

SİNOP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ DERGİSİ

SİNOP UNIVERSITY
JOURNAL OF NATURAL SCIENCES

Cilt/Volume 7

Sayı/Number 1

Sinop Üniversitesi'nin 45. Bilimsel Yayınıdır.

It is the 45th Scientific Publication of Sinop University.

ISSN 2536-4383/e-ISSN 2564-7873

SİNOP ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ DERGİSİ

Sinop University Journal of Natural Sciences

SAHİBİ/PUBLISHER

Prof. Dr. Nihat DALGIN (Sinop Üniversitesi Rektörü/Rector)

EDİTÖR/EDITOR

Prof. Dr. Türkay ÖZTÜRK

YARDIMCI EDİTÖR/CO EDITOR IN CHIEF

Doç. Dr. Sevda YILDIZ

EDİTÖR KURULU/EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Kamil DEMİRCİ

Prof. Dr. Ahmet TABAK

Prof. Dr. Cem Cüneyt ERSANLI

Prof. Dr. Ahmet ÖZER

Prof. Dr. Hülya TURAN

Prof. Dr. Levent BAT

Prof. Dr. Şükrü ÇELİK

Prof. Dr. Hülya ÖZLER

Doç. Dr. Emel ÇANKAYA

Dr. Öğr. Üyesi Levent ÖNCEL

Doç. Dr. Oylum GÖKKURT BAKI

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Kemal BALKI

Prof. Dr. Carlo BARDARO

Prof. Dr. Kulwinder SINGH MANN

Prof. Dr. Richard P. PATTERSON

Prof. Dr. Vishwanath P. SINGH

Doç. Dr. Jakrapong KAEWKHAO

Dr. Julia KORNYCHUK

Dr. Bahaeddine TAOUFİK

DİL EDİTÖRLERİ (İNGİLİZCE)/LANGUAGE EDITORS (ENGLISH)

Doç.Dr. Murat UZUNCA

MİZANPAJ EDİTÖRÜ/LAYOUT EDITOR

Dr. Bengünur ÇORAPCI

ADRES/ADDRESS

Sinop Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Osmaniye Mahallesi Üniversite Caddesi
No:52K-SİNOP

Tel: 0 368 271 57 28 **Faks:** 0 368 271 57 29

<https://dergipark.org.tr/sinopfbd>

e-Posta: sufbd@sinop.edu.tr

Araştırma Makaleleri/Research Articles	Sayfa/Page
<u>Detection of Bean Common Mosaic Virus in Bean Seeds by Immunocapture RT-PCR and DAS-ELISA Methods</u> <i>Fasulye Tohumlarında Fasulye Adi Mozayik Virüsü'nün Immunocapture RT-PCR ve DAS-ELISA Yöntemleriyle Teşhisi</i> Handan ÇULAL KILIÇ and Ahmet ÇAT	1
<u>Kil Esaslı Bütünüyle-Katı-Hal Kompozit Kurşun (II)-Seçici Potansiyometrik Elektrot</u> <i>All-Solid-State Composite Lead (II)-Selective Potentiometric Electrode Based on Clay</i> Bilge DOĞAN, Bülent ÇAĞLAR, Cihan TOPCU, Fatih ÇOLDUR, Agah Oktay ÖZDEMİR, Eda KELEŞ GÜNER, Osman ÇUBUK ve Kemal Volkan ÖZDOKUR	8
<u>Using Walnut Shell Based Activated Carbon for the Efficient Removal of Phosphate from Aqueous Solutions</u> <i>Sulu Çözeltilerden Etkin Fosfat Giderimi için Ceviz Kabuğu Bazlı Aktif Karbon Kullanımı</i> Ayla ARSLAN and Şehriban ZEYBEK	22
<u>Doğal ve Asitle Aktive Edilmiş Siirt/Koçpınar Kili Kullanılarak Atık Sulardan Malahit Yeşili Boyar Maddesinin Uzaklaştırılması</u> <i>Removal of Malachite Green Dye from Wastewater Using Natural and Activated Siirt/Koçpınar Clay</i> Ali Rıza KUL ve Veysel BENEK	41
<u>Sülfanilamid İçeren Maleik Asit ile Aminopiridin Türevlerinin Proton Tuzlarının Sentezi ve Karakterizasyonu</u> <i>Synthesis and Characterization of Proton Salts of Sulfanilamide Containing Maleic Acid and Aminopyridine Derivatives</i> Halil İLKİMEN ve Cengiz YENİKAYA	57
<u>Ucuz Bir Adsorbent ile Metil Mavisinin Giderimi: Optimizasyon, ANOVA Analizi</u> <i>Removal of Methylene Blue Using A Cheap Adsorbent: Optimization ANOVA Analysis</i> Erbil KAVCI	71
Derlemeler/Reviews	Sayfa/Page
<u>The Effect of Temperature and Nutrient on Developmental Biology and Physiology of Stored-Product Species of Coleoptera</u> <i>Sıcaklık ve Besinin Coleoptera Takımına Bağlı Depolanmış Ürün Zararlısı Türlerin Gelişim Biyolojisi ve Fizyolojisine Etkisi</i> Evrin SÖNMEZ	81

**Detection of *Bean Common Mosaic Virus* in Bean Seeds by Immunocapture RT-PCR and DAS-ELISA Methods****Handan ÇULAL KILIÇ¹ and Ahmet ÇAT²**

How to cite: Çulal Kılıç, H., & Çat, A. (2022). Detection of *Bean Common Mosaic Virus* in bean seeds by immunocapture RT-PCR and DAS-ELISA methods. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 1-7. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1006005>

Research Article**Corresponding Author**

Handan ÇULAL KILIÇ
handankilic@isparta.edu.tr

ORCID of the Authors

H.Ç.K: 0000-0003-4020-9442
A.Ç: 0000-0002-5638-0319

Received: 07.10.2021

Accepted: 18.01.2022

Abstract

This study was carried out in bean seeds in Isparta and Antalya provinces to determine *Bean common mosaic virus* (BCMV) in 2016. For this purpose, 106 seed samples were collected from the research area. Seed samples were used for biological, serological, and molecular methods. The virus incidence, as a percentage of seeds samples for BCMV, was found 87.73% by DAS-ELISA and 90.56% by Immunocapture Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (IC-RT-PCR) methods. As a result of the study, BCMV was detected in a total of 96 (90.56%) seed samples. 93 samples were detected positive with the DAS-ELISA method, while 96 samples were found to be infected with BCMV using the IC-RT-PCR method. In the IC-RT-PCR method, approximately 850 bp of the coat protein gene was amplified with specific primers and BCMV specific bands were obtained at the expected levels.

