and its derivatives (NBDs) are highly toxic compounds released into the environment by human activity. Exposure to nitrobenzene is known to have a negative impact on the neurological system, cause liver necrosis, and degenerate seminiferous epithelium cells in animal trials. Studies on material in the cecum revealed that the gut microbiota continuously converted nitrobenzene to potentially hazardous NBDs. Antibiotic treatment has been reported to reduce reductive metabolite excretion and offer protection against methemoglobinemia induced by exposure to nitrobenzene. Therefore, the gut microbiota could be suggested to be main predictor of toxicity caused by NBDs (Claus et al. 2016).

Known for their vibrant orange and red hues, azo dyes are synthetic compounds accounting for more than half of global annual dye production, therefore much research has been focusing on the toxic potential of these compounds ever since they were associated with higher risk of cancer development as early as 1895. Certain azo dyes that are often utilized as food colourants have been reported to have very limited cytotoxic, mutagenic or carcinogenic effects, whereas others extensively used in industrial applications such as Sudan dyes are not permitted for food coloring due to their known toxicity. These solvent dyes are readily absorbed through the dermal route and human exposure mainly occurs via inhalation and ingestion. Recent and previous research offers unequivocal evidence that most azo dyes, once absorbed by the human body, can undergo microbiota-mediated decomposition and form carcinogenic amines (Feng et al. 2012). Some of the metabolites produced by gut microbiota in this way could be carcinogenic to

humans even though the parent azo dyes may not have an established potential to produce cancer (Feng et al. 2012).

A nitrogen-based compound often used to manufacture strong plastics and glues, melamine could at some instances be illegally used in protein content analyses as adding melamine to pet food or infant formula gives a falsely high protein level. As it is quite cheap and readily available, people in underdeveloped countries may see a financial opportunity despite its legal prohibition. The most common damage of melamine exposure in humans is kidney stones formed from melamine and uric acid, or from melamine and cyanuric acid. Zheng et al. (2013) reported that antibiotic therapy reduced the severity of melamine toxicity in rats and that melamine was converted to cyanuric acid *in vitro* by bacteria cultured from rat faeces. However, rats colonised with *Klebsiella terrigena* were found to suffer intensified renal damage induced by melamine (Zheng et al. 2013). The toxic effects of melamine on kidneys appears to have been mediated by the gut microbiota, depending on metabolic activities of microbial community in the gastrointestinal tract.

The health effects of artificial sweeteners have been a controversial issue. While some research reports benefits, others indicate greater risk of diabetes (Nettleton et al. 2009). Among the most commonly used artificial sweeteners in Europe is cyclamate, which is metabolised into cyclohexylamine, and this has been shown as the culprit that causes cancer, but such toxicity is still disputed in the scientific community. Cyclohexylamine has been identified as the primary urinary metabolite of  $^{14}\text{C}$ -cyclamate in human and animal experiments. There is also plenty of evidence suggesting that gut microbiota is responsible for cyclamate metabolism. *In vitro* research has revealed that cyclamate is converted to cyclohexylamine by lower gut contents. An *in vivo* study gave lab rats different doses of cyclamate in drinking water for several months and found that they began to convert it into cyclohexylamine, however when they added antibiotics to water, they observed that this ability to convert cyclamate was lost. Several studies have made these observations in humans, offering conclusions that the gut microbiota could be solely responsible for metabolizing cyclamate (Claus et al. 2016). Demir et al. (2014) observed that the potential genotoxicity of different sweeteners (aspartame, acesulfame K, sucralose and saccharin) in *Drosophila* wing spot test and the Comet assay. They found that saccharin, acesulfame K and sucralose did not genotoxic effect in the used two assays. On the other

hand, obtained results from aspartame in the Comet assay show a genotoxic effect.

Environmental pollutants can affect the metabolic activity or content of the gastrointestinal flora. Environmental factors, including lifestyle, eating habits and antibiotic use may easily affect the gut microbiota. The microbiome influences neurodevelopment, regulates behaviour and contributes to various neurological and neuropsychiatric disorders (Schretter et al. 2018). A range of environmental chemicals have also been shown to inhibit bacterial growth in the gut or to cause dysbiosis. Recent research indicates that both changes in microbial colonization during the perinatal period and exposure to environmental chemicals early in life can lead to impaired immune function (Menard et al. 2014). Thus, exposure to environmental contaminants might be affecting normal colonization of bacteria in the gastrointestinal tract, with effects on host physiology during later stages of life.

Furthermore, there is a general agreement that a balanced gut flora should not be defined as an idealized assembly of particular microbe populations, but rather that the microbes community should be able to perform a set of metabolic functions in collaboration with its host, though this series of metabolic functions has yet to be described. This is noteworthy since some xenobiotics may affect gastro intestinal microbiome composition without causing dysbiosis: as such, once fresh human faecal samples were incubated with antibiotics or host-targeted drugs, all host-targeted drugs resulted in significant changes of microbial gene expression, such as genes that control xenobiotic metabolism, despite having negligible short-term effects on microbial community structure (Maurice et al. 2013). A range of environmental contaminants rendered hazardous due to microbiome-mediated metabolism may be affected by such interactions, leading to alterations in their toxicity and risks. These compounds are also described in Table 2.

A common type of phosphonic acid, glyphosate is a popular pesticide moderately used to kill certain insects and weeds with relatively low toxicity to mammals. The lowest concentrations of glyphosate has been reported to inhibit the growth of *Enterococcus faecalis* isolated from excrements of farm animals (Krüger et al. 2013). Sensitivity to glyphosate appears to change from one strain of bacteria to another. While some bacteria such as certain Salmonella and Clostridium species are resistant to glyphosate, other good bacteria such as Enterococcus species, *Bacillus badius*, and *Bifidobacterium adolescentis* may be highly vulnerable to this compound (Shehata et al. 2013).