Keywords: BCMV, bean, seed, molecular detection, serological method

Fasulye Tohumlarında Fasulye Adi Mozayik Virüsü'nün Immunocapture RT-PCR ve DAS-ELISA Yöntemleriyle Teşhisi

¹ Isparta University of Applied Sciences,
Faculty of Agriculture,
Department of Plant Protection
Isparta/ Turkey

² Siirt University
Faculty of Agriculture,
Department of Plant Protection
Siirt/ Turkey

This work is licensed under a
Creative Commons Attribution 4.0
International License

Öz

Bu çalışmada, 2016 yılında Isparta ve Antalya illerinde fasulye tohumlarında fasulye adi mozayik virüsü (*Bean common mosaic virus*: BCMV) 'nün belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla araştırma alanından 106 tohum örneği toplanmıştır. Tohum örnekleri biyolojik, serolojik ve moleküler çalışmalar için kullanılmıştır. DAS-ELISA testi sonucunda tohum örneklerinde BCMV'nün hastalık oranı %87.73 olarak belirlenirken, Immunocapture ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (IC-RT-PCR) yönteminde örneklerdeki hastalık oranı %90.56 olarak belirlenmiştir. Yürütülen çalışmalar sonucunda toplam 96 tohum örneğinde (%90.56) BCMV belirlenmiştir. DAS-ELISA yöntemi ile 93 örnek BCMV ile pozitif belirlenirken; IC-RT-PCR yöntemi ile 96 örnek BCMV ile enfekteli bulunmuştur. IC-RT-PCR yönteminde spesifik primerler ile kılıf protein geninin yaklaşık 850 bp'lik bir kısmı amplifiye edilmiş ve BCMV'ne özgü beklenen seviyede bant elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: BCMV, fasulye, tohum, moleküler teşhis, serolojik metot

Introduction

Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important crops with a very high nutritional value. Edible legumes, of which bean is a member, due to their 18-37% protein (2-3 times those of cereals), vitamins A, B, and D, and rich mineral contents and its cheaper price compared to animal-based proteins, are very important food sources. Beans can be consumed in various ways including fresh vegetables, dry beans, and canned food. Bean plant is a Central America Originated crop, coming to Anatolia 250 years ago and has covered a very widespread area [1]. The world's green bean production is 4.310.733 tons in 26 million hectares. According to 2016 data, in 528.931 ha of a total of 799.379 (ha) legume fields, 614.948 tons of green bean and 200.673 tons of dry beans were produced in Turkey [2]. Legumes, due to their high protein content which constitutes a perfect nutritional condition, are susceptible to being affected by pests and diseases. In vegetable farming, due to many diseases, economic losses occur in bean production areas which constitute important production values and income sources. There are large numbers of fungal, bacterial, and viral agents which limit production in the bean-producing areas in the world [3]. A minimum of 30 viral diseases cause significant yield losses in the bean-producing areas [4]. Among them, *Bean common mosaic virus* (BCMV) is one of the common seed-borne viruses [5-7]. This virus can be transmitted via seeds, aphids, and mechanically. It was reported that BCMV was carried via bean seeds and the rate of transmission in seeds obtained from infected plants can increase up to 83% [8]. Drijfhout and Morales [9] reported the rate of BCMV transmission as 35%, while Fidan and Yorgancı [10] reported the rate of transmission for this virus as 56%. Studies for maintaining a higher production in the unit area, and increase the quality and the yield comprise the arrangement of environmental conditions, proper management of farming activities, and protection of plants and products from diseases and pests. The absence of chemical control methods for pathological viruses increases the importance of these diseases. Using virus-free production materials in the control of these viruses which cause problems in production areas is very important [11]. This study was conducted for the detection of BCMV in bean seeds of the Isparta and Antalya provinces. For this purpose, biological, serological, and molecular methods were used.

Material and Methods

In this study, 106 seed samples were collected from bean production areas in Antalya (51 samples) and Isparta Provinces (42 samples) in 2016. Seeds were kept at +4°C until the conduction of tests. For the determination of BCMV presence in seed samples; bean seeds were planted in small pots in the growth cabins and left to germinate. The Cotyledonary leaf of germinated bean seeds was used in mechanical inoculation, DAS-ELISA, and IC-RT-PCR studies. Leaf samples taken from infected bean seedlings that tested positive in the DAS-ELISA test were used in mechanical inoculation studies as an inoculum source. *Phaseolus vulgaris* L., *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, and *Nicotiana benthamiana* plants were used in mechanical inoculation studies as a test plan. Phosphate buffer (0.01 M; pH 7.2)

containing 0.01% 2-Mercaptoethanol at 1:1 (W/V) was inoculated to the leaves of the test plants. For symptom emergence, the test plants were placed in plant growth cabins at 20-24°C (Figure 1).



Figure 1. *Cotyledon leaves germinated from bean seeds*

For the serological test method, BCMV DAS-ELISA (BIOREBA AG, Switzerland) kit was used in the study. The application was performed according to the procedure prepared by the related commercial company [12]. For molecular detection, microtubes were coated with antibodies (100 µl) for BCMV specific antibodies at concentrations of 1 µg/ml. The tubes were incubated overnight at 4°C. After washing with PBS–Tween buffer, plant tissue extract, as prepared above for ELISA, was loaded into the antibody-coated tubes and incubated. After thorough washing with PBS–Tween and a final rinse with sterile water, the treated PCR tubes were ready for RT-PCR. In IC-RT-PCR studies, an 850 bp of coat protein gene was amplified with BCMV specific primer pairs. These primer sequences were F-5-GGATGCGGAGAATCTGTG-3; R-5-GATTGACGTCCCTTG CAG-3 obtained from by Bhadramurthy and Bhat article [13]. In molecular studies, plant samples that were found to be infected with BCMV in DAS-ELISA studies were used as the positive control, and the leaves of a healthy bean plant were used as the negative control. RT-PCR studies were conducted in a single step according to Primescript One-step RT-PCR kit (Takara Bio Inc., Japan) protocol in 50 µL volume. Amplification stages were conducted as 50°C 30 minutes, 94°C 2 minutes, 94°C 30 seconds, 55°C 30 seconds, 30 cycles, 72°C 1 minutes and +4°C ∞. The amplified RT-PCR products were electrophoresed in 1% agarose gel (Bio-Rad, France) and stained with ethidium bromide and Doc-It (UVP, UK) was used for imaging.

Results and Discussion

In seeds collected from the survey areas, symptoms were observed including deformities, wrinkling, changes in shell color, mottling, and grain size reduction. For the determination of BCMV presence in seed samples; bean seeds that were left to germination in plant growth cabins were harvested after 4-10 days. Leaves developed from the seeds, regardless of showing any symptomatological signs, and were used in biological, serological, and molecular studies. In mechanical inoculation studies, systemic

mosaic and leaf deformations and vascular retractions in *Phaseolus vulgaris* L. (Figure 2) and deformation, mosaic in *N. benthamiana* were observed (Figure 3). Local lesions were observed in *Chenopodium quinoa*. No symptoms developed on *C. amaranticolor*. The symptoms obtained in this study also show similarities with other studies [14-16].



Figure 2. Deformation and mosaic symptoms observed on inoculated leaves of *Phaseolus vulgaris* L.



Figure 3. Mosaic and deformation symptoms in *N. benthamiana*

DAS-ELISA and IC-RT-PCR methods were applied to a total of 106 seed samples (42 samples from Isparta + 51 samples from Antalya). According to DAS-ELISA test results, 93 of the collected samples were found to be infected with BCMV. Additionally, in the colorimetric evaluations, a yellow color formation was observed in the plates containing these samples. Also, in the studies carried out in the different regions of Turkey, BCMV was detected in seed beans. In the macroscopic examination performed on the bean seed samples collected from Tokat province and neighboring districts, symptoms

including wrinkling, shrinking, cracking, splitting, color changes, and yellowing were observed. In the tests performed using DAS-ELISA, it was detected that 59% of the bean seed samples were infected with BCMV [11]. Guzel and Arli-Sokmen [6] in their study conducted in Samsun province, reported that 18.9% of 53 different bean seed samples collected from producers and seed retailers were infected with BCMV [17, 18]. In IC-RT-PCR studies 96 of 106 samples were found to be infected with BCMV. Specific primers which amplify approximately 850 bp of the coat protein gene were used in the study. With IC-RT-PCR studies, it has been also verified that 96 samples and positive controls gave band at the expected levels and were infected with BCMV. Also, *Phaseolus vulgaris* L. which showed mosaic symptoms as a result of mechanical inoculation was used in the molecular studies and the expected 850 bp bands were obtained (Figure 4).

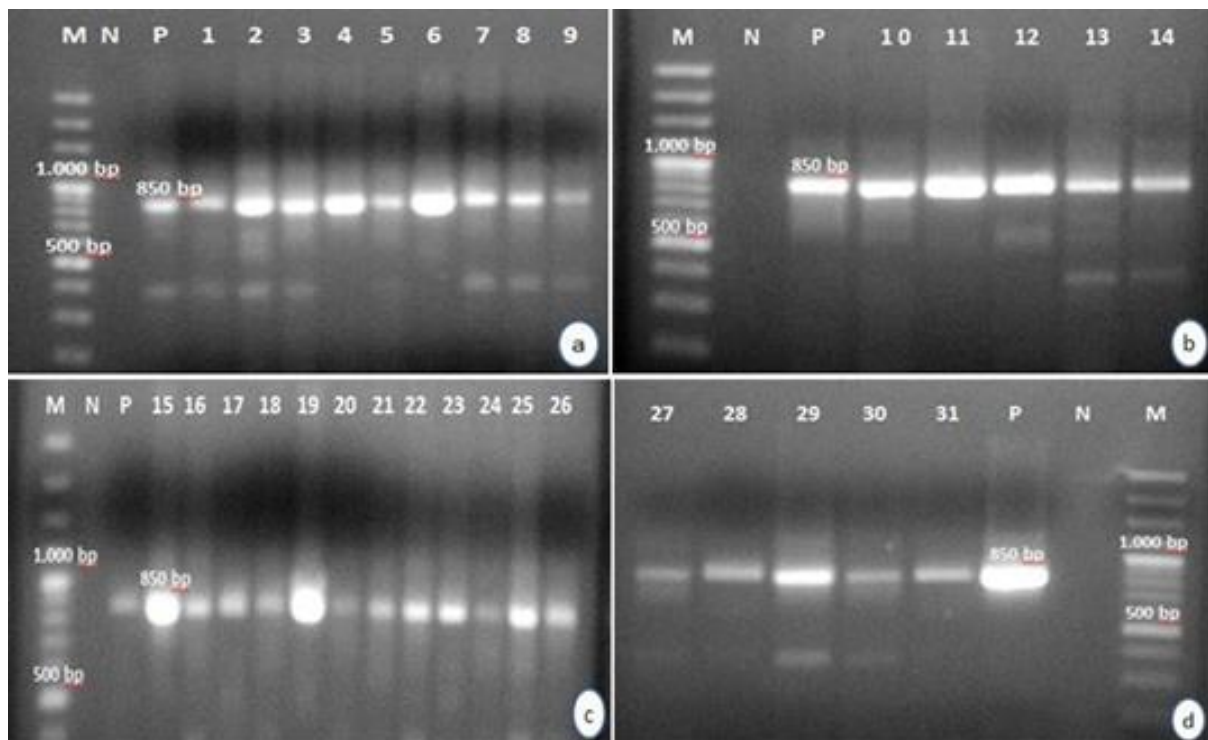


Figure 4. Agarose gel electrophoresis of IC-RT-PCR products obtained from BCMV, M: Marker (100 bp DNA ladder; P: Positive control; N: Negative control; Lane 1-26 infected samples, Lane 27-31: Inoculated-*Phaseolus vulgaris* L.

BCMV was detected in 93 bean seeds collected from the investigation area using DAS-ELISA whereas 96 samples were found to be infected using IC-RT-PCR. In the light of these findings, it was shown that the IC-RT-PCR method can be more successfully used, compared to DAS-ELISA. In the IC-RT-PCR method, plant extracts are directly used without nucleic acid isolation and thus some challenges faced during isolation are eliminated. Different researchers have used this advantage of the IC-RT-PCR method for the identification of virus diseases in beans [19, 20]. There are a limited number of studies in Turkey on the determination of viruses in bean seeds [11]. The results obtained in this study are the first results obtained from Isparta and Antalya provinces regarding BCMV. With this study, the existence of BCMV have been found out using biological, serological, and molecular methods in bean

seeds in Isparta and Antalya provinces. No study has been observed previously in the region to detect BCMV in bean seeds.

Conclusions

BCMV detected as a result of the studies is a virus that is carried with the seed and transmitted to long distances via aphids. In 106 of the tested bean seeds, 96 seeds were found to be infected with BCMV and this indicates that BCMV is a serious threat in the bean production areas in this area. A vast majority of the producers in the region use the seeds obtained from the plants of the previous years and therefore BCMV constitutes a threat to bean farming in Antalya and Isparta provinces in terms of the epidemiology of viral diseases. For the prevention of disease caused by BCMV, primarily virus-free certified seeds should be used and procedures such as vector control and improvement of resistant varieties should be disseminated. This study will form the basis of future epidemiological studies and endurance studies.

Acknowledgments -

Funding/Financial Disclosure The authors have no received any financial support for the research, authorship, or publication of this study.

Ethics Committee Approval and Permissions -

Conflict of Interests The authors stated that there are no conflict of interest in this article.

Authors Contribution The first author contributed 60% and the second author contributed 40%. All authors read and approved the final manuscript.