**Table 2.** Human exposure to environmental pollutants and their gut microbiota alteration effects.

Type of chemical	Exposure	Effects	Source material	References
Pesticides	<ul style="list-style-type: none"> <li>- DDT; 0.29 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> bw per day through nutrition</li> <li>- Chlorpyrifos; 0.01 to 0.14 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> bw per day through nutrition</li> </ul>	Dysbiosis at adulthood of rats was induced after perinatal exposure to chlorpyrifos (1 mg/kg bw per day).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Food</li> <li>- Pollutants in air</li> </ul>	Joly et al. 2013
Polychlorobiphenyls (PCBs)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Non-dioxin-like (NDL)-PCBs: 2.71 ng/kg bw per day through nutrition</li> </ul>	The PCBs mixture reduced the amount of many bacteria (especially Proteobacteria).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Soil</li> <li>- Water sediments</li> </ul>	Choi et al. 2013
PCBs	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dioxin-like (DL)-PCBs: 0.29 pg toxic equivalency (TEQ) WHO<sub>98</sub>/kg bw per day through nutrition</li> </ul>	The PCBs mixture decreased the amount of many bacteria.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Soil</li> <li>- Water sediments</li> </ul>	Choi et al. 2013
Metals	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cadmium 0.16 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> bw per day through nutrition</li> <li>- Lead 0.2 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> bw per day through nutrition</li> <li>- Arsenic 0.78 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> bw per day through nutrition.</li> </ul>	Cadmium, Lead and arsenic induced dysbiosis in mouse.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ubiquitous environmental contaminants</li> </ul>	Fazeli et al. 2011, Lepage et al. 2011, Breton et al. 2013
Artificial sweeteners	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acceptable daily intake (ADI) (Food and Drug Administration; FDA, US): Saccharin: 15 mg/kg bw, Aspartame: 50 mg/kg bw</li> </ul>	Saccharin and aspartame induced dysbiosis in mouse and human.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Food additives</li> </ul>	Palmnäs et al. 2014, Suez et al. 2014
Other persistent organic pollutants (POPs) (e.g., Polychlorinated dibenzofurans; PCDFs)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- PCDD/Fs 0.176 pg TEQ WHO<sub>98</sub>/kg bw per day through nutrition</li> </ul>	2,3,7,8 Tetrachlorodibenzofuran (TCDF) induced dysbiosis in mouse.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Environmental pollutants produced during industrial processes</li> </ul>	Zhang et al. 2015
Nanoparticles (NPs)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- NPs can enter living organisms through inhalation, ingestion or by direct contact with the food web.</li> </ul>	Silver: Reduction in the diversity of the gut microbiota of Ag NP-treated larvae in <i>D. melanogaster</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Foods and food packaging, electronics, clothing, sunscreens, medical goods and cosmetics</li> </ul>	Han et al. 2014



Another environmental contaminant, chlorpyrifos is an organophosphate insecticide widely used to protect crops against pests. An *in vitro* study on the human gastrointestinal tract inoculated with faeces from healthy humans examined the toxicity of chronic exposure to chlorpyrifos, as well as *in vivo* tests in rats exposed to the compound from fetal stage to 60 days of age (Joly et al. 2013). Exposure to chlorpyrifos induced dysbiosis of gut microbiota and decreased levels of friendly bacteria. As far as we are aware, this is the only study to investigate the impact of perinatal exposure to low doses of environmental contaminants on gut microbiota.

A study where rats were exposed to cadmium through drinking water reported a sharp reduction in the populations of all microbial communities (Fazeli et al. 2011). Furthermore, chronic exposure to cadmium and lead in rats resulted in specific changes in the composition of microbiota. Animals that were exposed to heavy metals through food have been found to have lower count of friendly bacteria as compared to controls, but such exposures led to no toxicity and or hepatotoxicity, as well as no significant changes in behaviour, body weights, food intake, stool consistency or gut motility (Breton et al. 2013). Nevertheless, low count of friendly bacteria the family Lachnospiraceae have been associated with intestinal inflammation and predisposition to colitis (Lepage et al. 2011). Another study exposing rats to arsenic for 4 weeks reported a significant reduction in Firmicutes population, but not in Bacteroidetes numbers. Such changes in gut microbiota have been associated with metabolic activity alterations as evidenced by steep variation in a range of microbial co-metabolites detected in excrement samples of model organisms (Lu et al. 2014).

Common artificial sweeteners are known to contain compounds such as aspartame, sucralose and saccharin, which have been shown to cause significant disruption to the microbiota homeostasis and disproportionate microflora, changes in metabolic activities of animals and humans. Studies on mice exposed to sucralose have reported increased faecal counts of total anaerobes, with decline in the count of friendly bacteria (Abou-Donia et al. 2008). Likewise, another study treating mice with low doses of aspartame in drinking water detected a rise in total bacteria and in *Enterobacteriaceae* and *Clostridium leptum* counts (Palmnäs et al. 2014), as well as higher serum propionate and elevated fasting glucose values. A human study involving five to seven days of saccharin consumption reported that the majority of participants had significantly poorer glycemic response and marked changes in their gut microbiota during

the study (Suez et al. 2014). Overall, these findings points to the fact that each individual responds to artificial sweetener exposure differently, possibly resulting from the variations in their gut microbiota composition.

## 6. Conclusions

*Drosophila* can dynamically meet requirements of toxicity studies looking into environmental contaminants as it allows optimization of pathway-specific screening, facilitates rapid testing of samples at cellular or molecular levels, and rapid identification of genes responsible for interactions with environmental contaminants. Its ability to reflect the true interactions between DNA and environment might shed light on the toxicity mechanisms of certain substances. Even though *in vivo* research carried out with other non-mammalian models like zebrafish (*Danio rerio*) may offer some solution, *Drosophila* appears to be superior at many levels, and it allows researchers to process numerous samples in a short time and to identify antibodies and genes regulating certain pathways at much lower costs, yielding valuable data on vital parameters like longevity, survival, mortality, and mutagenicity (Demir 2020a, 2022). Also, ethical rules (3R: Replacement, Reduction, and Refinement) concerned with vertebrate animals do not apply to *Drosophila* (Jennings 2011). Lastly, the toolbox of *Drosophila* which allows easy genetic manipulation is unique among different model organisms such as *D. rerio*, *Caenorhabditis elegans* (worm), and *Daphnia magna* (Mohr et al. 2014).