References

- [1] Loebenstein, G., & Thottappilly, G. (2004). *Virus and virus-like diseases of major crops in developing countries*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishing. 840.
- [2] TUIK (2016, October). *Crop Production Statistics*. <http://tuikrapor.tuik.gov.tr/reports>.
- [3] Nyvall, R. F. (1989). *Field Crop Diseases Handbook*. New York, Van Nostrand Reinhold, 791.
- [4] Matthews, R. E. F. (1991). *Plant Virology*. Academic Press Publishing.
- [5] Kumar, C. A., Khetarpal, R. K., Parakh, D. B., Singh, S., & Nath, R. (1994). *In Check list on seed transmitted viruses, Leguminous hosts*. National Bureau of Plant Genetic Resources, New Delhi.
- [6] Guzel, O., & Arli-Sökmen, M. (2003). Determination of some viruses infecting common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and their incidences in seed lots in Samsun Province. *Journal of Turkish Phytopathology*, 32(2), 99-106.
- [7] Ghorbani, S. G. M., Shahraeena, N., & Elahinia, S. A. (2010) Distribution and impact of virus associated diseases of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Northern Iran, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43(12), 1183–1189. <https://doi.org/10.1080/03235400802366834>

- [8] Omar, R. A, Mehiar, F. F., Zayed, E., & Deit, A. A. (1985). Biological studies on some seed-borne viruses and their effect on vegetative growth and yield component of the host plant, *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 20(3), 80-85.
- [9] Drijfhout, E., & Morales, F. J. (2005). Compendium of bean diseases. In H. Schwartz, J.R. Steadman, R. Hall & R.L. Foster, (Ed), *Bean mosaic virus*, (pp. 63–64).
- [10] Fidan, U., & Yorganci, U. (1990). Investigation on the detection and seed transmission of the virus diseases occurring on the pulse crops in Aegean Region. Seed transmission of virus diseases by grower seeds and seeds of artificial infected pulse crops, *Journal of Turkish Phytopathology*, 19(1), 1-6.
- [11] Kutluk-Yilmaz, N. D., Gumus, M., & Erkan, S. (2002). Studies on determination of virus diseases in the seeds of bean from Tokat Province. *Ege University, Journal of Agriculture Faculty*, 38(3), 49-55.
- [12] Naghavi, A., Habibi M. K., & Firouzabadi, F. N. (2008). Detection and identification of some soybean viral mosaic viruses, using molecular techniques in Lorestan Province, Southwest of Iran, *Asian Journal of Plant Science*, 7(6), 557-562. <https://doi.org/10.3923/ajps.2008.557.562>
- [13] Bhadramurthy, V., & Bhat, A. I. (2009). Biological and molecular characterization of *Bean common mosaic virus* associated with vanilla in India. *Indian Journal of Virology*, 20(2), 70-77.
- [14] Udayashankar, A. C., Chandra-Nayaka, S., Niranjana, S. R., Mortensen, C. N., & Prakash, H. S. (2012). Immunocapture RT-PCR detection of *Bean common mosaic virus* and strain blackeye cowpea a mosaic in common bean and black gram in India. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(13), 1509–1518. <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.679123>
- [15] Hosseini, A., & Hosseini, S. (2014). Occurrence and distribution of *Bean common mosaic virus* and *Bean yellow mosaic virus* from common bean fields of Kerman province, Iran, *Indian Journal of Fundamental Applied Life Sciences*, 4(2), 528-535.
- [16] Johary, T., Dizadji, A., & Naderpour, M. (2016). Biological and molecular characteristics of *Bean common mosaic virus* isolates circulating in common bean in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 98(2), 301-310. <https://dx.doi.org/10.4454/JPP.V98I2.027>
- [17] Hao, N. B., Albrechtsen, S. E., & Nicolaisen, M. (2003). Detection and identification of the blackeye cowpea mosaic strain of *Bean common mosaic virus* in seeds of *Vigna unguiculata* spp. from North Vietnam, *Australas Plant Pathology*, 32, 505-509. <https://doi.org/10.1071/AP03052>
- [18] Vinayarani, G., Madhusudhan, K. N., Deepak, S. A., Niranjana, S. R., & Prakash, H. S. (2011). Detection of mixed infection of tobamoviruses in tomato and bell pepper by using RT-PCR and duplex RT-PCR. *International journal of Plant Pathology*, 2, 89-95. <https://doi.org/10.3923/ijpp.2011.89.95>
- [19] Abtahi, F. S., Hbibbi, M. K., & Motlagh, M. K. (2009). Some biological and molecular characterization of *Bean common mosaic necrosis virus* isolated from soybean in Tehran Province, Iran. *World Academy Science, Engineering and Technology*, 49, 126-129.
- [20] Petrovic D, Ignjatov, M., Nikolic, Z., Vujakovic, M., Vasic, M., Milosevic, M., & Taski-Ajdukovic, K. (2010). Occurrence and Distribution of viruses infecting the bean in Serbia. *Archives of Biological Science*, 62(3), 595-601. <https://doi.org/doi.10.2298/ABS1003595P>



Kil Esaslı Bütünüyle-Katı-Hal Kompozit Kurşun (II)-Seçici Potansiyometrik Elektrot

Bilge DOĞAN¹, Bülent ÇAĞLAR², Cihan TOPCU³, Fatih ÇOLDUR², Agah Oktay ÖZDEMİR⁴, Eda KELEŞ GÜNER⁵, Osman ÇUBUK⁶ ve Kemal Volkan ÖZDOKUR²

How to cite: Doğan, B., Çağlar, B., Topcu, C., Çoldur, F., Özdemir, A. O., Keleş Güner, E., Çubuk, O., & Özdokur, K. V. (2022). Kil esaslı bütünüyle-katı-hal kompozit kurşun (II)-seçici potansiyometrik elektrot. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 8-21. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1080403>

Araştırma Makalesi

Sorumlu Yazar

Bülent ÇAĞLAR

bcaglar@erzincan.edu.tr

Yazarlara ait ORCID

B. D: 0000-0001-7552-3461

B. Ç: 0000-0002-6087-3685

C. T: 0000-0003-0613-5873

F. Ç: 0000-0002-7037-2825

A. O. Ö: 0000-0003-4488-746X

E. K. G: 0000-0002-4421-1315

O. Ç: 0000-0001-7858-2803

K. V. Ö: 0000-0002-9540-7203

Received: 28.02.2022

Accepted: 25.03.2022

Öz

Bentonit kili XRD, FTIR ve SEM-EDX teknikleriyle karakterize edildi. Karakterize edilen kil bütünüyle katı hal kompozit potansiyometrik elektrot yapımında iyonofor madde olarak kullanılmış ve kilin potansiyometrik uygulaması gerçekleştirilmiştir. Elektrodun Pb²⁺ iyonuna karşı, diğer yaygın inorganik katyonlarla karşılaştırıldığında oldukça duyarlı ve seçici potansiyometrik bir cevap sergilediği gözlemlenmiştir. Membran optimizasyon çalışmaları neticesinde en iyi potansiyometrik performans özellikleri sergileyen bileşimin kütlece %65.0 grafit, %5.0 çok duvarlı karbon nanotüp, %20.0 iyonofor (bentonit) ve %10.0 parafin yağı olduğu belirlenmiştir. Pb²⁺ seçici kompozit elektrodun 1.0×10⁻⁵ - 1.0×10⁻¹ M konsantrasyon aralığında doğrusal cevap sergilediği, doğrusal çalışma aralığında standart Pb²⁺ çözeltilerine karşı her 10 katlık konsantrasyon değişiminde ortalama 31 mV potansiyel fark sergilediği gözlenmiştir. Elektrodun tayin sınırı 9.0×10⁻⁶ M olarak hesaplanmıştır. Elektrodun cevap zamanının oldukça kısa olduğu (~5 s) potansiyometrik cevabın ve tekrarlanabilirliğinin de oldukça yüksek olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Bentonit, XRD, kurşun, potansiyometrik elektrot