This review summarizes our current knowledge from previous *in vitro* and *in vivo* research that scrutinizes the impact of several environmental contaminants on various mammals and non-target model organisms at several genetic, cellular, and molecular levels, as well as possible mechanisms of their toxicity. Although *in vitro* approaches are the most used for testing the potential harmful effects of environmental pollutants in different properties, *in vivo* studies can provide much more important information complementing *in vitro* data. *D. melanogaster* has become an ideal model organism for the risk assessment and ecotoxicological classification of environmental pollutants on the environment and human health. *D. melanogaster* can be used as an ideal model organism for the risk assessment and toxicological classification of environmental contaminants. In this context, *D. melanogaster* can prove an ideal model organism for their risk assessment and toxicological classification, since it shares an outstanding amount of physiological features in molecular pathways with humans. The new research field

known as Drosophotoxicology may offer valuable data on the hazards of environmental contaminants. Collaboration with this valuable species of fruit fly has played an integral part in numerous Nobel-winning studies, and it will definitely serve as a versatile toolbox to further our understanding of environmental contaminants and their effects on living organisms.

## 7. References

- Abou-Donia, MB., El-Masry, EM., Abdel-Rahman, AA., McLendon, RE. and Schiffman, SS. 2008.** Splenda alters gut microflora and increases intestinal p-glycoprotein and cytochrome p-450 in male rats. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 71: 1415-1429. <https://doi.org/10.1080/15287390802328630>
- Al-Gubory, KH. and Garrel, C. 2012.** Antioxidative signaling pathways regulate the level of reactive oxygen species at the endometrial-extraembryonic membranes interface during early pregnancy. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 44: 1511-1518. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.06.017>
- Alimba, CG. and Faggio, C. 2019.** Microplastics in the marine environment: current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 68: 61-74. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.001>
- Avio, CG., Gorbi, S., Milan, M., Benedetti, M., Fattorini, D., d'Errico, G., Pauletto, M., Bargelloni, L. and Regoli, F. 2015.** Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environ. Pollut.*, 198: 211-222. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.021>
- Barabadi, H., Najafi, M., Samadian, H., Azarnezhad, A., Vahidi, H., Mahjoub, MA., Koohiyan, M. and Ahmadi, A. 2019.** A systematic review of the genotoxicity and antigenotoxicity of biologically synthesized metallic nanomaterials: are green nanoparticles safe enough for clinical marketing? *Medicina (Kaunas)*, 55: 439. <https://doi.org/10.3390/medicina55080439>
- BASF Online Report. 2020.** <https://report.basf.com/2020/en/>
- Bianchi, J., Mantovani, MS. and Marin-Morales, MA. 2015.** Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. *J. Environ. Sci.*, 36: 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.03.034>
- Brandon, JA., Freibott, A. and Sala, LM. 2020.** Patterns of suspended and salp-ingested microplastic debris in the North Pacific investigated with epifluorescence microscopy. *Limnol. Ocean Lett.*, 5: 46-53. <https://doi.org/10.1002/lo12.10127>
- Breton, J., Massart, S., Vandamme, P., De Brandt, E., Pot, B. and Foligné, B. 2013.** Ecotoxicology inside the gut: impact of heavy metals on the mouse microbiome. *BMC Pharmacol. Toxicol.*, 14: 1-11. <https://doi.org/10.1186/2050-6511-14-62>
- Buck Louis, GM. 2014.** Persistent environmental pollutants and couple fecundity: an overview. *Reproduction*, 147: R97-R104. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0472>
- Carbajo, JB., Perdígón-Melón, JA., Petre, AL., Rosal, R., Letón, P. and García-Calvo, E. 2015.** Personal care product preservatives: risk assessment and mixture toxicities with an industrial wastewater. *Water Res.*, 72: 174-185. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.12.040>
- Carbery, M., O'Connor, W. and Palanisami, T. 2018.** Trophic transfer of microplastics and mixed contaminants in the marine food web and implications for human health. *Environ. Int.*, 115: 400-409. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.007>
- Chang, JW., Yan, BR., Chang, MH., Tseng, SH., Kao, YM., Chen, JC. and Lee, CC. 2014.** Cumulative risk assessment for plasticizer-contaminated food using the hazard index approach. *Environ. Pollut.*, 189: 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.02.005>
- Charroux, B. and Royet, J. 2012.** Gut-microbiota interactions in non-mammals: What can we learn from *Drosophila*? *Semin. Immunol.*, 24: 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2011.11.003>
- Chiang, MH., Ho, SM., Wu, HY., Lin, YC., Tsai, WH., Wu, T., Lai, C-H. and Wu, C-L. 2022.** *Drosophila* Model for Studying Gut Microbiota in Behaviors and Neurodegenerative Diseases. *Biomedicines*, 10: 596. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030596>
- Choi, JJ., Eum, SY., Rampersaud, E., Daunert, S., Abreu, MT. and Toborek, M. 2013.** Exercise attenuates PCB-induced changes in the mouse gut microbiome. *Environ. Health Perspect.*, 121: 725-730. <https://doi.org/10.1289/ehp.1306534>
- Claus, SP., Guillou, H. and Ellero-Simatos, S. 2016.** The gut microbiota: a major player in the toxicity of environmental pollutants? *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2: 16003. <https://doi.org/10.1038/npjbiofilms.2016.3>
- Cleuvers, M. 2003.** Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol. Lett.*, 142: 185-194. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(03\)00068-7](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(03)00068-7)
- Cleuvers, M. 2004.** Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59: 309-315. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00141-6](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00141-6)
- Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, AL., Barnich, N., Bringer, M-A., Swidsinski, A., Beaugerie, L. and Colombel, J-F. 2004.** High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 127: 412-421. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.04.061>