All-Solid-State Composite Lead (II)-Selective Potentiometric Electrode Based on Clay

¹Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Erzincan, Türkiye

²Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 24100 Erzincan, Türkiye

³Samsun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Samsun, Türkiye

⁴Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Tasarım Bölümü,

Abstract

The bentonite clay was characterized by XRD, FTIR and SEM-EDX techniques. The characterized bentonite clay was used as an ionophore material in the production of solid state composite potentiometric electrodes and its potentiometric electrode application was carried out. It was observed that the electrode exhibited a highly sensitive and selective potentiometric response to Pb²⁺ ion compared to other common inorganic cations. Membrane optimization studies indicated that the composition exhibiting the best potentiometric performance properties was 65.0% graphite, 5.0% multi-walled carbon nanotube, 20.0% ionophore (bentonite) and 10.0% paraffin oil by mass. It was also observed that the Pb²⁺ selective composite electrode exhibited a linear response in the concentration range of 1.0×10⁻⁵ - 1.0×10⁻¹ M with an average potential difference of 31 mV for each 10-fold Pb²⁺ concentration change in the linear operating range. The detection limit of the electrode was calculated as 9.0×10⁻⁶ M. It was also revealed that the response time of the electrode

Moda Tasarımı Programı, Erzincan, Türkiye	was quite short (~5 s) and the reproducibility of the potentiometric response was quite high.
⁵ Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Üzümlü Meslek Yüksekokulu, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü, Sivil Savunma ve İtfaiyecilik Programı, Erzincan, Türkiye	Keywords: Bentonite, XRD, lead, potentiometric electrode
⁶ Hitit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sağlık Bilimleri Kampüsü, Çorum, Türkiye	
Bu çalışma Creative Commons Attribution 4.0 International License ile lisanslanmıştır	

Giriş

Günümüzde sanayi ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte çevre, insan ve diğer canlılar üzerinde ciddi olumsuz etkilere sahip olan ağır metal kirliliği git gide artmaktadır. Pb, Cd, Hg ve Cr ağır metal kirliliğine sebep olan başlıca metallerdir. Bu metal iyonlarının çevre ve su kaynaklarından uzaklaştırılması için adsorpsiyon, iyon değişimi, filtrasyon ve koagülasyon gibi teknikler yaygın olarak kullanılmaktadır [1-4]. Bununla birlikte ilgili yöntemin uygulanabilmesi için öncelikle su kaynaklarındaki bu iyonların tespiti büyük öneme sahiptir. Birçok avantajlarından ötürü ağır metal iyonlarının tespitinde voltametri, kondüktometri, amperometri ve potansiyometri gibi analitiksel yöntemler bilim camiasının ilgisini çekmiştir [5, 6]. Bunların arasında, potansiyometrik iyon seçici elektrotlar, yüksek seçicilik, geniş çalışma aralığı, düşük tayin limiti, hızlı yanıt vermesi, basit ölçüm işlemi, düşük maliyeti ve ön işlem gerektirmemesi gibi üstün özelliklerinden dolayı diğer analitik teknikler arasında yaygın olarak kullanılan elektrokimyasal bir yöntemdir. İyon seçici elektrot çalışmalarında PVC membran elektrotlar klasik olarak en yaygın kullanılan iyon seçici elektrot çeşitleridir. Bu elektrotlarda membran yapısında elektrodun seçiciliğini ve duyarlılığını sağlayan en önemli bileşen iyonofor maddelerdir [7] ve bu türler membranın yapısına ilave edilerek kovalent olmayan etkileşimlerle membran yapısına tutturulur. Fakat elektrot kullanıldıkça membran bileşenlerinin zamanla ölçüm çözeltilerine akması ve membran/iyon elektron dönüştürücüsü ara yüzeyinde su tabakasının oluşmasıyla elektrotun kullanım ömrü ve performans özelliklerinde bozulmalar meydana gelmektedir [8, 9]. Duyarlı membran yapısına iyonoforların kovalent olarak tutturulması veya akma özelliği olmayan iyonofor özelliği gösteren katı hal mikro/nano yapılu materyallerin iyonofor olarak kullanılması bu riskleri azaltmaktadır. Bu bağlamda; killer [10, 11] modifiye karbon temelli nano materyaller [12-14], baskılanmış polimerler [15-17] vb. materyallerin iyonofor madde olarak kullanıldığı elektrotlar önemli hale gelmiştir. Uzun kullanım ömrü; minyatürizasyona elverişli olma, yenilenebilir ölçüm yüzeyine sahip olma, yüksek mekanik kararlılık,