- Davidson, PW., Strain, JJ., Myers, GJ., Thurston, SW., Bonham, MP., Shamlaye, CF., Stokes-Riner, A., Wallace, JM., Robson, PJ., Duffy, EM., Georger, LA., Sloane-Reeves, J., Cernichiari, E., Canfield, RL., Cox, C., Huang, LS., Janciuras, J. and Clarkson, TW. 2008. Neurodevelopmental effects of maternal nutritional status and exposure to methylmercury from eating fish during pregnancy. *Neurotoxicology*, 29: 767-775. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2008.06.001>
- de Sousa, G., Nawaz, A., Cravedi, JP. and Rahmani R. 2014. A concentration addition model to assess activation of the pregnane X receptor (PXR) by pesticide mixtures found in the French diet. *Toxicol. Sci.*, 141: 234-243. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu120>
- Demir, E. 2020a. An in vivo study of nanorod, nanosphere, and nanowire forms of titanium dioxide using *Drosophila melanogaster*: toxicity, cellular uptake, oxidative stress, and DNA damage. *J. Toxicol. Environ. Health Part A*, 83: 456-469. <https://doi.org/10.1080/15287394.2020.1777236>
- Demir, E. 2020b. *Drosophila* as a model for assessing nanopesticide toxicity. *Nanotoxicology*, 14: 1271-1279. <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1815886>
- Demir, E. 2021b. Adverse biological effects of ingested polystyrene microplastics using *Drosophila melanogaster* as a model in vivo organism. *J. Toxicol. Environ. Health Part A*, 84: 649-660. <https://doi.org/10.1080/15287394.2021.1913684>
- Demir, E. 2021c. A review on nanotoxicity and nanogenotoxicity of different shapes of nanomaterials. *J. Appl. Toxicol.*, 41: 118-147. <https://doi.org/10.1002/jat.4061>
- Demir, E. 2022. Mechanisms and biological impacts of graphene and multi-walled carbon nanotubes on *Drosophila melanogaster*: oxidative stress, genotoxic damage, phenotypic variations, locomotor behavior, parasitoid resistance, and cellular immune response. *J. Appl. Toxicol.*, 42: 450-474. <https://doi.org/10.1002/jat.4232>
- Demir, E., Turna, F., Aksakal, S., Kaya, B. and Marcos, R. 2014. Genotoxicity of different sweeteners in *Drosophila*. *Fresen. Environ. Bull.*, 23: 3426-3432.
- Eom, HJ., Liu, Y., Kwak, GS., Heo, M., Song, KS., Chung, YD., Chon, TS. And Choi, J. 2017. Inhalation toxicity of indoor air pollutants in *Drosophila melanogaster* using integrated transcriptomics and computational behavior analyses. *Sci. Rep.*, 7: 1-15. <https://doi.org/10.1038/srep46473>
- Fazeli, M., Hassanzadeh, P. and Alaei, S. 2011. Cadmium chloride exhibits a profound toxic effect on bacterial microflora of the mice gastrointestinal tract. *Hum. Exp. Toxicol.*, 30: 152-159. <https://doi.org/10.1177/0960327110369821>
- Feng, J., Cerniglia, CE. and Chen, H. 2012. Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota. *Front. Biosci.*, 4: 568-586. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5870118/?report=reader>
- Fidan, M. and Ayar A. 2021. An investigation of the toxic effects of water samples collected from 3 different regions of antarctica on *Drosophila melanogaster*. *Int. J. Sci. Lett.*, 3: 97-108. <https://doi.org/10.38058/ijsl.961391>
- Flaherty, CM. and Dodson, S.I. 2005. Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. *Chemosphere*, 61: 200-207. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.016>
- Fraser, CI., Kay, GM., du Plessis, M. and Ryan, PG. 2016. Breaking down the barrier: Dispersal across the Antarctic Polar Front. *Ecography (Copenhagen)*, 40: 235-237. <https://doi.org/10.1111/ecog.02449>
- Gao, Y., Feng, J., Han, F. and Zhu, L. 2016. Application of biotic ligand and toxicokinetic-toxicodynamic modeling to predict the accumulation and toxicity of metal mixtures to zebrafish larvae. *Environ. Pollut.*, 213: 16-29. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.073>
- Ghezzi, P. 2020. Environmental risk factors and their footprints in vivo - A proposal for the classification of oxidative stress biomarkers. *Redox Biol.*, 34: 101442. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101442>
- Gundacker, C. and Hengstschläger, M. 2012. The role of the placenta in fetal exposure to heavy metals. *Wien Med. Wochenschr.*, 162: 201-206. <https://doi.org/10.1007/s10354-012-0074-3>
- Han, X., Geller, B., Moniz, K., Das, P., Chippindale, AK. and Walker, VK. 2014. Monitoring the developmental impact of copper and silver nanoparticle exposure in *Drosophila* and their microbiomes. *Sci. Total Environ.*, 487:822-829. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.129>
- Jennings, BH. 201. *Drosophila*-a Versatile Model in Biology & Medicine. *Mater. Today*, 14: 190-195. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70113-4](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70113-4)
- Jensen, BH., Petersen, A., Nielsen, E., Christensen, T., Poulsen, ME. and Andersen, JH. 2015. Cumulative dietary exposure of the population of Denmark to pesticides. *Food Chem. Toxicol.*, 83: 300-307. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.07.002>
- Jia YC, Jin S, Hu KK, Geng L, Han CH, Kang RX, Pang, Y., Ling, E., Tan, EK., Pan, Y. and Liu, W. 2021. Gut microbiome modulates *Drosophila* aggression through octopamine signaling. *Nat. Commun.*, 12: 2698. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23041-y>
- Jimenez-Guri, E., Roberts, KE., García, FC., Tourmente, M., Longdon, B. and Godley, BJ. 2021. Transgenerational effects on development following microplastic exposure in *Drosophila melanogaster*. *Peer J*, 9: e11369. <https://doi.org/10.7717/peerj.11369>



- Joly C, Gay-Quéheillard J, Léké A, Chardon K, Delanaud S, Bach V and Khorsi-Cauet, H. 2013.** Impact of chronic exposure to low doses of chlorpyrifos on the intestinal microbiota in the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®) and in the rat. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 20: 2726-2734. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1283-4>
- Kadawathagedara, M., de Lauzon-Guillain, B. and Botton, J. 2018.** Environmental contaminants and child's growth. *J. Dev. Orig. Health Dis.*, 9: 632-641. <https://doi.org/10.1017/S2040174418000995>
- Kapeleka, JA., Sauli, E. and Ndakidemi, PA. 2021.** Pesticide exposure and genotoxic effects as measured by DNA damage and human monitoring biomarkers. *Int. J. Environ. Health Res.*, 31: 805-822. <https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1690132>
- Karwacka, A., Zamkowska, D., Radwan, M. and Jurewicz, J. 2019.** Exposure to modern, widespread environmental endocrine disrupting chemicals and their effect on the reproductive potential of women: an overview of current epidemiological evidence. *Hum. Fertil. (Camb)*, 22: 2-25. <https://doi.org/10.1080/14647273.2017.1358828>
- Kay, VR., Chambers, C. and Foster, WG. 2013.** Reproductive and developmental effects of phthalate diesters in females. *Crit. Rev. Toxicol.*, 43: 200-219. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.766149>
- Kim, KS., Lee, YM., Kim, SG., Lee, IK., Lee, HJ., Kim, JH., Kim, J., Moon, H-B., Jacobs Jr., DR. and Lee, D-H. 2014.** Associations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in visceral vs. subcutaneous adipose tissue with type 2 diabetes and insulin resistance. *Chemosphere*, 94: 151-157. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.066>
- Klingmüller, D. and Alléra, A. 2011.** Endocrine disruptors: hormone-active chemicals from the environment: a risk to humans? *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 136: 967-972. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1275832>
- Kortenkamp, A. 2007.** Ten years of mixing cocktails: are view of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ. Health Perspect.*, 115: 98-105. <https://doi.org/10.1289/ehp.9357>
- Krüger, M., Shehata, AA., Schrödl, W. and Rodloff, A. 2013.** Glyphosate suppresses the antagonistic effect of *Enterococcus* spp. on *Clostridium botulinum*. *Anaerobe*, 20: 74-78. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.01.005>
- Kumar, R., Sankhla, MS., Kumar, R. and Sonone, SS. 2021.** Impact of pesticide toxicity in aquatic environment. *Biointerface Res. Appl. Chem.*, 11: 10131-10140. <https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1013110140>
- Kümmerer, K. 2009.** The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use--present knowledge and future challenges. *J. Environ. Manage.*, 90: 2354-2366. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.01.023>
- Kuraishi, T., Hori, A. and Kurata, S. 2013.** Host-microbe interactions in the gut of *Drosophila melanogaster*. *Front. Physiol.*, 4: 375. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00375>
- Le, TH., Lim, ES., Hong, NH., Lee, SK., Shim, YS., Hwang, JR., Kim, YH. and Min, J. 2013.** Proteomic analysis in *Daphnia magna* exposed to As(III), As(V) and Cd heavy metals and their binary mixtures for screening potential biomarkers. *Chemosphere*, 93: 2341-2348. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.08.031>
- Lepage, P., Häslér, R., Spehlmann, ME., Rehman, A., Zvirbliene, A., Begun, A., Ott, S., Kupcinskis, L., Doré, J., Raedler, A. and Schreiber, S. 2011.** Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 141: 227-236. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.04.011>
- Li, Y., Pan, L., Li, P., Yu, G., Li, Z., Dang, S., Faguang, J. and Yandong, N. 2022.** Microbiota Aggravates the Pathogenesis of *Drosophila* Acutely Exposed to Vehicle Exhaust. *Heliyon*, (Baskıda). <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4025900>
- Ling, Z., Li, Z., Liu, X., Cheng, Y., Luo, Y., Tong, X., Yuan, L., Wang Y., Sun, J., Li, L. and Xiang, C. 2014.** Altered fecal microbiota composition associated with food allergy in infants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 80: 2546-2554. <https://doi.org/10.1128/AEM.00003-14>
- Liu, HP., Cheng, J., Chen, MY., Chuang, TN., Dong, JC., Liu, CH. and Lin, WY. 2022.** Neuromuscular, retinal, and reproductive impact of low-dose polystyrene microplastics on *Drosophila*. *Environ. Pollut.*, 292: 118455. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118455>
- Liu, Z., Huang, Y., Jiao, Y., Chen, Q., Wu, D., Yu, P., Li, Y., Cai, M. and Zhao, Y. 2020.** Polystyrene nanoplastic induces ROS production and affects the MAPK-HIF-1/NFkBmediated antioxidant system in *Daphnia pulex*. *Aquat. Toxicol.*, 220: 105420. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105420>
- Lloyd, TE. and Taylor, JP. 2020.** Flightless flies: *Drosophila* models of neuromuscular disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1184: e1-e20. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05432.x>
- Lu, K., Abo, RP., Schlieper, KA., Graffam, ME., Levine, S., Wishnok, JS., Swenberg, JA., Tannenbaum, SR. and Fox, JG. 2014.** Arsenic exposure perturbs the gut microbiome and its metabolic profile in mice: an integrated metagenomics and metabolomics analysis. *Environ. Health Perspect.*, 122: 284-291. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307429>