iyon elektron dönüştürücüsü/membran arayüzeyinde su tabakası oluşturmama vb. özelliklerinden dolayı bütünüyle katı-hal kompozit iyon seçici elektrotlar klasik PVC membran elektrotlara göre önemli avantajlar sunmakta ve son yıllarda araştırmacıların giderek ilgisini çekmektedir. Killer merkez atomu silisyum ve ona koordine olan oksijen atomlarından oluşan tetrahedral tabaka ile merkez atomu alüminyum ve ona koordine olan hidroksil iyonlarından oluşan oktahedral tabakaların birleşmesinden meydana gelen alüminasilikatlardır. Tetrahedral ve oktahedral tabaka sayısına göre TO (1:1) veya TOT (2:1) şeklinde adlandırılırlar. Bentonit, başlıca bileşeni montmorillonit olan killerdir. Montmorillonit, iki tetrahedral tabaka arasında bir oktahedral tabakanın yerleştiği (2:1 veya TOT) bir dioktahedral kil mineralidir [18]. Oktahedral tabakadaki alüminyum atomlarını yerine daha düşük yükseltgenme basamağındaki atomların (Mg^{2+} , Fe^{2+}) yer değiştirmesi ve tetrahedral tabakadaki silisyum atomlarının yerine de yine daha düşük yükseltgenme basamağındaki atomların (Fe^{3+}) yer değiştirmesinden ötürü negatif yüklüdür. Bu yük dengesizliği de tabakalar arasına giren ve değiştirilebilir katyonlar olarak adlandırılan Na^+ , Ca^{2+} ve K^+ gibi iyonlarla dengelenir. Montmorillonitler, büyük yüzey alanları, iyi adsorpsiyon yetenekleri, yüksek katyon değişim kapasitesi ve şişme özelliklerinden dolayı endüstrinin birçok alanında adsorban, reolojik kontrol ajanı ve sulu ortamdan metal iyon değiştiricisi olarak kullanılmaktadır. Bunlar dışında tarım, mühendislik, jeoloji, kozmetik, seramik, plastik ve eczacılık gibi diğer endüstriyel uygulamaları da bulunmaktadır. Ayrıca kil minerallerinin yapısal ve yüzey özellikleri değiştirilmek suretiyle hazırlanan modifiye killer ile istenen özelliklere sahip yeni uygulama alanları olan malzemeler de elde edilmektedir [19, 20]. Son yıllarda, kil modifiye elektrotlar, elektrokimyasal sensör uygulamalarında ilgi görmektedir. Killerin, yüzey aktif maddelerle, çeşitli moleküllerle ve nanoparçacıklarla modifiye edilmiş türleriyle ilgili voltametrik ve potansiyometrik sensör uygulamaları üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır [21-23]. Bu çalışmada öncelikle Ordu ilinden temin edilen bentonit kilinin yapısal ve morfolojik özellikleri X-ışınları kırınım teknikleri (XRD), taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-ışınları (EDX) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) teknikleri kullanılarak incelendi. Karakterizasyonu gerçekleştirilen kil, bütünüyle katı-hal kompozit potansiyometrik sensörün yapısında ilk defa iyonofor malzeme olarak kullanılarak Pb^{2+} seçici potansiyometrik sensör hazırlandı. Hazırlanan sensörün membran optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilerek en iyi potansiyometrik performans özelliklerine sahip elektrot bileşimi ve bu bileşime ait performans özellikleri araştırıldı.

Materyal ve Metot

Pb^{2+} seçici potansiyometrik sensör hazırlanmasında kullanılan bentonit kili Ordu ili Ünye ilçesinden temin edildi. Öncelikle kil öğütüldü ve sonra kil dışı safsızlıkların uzaklaştırılması için saf suyla dekantasyon işlemi yapıldı. Süzülükten sonra $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kurutuldu. Kurutulan numune 200 mesh'lik elekten elendi ve kullanılmadan önce tekrar $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kurutuldu. Sensör hazırlamada kullanılan grafit, multiwalled karbon nano tüp ve parafin oil Sigma-Aldrich'ten temin edildi.

Pb²⁺ Seçici Kompozit Sensörün Hazırlanması

Pb²⁺ seçici kompozit sensörün hazırlanmasında ağırlıkça %65.0 grafit, %5.0 multiwalled karbon nanotüp, %20.0 iyonofor (bentonit) ve %10 parafin oil kullanılmıştır. Bu karışım 30 dakika bir havanda karıştırılarak homojenize edilmiştir. Daha sonra elde edilen bu karışım 0.3 mm çapında ve 3.0 cm uzunluğunda plastik kateter bir boru içerisine doldurulmuştur. Plastik boru içindeki karışım uygun çaptaki metal çubuklar kullanılarak her iki ucundan iyice preslenmiştir. Presleme işleminden sonra 0.5 cm uzunluğunda bir parça kesilerek 15.0 cm uzunluğunda bakır tele bağlanmıştır. Bağlantı noktaları izole edilerek sensörün hazırlanması tamamlanmıştır. Hazırlanan Pb²⁺ seçici kompozit sensör, ölçüm işlemlerinden önce 1.0×10⁻¹ M kurşun (II) nitrat çözeltisi içerisinde 4 saat şartlandırılmıştır. Sensör kullanılmadığı zamanlarda kapalı bir alanda karanlıkta muhafaza edilmiştir.

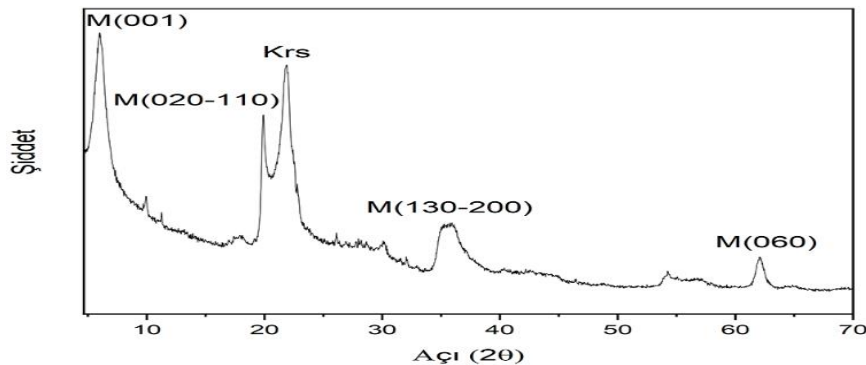
Kullanılan Cihazlar

Bentonit kilinin XRD spektrumu PANalytical Empyrean difraktometresi kullanılarak alınmıştır. FTIR spektrumu ThermoNicolet 6700 spektrometresinde 4000-400 cm⁻¹ aralığında kaydedilmiştir. Numunenin SEM görüntüleri ve EDX verileri FEI-Quanta FEG 450 cihazında alınmıştır.

Bulgular ve Tartışma

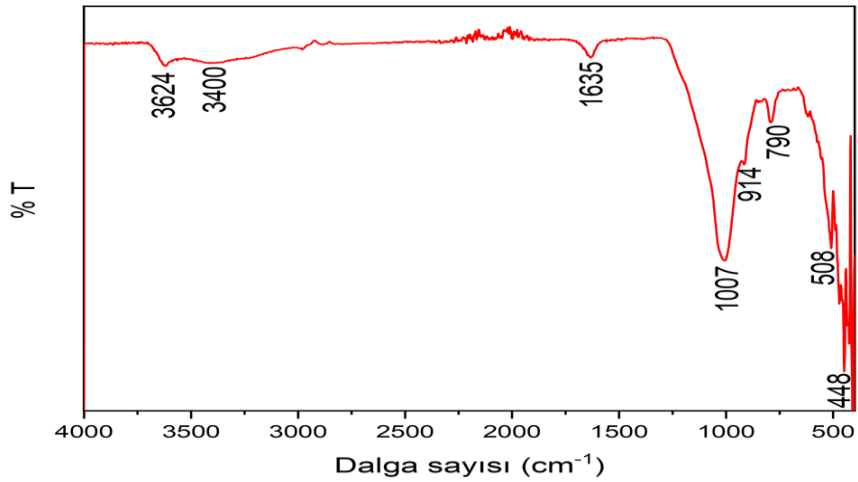
Bentonit kilinin karakterizasyonu

Bentonit kilinin XRD spektrumu Şekil 1'de verilmiştir. 7.02, 19.90, 34.90 ve 61.90 (2θ) açılarında montmorillonit kil bileşeninin (001), (020-100), (130-200) ve (060) kırınımına ait 13.44, 4.46, 2.57 ve 1.50 Å uzaklıklarına sahip pikler gözlenmiştir. Temel (001) kırınım pikinin 13.44 Å değerine sahip olması ve EDX verilerinde K ve Na elementlerinin varlığı; ana bileşeni montmorillonit olan bentonitin tabakalar arasındaki değiştirilebilir katyonlarının K⁺ (çoğunlukla) ve Na⁺ iyonları olduğunu göstermektedir [18, 20]. Ayrıca (060) kırınım pikinin 1.50 Å değerine sahip olması ve EDX verilerinde Al elementinin fazla olması da montmorillonit kilinin alüminyumca zengin dioktahedral olduğunu göstermektedir. Bunlara ilaveten 21.70 ve 9.98 (2θ) açısındaki pikler ise sırasıyla kristobalit ve illit içeriğinden kaynaklanmaktadır.