- Luo, ZC., Liu, JM. and Fraser, WD. 2010. Large prospective birth cohort studies on environmental contaminants and child health-Goals, challenges, limitations and needs. *Med. Hypotheses*, 74: 318-332. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.08.044>
- Macedo, GE., Vieira, PB., Rodrigues, NR., Gomes, KK., Rodrigues, JF., Franco, JL. and Posser, T. 2022. Effect of fungal indoor air pollutant 1-octen-3-ol on levels of reactive oxygen species and nitric oxide as well as dehydrogenases activities in *Drosophila melanogaster* males. *J. Toxicol. Environ. Health Part A*, 31: 1-13. <https://doi.org/10.1080/15287394.2022.2054887>
- Martín, JMP., Peropadre, A., Herrero, Ó., Freire, PF., Labrador, V. and Hazen, MJ. 2010. Oxidative DNA damage contributes to the toxic activity of propylparaben in mammalian cells. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 702: 86-91. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.07.012>
- Marx, C., Mühlbauer, V., Krebs, P. and Kuehn, V. 2015. Environmental risk assessment of antibiotics including synergistic and antagonistic combination effects. *Sci. Total Environ.*, 524: 269-279. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.051>
- Maurice, CF., Haiser, HJ. and Turnbaugh, PJ. 2013. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*, 152: 39-50. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.052>
- Menard, S., Guzylack-Piriou, L., Leveque, M., Braniste, V., Lencina, C., Naturel, M., Moussa, L., Sekkal, S., Harkat, C., Gaultier, E., Theodorou, V. and Houdeau, E. 2014. Food intolerance at adulthood after perinatal exposure to the endocrine disruptor bisphenol A. *FASEB J.*, 28: 4893-4900. <https://doi.org/10.1096/fj.14-255380>
- Michalke, K., Schmidt, A., Huber, B., Meyer, J., Sulkowski, M., Hirner, AV., Boertz, J., Mosel, F., Dammann, P., Hilken, G., Hedrich, HJ., Dorsch, M., Rettenmeier, AW. and Hensel, R. 2008. Role of intestinal microbiota in transformation of bismuth and other metals and metalloids into volatile methyl and hydride derivatives in humans and mice. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74: 3069-3075. <https://doi.org/10.1128/AEM.02933-07>
- Milić, M., Žunec, S., Micek, V., Kašuba, V., Mikolić, A., Lovaković, BT., Semren, TŽ., Pavičić, I., Čermak, AMM., Pizent, A., Vrdoljak, AL., Valencia-Quintana, R., Sánchez-Alarcón, J. and Želježić, D. 2018. Oxidative stress, cholinesterase activity, and DNA damage in the liver, whole blood, and plasma of Wistar rats following a 28-day exposure to glyphosate. *Arb. Hig. Rada. Toksikol.*, 69: 154-168. <https://doi.org/10.2478/aiht-2018-69-3114>
- Mohr, SE., Hu, Y., Kim, K., Housden, BE. and Perrimon, N. 2014. Resources for Functional Genomics Studies in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 197: 1-18. <https://doi.org/10.1534/genetics.113.154344>
- Moskalev, A., Shaposhnikov, M., Snezhkina, A., Kogan, V., Plyusnina, E., Peregudova, D., Melnikova, N., Uroshlev, L., Mylnikov, S., Dmitriev, A., Plusnin, S., Fedichev, P. and Kudryavtseva, A. 2014. Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and low dose of gamma-irradiation. *PLoS One*, 9: e86051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086051>
- Mrema, EJ., Rubino, FM., Brambilla, G., Moretto, A., Tsatsakis, AM. and Colosio, C. 2013. Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *Toxicology*, 307: 74-88. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.11.015>
- Nakatsu G, Li X, Zhou H, Sheng J, Wong SH, Wu WKK, Ng, SC., Tsoi, H., Dong, Y., Zhang, N., He, Y., Kang, Q., Cao, L., Wang, K., Zhang, J., Liang, Q., Yu, J. and Sung, JY. 2015. Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis. *Nat. Commun.*, 6: 1-9. <https://doi.org/10.1038/ncomms9727>
- Negri, E., Bosetti, C., Fattore, E. and La Vecchia, C. 2003. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and breast cancer: a systematic review of the epidemiological evidence. *Eur. J. Cancer Prev.*, 12: 509-516. <https://www.jstor.org/stable/45074377>
- Nettleton, JA., Lutsey, PL., Wang, Y., Lima, JA., Michos, ED. and Jacobs, DR. 2009. Diet soda intake and risk of incident metabolic syndrome and type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes Care*, 32: 688-694. <https://doi.org/10.2337/dc08-1799>
- Niu, Z., Zang, X. and Zhang Y. 2015. Using physiologically based pharmacokinetic models to estimate the health risk of mixtures of trihalomethanes from reclaimed water. *J. Hazard Mater.*, 285: 190-198. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.11.051>
- Palmnäs, MS., Cowan, TE., Bomhof, MR., Su, J., Reimer, RA., Vogel, HJ., Hittel, DS. and Shearer, J. 2014. Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PLoS One*, 9: e109841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109841>
- Paul, KB., Hedge, JM., Bansal, R., Zoeller, RT., Peter, R., DeVito, MJ. and Crofton, KM. 2012. Developmental triclosan exposure decreases maternal, fetal, and early neonatal thyroxine: a dynamic and kinetic evaluation of a putative mode-of-action. *Toxicology*, 300: 31-45. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.05.023>

- Posgai, R., Ahamed, M., Hussain, SM., Rowe, JJ. and Nielsen, MG. 2009. Inhalation method for delivery of nanoparticles to the *Drosophila* respiratory system for toxicity testing. *Sci. Total Environ.*, 408: 439-443. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.008>
- Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J. and Zhang, F. 2012. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490: 55-60. <https://doi.org/10.1038/nature11450>
- Rand, MD. 2010. *Drosophila* toxicology: the growing potential for *Drosophila* in neurotoxicology. *Neurotoxicol. Teratol.*, 32: 74-83. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2009.06.004>
- Rider, CV., Carlin, DJ., Devito, MJ., Thompson, CL. and Walker, NJ. 2012. Mixtures research at NIEHS: an evolving program. *Toxicology*, 313: 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.10.017>
- Schretter, CE., Vielmetter, J., Bartos, I., Marka, Z., Marka, S., Argade, S. and Mazmanian, SK. 2018. A gut microbial factor modulates locomotor behaviour in *Drosophila*. *Nature*, 563: 402-406. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0634-9>
- Shehata, AA., Schrödl, W., Aldin, AA., Hafez, HM. and Krüger, M. 2013. The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro. *Curr. Microbiol.*, 66: 350-358. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0277-2>
- Shilpa, O., Anupama, KP., Antony, A. and Gurushankara, HP. 2021. Lead (Pb)-induced oxidative stress mediates sex-specific autistic-like behaviour in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Neurobiol.*, 58: 6378-6393. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02546-z>
- Shin, SC., Kim, SH., You, H., Kim, B., Kim, AC., Lee, KA., Yoon, JH., Ryu, JH. and Lee, WJ. 2011. *Drosophila* microbiome modulates host developmental and metabolic homeostasis via insulin signaling. *Science*, 334: 670-674. <https://doi.org/10.1126/science.1212782>
- Sökmen, TÖ., Sulukan, E., Türkoğlu, M., Baran, A., Özkara, M. and Ceyhan, SB. 2019. Polystyrene nanoplastics (20 nm) are able to bioaccumulate and cause oxidative DNA damages in the brain tissue of zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Neurotoxicology*, 77: 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.12.010>
- Song, XQ., Wang, ZG., Wang, Y., Huang, YY., Sun, YX., Ouyang, Y., Xie, C-Z. and Xu, J-Y. 2020. Syntheses, characterization, DNA/HSA binding ability and antitumor activities of a family of isostructural binuclear lanthanide complexes containing hydrazine Schiff base. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 38: 733-743. <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1587511>
- Sriram, K., Lin, GX., Jefferson, AM., Stone, S., Afshari, A., Keane, MJ., McKinney, W., Jackson, M., Chen, BT., Schwegler-Berry, D., Cumpston, A., Cumpston, JL., Roberts, JR., Frazer, DG. and Antonini, JM. 2015. Modifying welding process parameters can reduce the neurotoxic potential of manganese-containing welding fumes. *Toxicology*, 328: 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.12.015>
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, CA., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E. and Elinav, E. 2014. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514: 181-186. <https://doi.org/10.1038/nature13793>
- Thimmegowda, GG., Mullen, S., Sottolare, K., Sharma, A., Mohanta, SS., Brockmann, A., Dhandapany, PS. and Olsson, SB. 2020. A field-based quantitative analysis of sublethal effects of air pollution on pollinators. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 117: 20653-20661. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009074117>
- Turna Demir, F. 2022. *In vivo* effects of 1,4-dioxane on genotoxic parameters and behavioral alterations in *Drosophila melanogaster*. *J. Toxicol. Environ. Health Part A*, 85: 414-430. <https://doi.org/10.1080/15287394.2022.2027832>
- Turna Demir, F. and Yavuz, M. 2020. Heavy metal accumulation and genotoxic effects in levant vole (*Microtus guentheri*) collected from contaminated areas due to mining activities. *Environ. Pollut.*, 256: 113378. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113378>
- Van de Wiele, T., Vanhaecke, L., Boeckert, C., Peru, K., Headley, J., Verstraete, W. and Siciliano, S. 2005. Human colon microbiota transform polycyclic aromatic hydrocarbons to estrogenic metabolites. *Environ. Health Perspect.*, 113: 6-10. <https://doi.org/10.1289/ehp.7259>
- Varayoud, J., Ramos, JG., Bosquiaz, VL., Lower, M., Munoz-de-Toro, M. and Luque, EH. 2011. Neonatal exposure to bisphenol A alters rat uterine implantation-associated gene expression and reduces the number of implantation sites. *Endocrinology*, 152: 1101-1111. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1037>
- Wagner, JR., Madugundu, GS. and Cadet, J. 2021. Ozone-Induced DNA Damage: A Pandora's Box of Oxidatively Modified DNA Bases. *Chem. Res. Toxicol.*, 34: 80-90. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00342>
- Wang, F., Li, C., Liu, W. and Jin, Y. 2012. Effect of exposure to volatile organic compounds (VOCs) on airway inflammatory response in mice. *J. Toxicol. Sci.*, 37: 739-748. <https://doi.org/10.2131/jts.37.739>