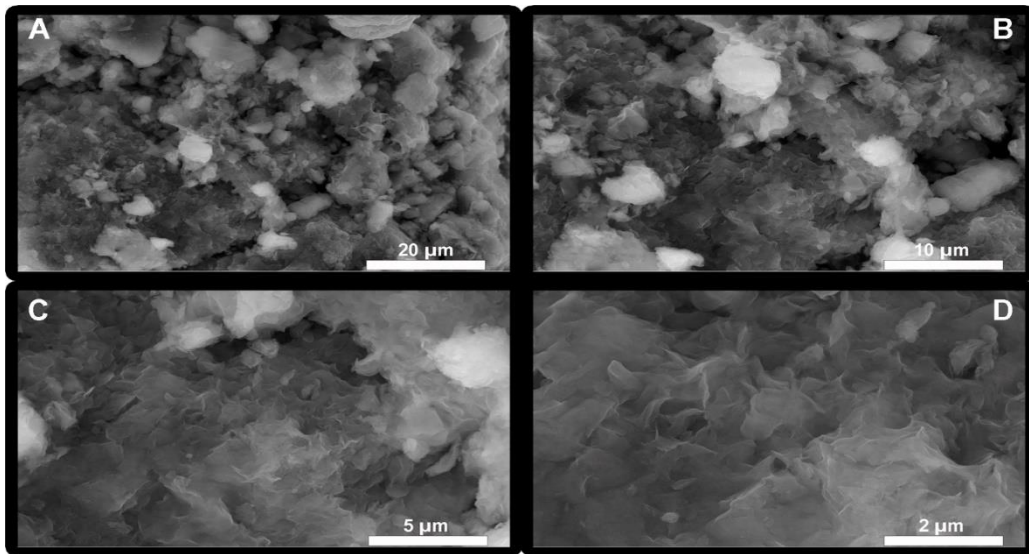
Şekil 1. Bentonit kilinin XRD spektrumu

Bentonit kilinin FTIR spektrumu Şekil 2’de verilmiştir. 3624 cm^{-1} ’de yer alan IR piki kilin oktahedral tabakadaki OH gerilmelerinden kaynaklanırken, 914 cm^{-1} ’deki pik ise bu OH türlerinin eğilmelerinden kaynaklanmaktadır. 3400 ve 1635 cm^{-1} ’deki IR pikleri sırasıyla yapısal suyun OH gerilmesi ve eğilmelerine aittir. 1007, 508 ve 448 cm^{-1} ’deki IR pikleri ise sırasıyla Si-O-Si gerilmesi, Al-O-Si eğilmesi ve Si-O-Si eğilmesinden kaynaklanmaktadır. Bunlara ilaveten kristobalit mineraline ait Si-O gerilmesi ise 790 cm^{-1} ’de gözlenmiştir. Bentonitin IR spektrumu literatürdeki verilerle iyi bir şekilde uyumlu olup, XRD verilerinde de belirtildiği gibi ana bileşeni montmorillonit ve az miktarda da kristobalit ve illit içermektedir [18-20].



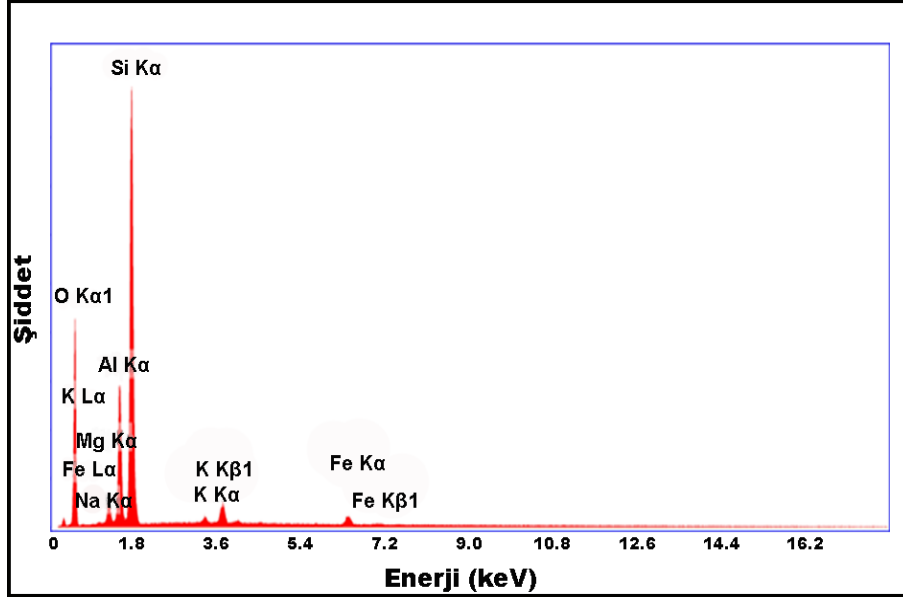
Şekil 2. Bentonit kilinin FTIR spektrumu

Şekil 3’de bentonit kilinin farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri verilmiştir. Bentonit, düşük büyütme oranlarında pürüzlü, gözenekli pul morfolojisinde bir görünüm sergilerken, büyütme oranı artıkça daha pürüzsüz, kabarık süngerimsi, yaprağımsı ve daha homojen bir görünüme sahiptir. Bentonit parçacıklarının genişliği mikro inceliği ise nanoboyutlara sahiptir.



Şekil 3. Bentonit kilinin farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri

Bentonit kilinin EDX spektrumu Şekil 4'te ve kimyasal bileşimi Tablo 1'de özetlenmiştir. Kilin oktahedral ve tetrahedral tabakalarından kaynaklanan Si, Al ve O atomları başlıca bileşen iken oktahedral ve tetrahedral tabakaların yer değiştirmesinden kaynaklanan sırasıyla Fe ve Mg atomları da bulunmaktadır. Ayrıca tabakalar arasında değiştirilebilir katyon olarak bulunan K^+ ve Na^+ iyonlarının varlığı da mevcuttur.