- Weber, LWD., Boll, M. and Stampfl, A. 2003.** Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit. Rev. Toxicol.*, 33: 105-136. <https://doi.org/10.1080/713611034>
- Weitekamp, CA. and Hofmann, HA. 2021.** Effects of air pollution exposure on social behavior: a synthesis and call for research. *Environ. Health*, 20: 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12940-021-00761-8>
- Wells, PG., McCallum, GP., Chen, CS., Henderson, JT., Lee, CJ., Perstin, J., Preston, TJ., Wiley, MJ. and Wong, AW. 2009.** Oxidative stress in developmental origins of disease: teratogenesis, neurodevelopmental deficits, and cancer. *Toxicol. Sci.*, 108: 4-18. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn263>
- WHO Global Health Statistics 2015.** WHO Resources on Sound Management of Pesticides. [https://www.who.int/neglected\\_diseases/vector\\_ecology/pesticide-management/en/](https://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/pesticide-management/en/)
- Wigle, DT., Arbuckle, TE., Turner, MC., Bérubé, A., Yang, Q., Liu, S. and Krewski, D. 2008.** Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.*, 11: 373-517. <https://doi.org/10.1080/10937400801921320>
- Win-Shwe, TT. and Fujimaki, H. 2010.** Neurotoxicity of toluene. *Toxicol. Lett.*, 198: 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.06.022>
- Wong, TY. 2017.** Smog induces oxidative stress and microbiota disruption. *J. Food Drug. Anal.*, 25: 235-244. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.02.003>
- Yang, P., Yang, X., Sun, L., Han, X., Xu, L., Gu, W. and Zhang, M. 2022.** Effects of cadmium on oxidative stress and cell apoptosis in *Drosophila melanogaster* larvae. *Sci. Rep.*, 12: 4762. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08758-0>
- Yu, Z., Shen, J., Li, Z., Yao, J., Li, W., Xue, L., Vandenberg, LN. and Yin, D. 2020.** Obesogenic effect of sulfamethoxazole on *Drosophila melanogaster* with simultaneous disturbances on eclosion rhythm, glucolipid metabolism, and microbiota. *Environ. Sci. Technol.*, 54: 5667-5675. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07889>
- Zhang, L., Nichols, RG., Correll, J., Murray, IA., Tanaka, N., Smith, PB., Hubbard, TD., Sebastian, A., Albert, I., Hatzakis, E., Gonzalez, FJ., Perdew, GH. and Patterson, AD. 2015.** Persistent organic pollutants modify gut microbiota-host metabolic homeostasis in mice through aryl hydrocarbon receptor activation. *Environ. Health Perspect.*, 123: 679-688. <https://doi.org/10.1289/ehp.1409055>
- Zhang, Y., Wolosker, MB., Zhao, Y., Ren, H. and Lemos, B. 2020.** Exposure to microplastics cause gut damage, locomotor dysfunction, epigenetic silencing, and aggravate cadmium (Cd) toxicity in *Drosophila*. *Sci. Total Environ.*, 744: 140979. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140979>
- Zheng, X., Zhao, A., Xie, G., Chi, Y., Zhao, L., Li, H., Wang, C., Bao, Y., Jia, W, Luther, M., Su, M., Nicholson, JK. and Jia, W. 2013.** Melamine-induced renal toxicity is mediated by the gut microbiota. *Sci. Transl. Med.*, 5: 172ra22-172ra22. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005114>

**Makalenin Adı:**

**Yazarların adı (makaledeki sırayla):**

Biz aşağıda imzaları bulunan yazarlar, sunduğumuz makalenin orijinal olduğunu; başka bir dergiye yayınlanmak üzere verilmediğini, daha önce yayınlanmadığını, eğer, tümüyle ya da bir bölümü yayınlandı ise yukarıda adı geçen dergide yayınlanabilmesi için gerekli her türlü iznin alındığını ve orijinal telif hakkı devri formu ile birlikte *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi Editörlüğü*'ne gönderildiğini garanti ederiz.

Makalenin telif hakkından feragat etmeyi kabul ederek sorumluluğu üstlenir ve imza ederiz.

Bu vesileyle makalenin telif hakkı Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi'ne devredilmiştir.

*Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi Editörlüğü* makalenin yayınlanabilmesi konusunda yetkili kılınmıştır. Bununla birlikte yazarların aşağıdaki hakları saklıdır:

1. Telif Hakkı dışında kalan patent vb. bütün tescil edilmiş haklar.
2. Yazarın gelecekteki kitaplar ve dersler gibi çalışmalarında; makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı.
3. Makaleyi satmamak koşulu ile kendi amaçları için çoğaltma hakkı.

Bütün yazarlar tarafından imzalanmak üzere:

Yazar Adı : <b>(Yazarlar sırayla yazılacaktır)</b>	Tarih : .../.../.....	İmza :
Yazar Adı :	Tarih : .../.../.....	İmza:
Yazar Adı :	Tarih : .../.../.....	İmza:
Yazar Adı :	Tarih : .../.../.....	İmza:
Yazar Adı :	Tarih : .../.../.....	İmza:
Yazar Adı :	Tarih : .../.../.....	İmza:

Makaleyi gönderen sorumlu yazarın;

Adı-Soyadı:

Yazışma Adresi : **(Sorumlu yazara ait posta gönderim adresi)**

Telefonu : **(Sorumlu yazara ulaşılacak telefon numarası)**

Belge Geçer : **(Sorumlu yazara ulaşılacak faks numarası)**

E-posta : **(Sorumlu yazarın e-mail adresi)**



**Manuscript Title:****Full names of all authors (in order to appear on manuscript)**

The undersigned authors, we guarantee that our submitted manuscript is original work; it has not been published and is not being submitted or considered for publication elsewhere, if, in whole or part of the publication of the magazine was published for the above-mentioned receipt of all necessary permits and was sent to *Editorial Office of Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi* with copyright transfer form.

We agree to waive the right to assume the responsibility of the copyright of the article and thank signature.

This article is hereby transferred to the copyright of Zonguldak Bülent Ecevit University.  
*Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi* Editor of the publication of the article is authorized.  
However, the authors reserve the following rights:

1. All proprietary rights Copyright outside, such as patent.
2. to use, free of charge, all parts of this article for the author's future works in books, lectures.
3. the right to reproduce the article for their own purposes provided the copies are not offered for sale.

To be signed by all authors:

Author Name : <b>(The authors will be written in the order)</b>	Date : .../.../.....	Signature :
Author Name :	Date : .../.../.....	Signature :
Author Name :	Date : .../.../.....	Signature :
Author Name :	Date : .../.../.....	Signature :
Author Name :	Date : .../.../.....	Signature :
Author Name :	Date : .../.../.....	Signature :

Corresponding author's

Name-Surname:

Address : **(Corresponding author's mail address)**

Phone : **(Corresponding author's contact phone number)**

Fax : **(Corresponding author's contact fax number)**

E-mail : **(Corresponding author's e-mail address)**