Şekil 4. Bentonit kilinin EDX spektrumu

Bunlara ilaveten kristobalit ve illitin katkısı silisyum, oksijen ve potasyum miktarlarını etkilemiştir. Sonuç olarak, ana bileşeni montmorillonit ve az miktarda da kristobalit ve illit içerdiği bütün karakterizasyon teknikleriyle uyumludur [24].

Tablo 1. Bentonit kilinin EDX verilerinden elde edilen kimyasal bileşimi

	Si	Al	O	Fe	Mg	K	Na
% ağırlık	33.33	10.57	51.68	1.36	2.49	0.54	0.03
% atomik	23.97	7.91	65.25	0.49	2.07	0.28	0.03

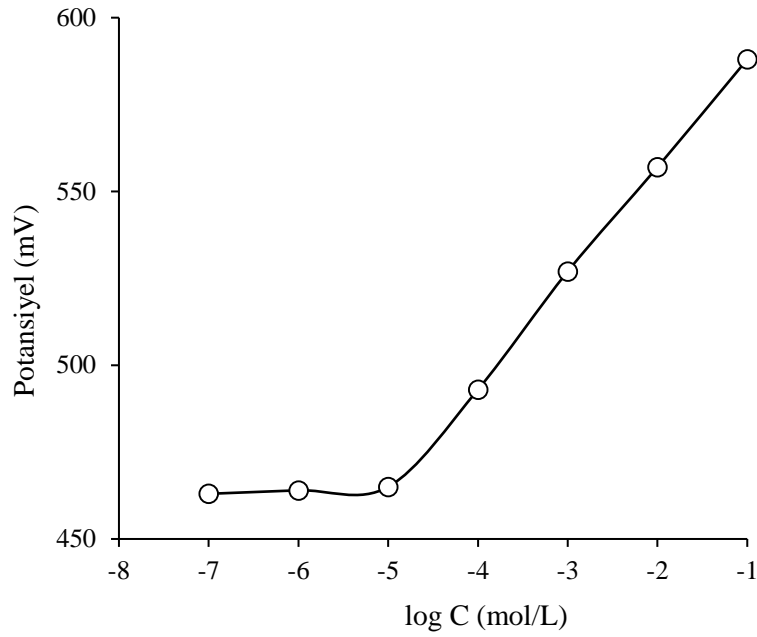
Pb²⁺ Seçici Kompozit Sensörün Sensör Bileşiminin Optimizasyonu

Hazırlanan Pb²⁺ seçici kompozit sensörün en uygun kompozit bileşiminin belirlenebilmesi için farklı oranlarda grafit, multiwalled karbon nano tüp, iyonofor ve parafin oil içeren karışımlar hazırlandı. Hazırlanan karışımlar ile oluşturulan Pb²⁺ seçici kompozit sensörlerin konsantrasyonu 1.0×10^{-6} – 1.0×10^{-1} M arasında değişen standart Pb²⁺ çözeltileri içerisinde sergilediği potansiyometrik davranışlar incelendi. Çalışılan kompozisyonlar ve elde edilen potansiyometrik performans verileri Tablo2'de detaylı olarak verilmiştir.

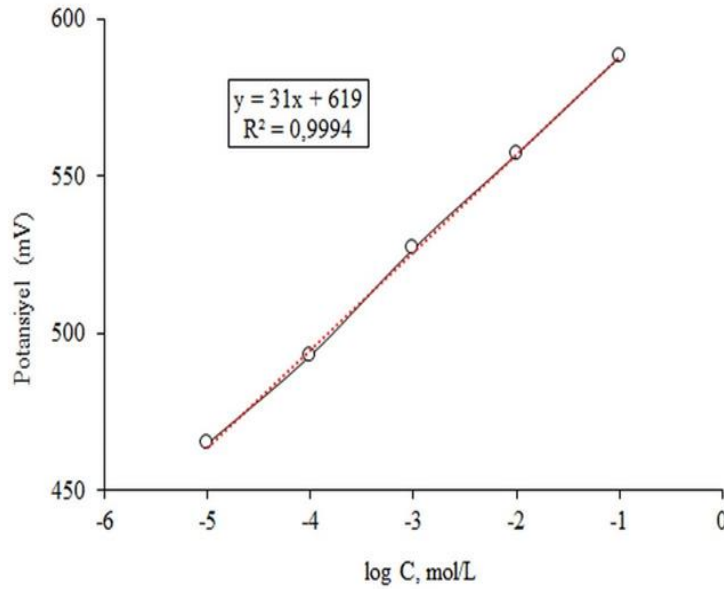
Tablo 2. Pb^{2+} seçici kompozit sensörün sensör bileşiminin optimizasyonu için çalışılan kompozit karışımlar ve elde edilen potansiyometrik performans verileri

Kompozisyon No	İyonofor	Grafit	MWCNT	Parafin oil	Doğrusal aralık (M)	Eğim (mV)	R^2	Cevap Zamanı (s)
1	10	65	5	20	$1.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-2}$	22.8	0.9479	24
2	15	65	5	15	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-2}$	25.6	0.9739	11
3	20	65	5	10	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$	31	0.9994	5
4	25	60	5	10	$1.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-1}$	26	0.9597	13
5	30	55	5	10	$1.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-2}$	21.3	0.9359	28
6	20	60	5	15	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-2}$	24.8	0.9686	17
7	20	55	5	20	$1.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-2}$	21.2	0.9525	23
8	20	60	-	20	$1.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-2}$	20.4	0.9482	16
9	20	65	-	15	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$	26.2	0.9862	10

Tablo 2’de özetlenmiş olan performans değerleri karşılaştırıldığında en uygun sensör kompozisyonunun ağırlıkça % 65.0 grafit, %5.0 çok duvarlı karbon nanotüp, %20.0 iyonofor (bentonit kili) ve % 10 parafin oil olduğu belirlenmiştir. Sensör bileşiminde çok duvarlı karbon nanotüpün (MWCNT) kullanılması hem sensörün iletkenliğini geliştirir hem de kimyasal sinyalin elektrik sinyaline verimli bir şekilde iletilmesini sağlar. İletkenliğin artması ile sensörün dinamik çalışma aralığı genişler, hassasiyeti artar ve tepki süresi kısalmır. Bu nedenle sensör bileşiminde %5.0 oranında çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) kullanıldı [25]. Bu aşamadan sonra yapılan tüm potansiyometrik performans testleri optimum kompozit bileşimine sahip elektrot kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimum kompozisyon bileşimi belirlenen Pb^{2+} seçici kompozit sensörün detaylı potansiyometrik cevabı test edildi. Bu çalışma için sensörün $1.0 \times 10^{-7} - 1.0 \times 10^{-1}$ M arasındaki konsantrasyonlarda değişen farklı konsantrasyonlardaki standart Pb^{2+} çözeltileri içerisinde sergilediği potansiyometrik davranış incelendi. Elde edilen veriler kullanılarak potansiyel(E)- $\log[Pb^{2+}]$ grafiği oluşturuldu ve Pb^{2+} seçici kompozit sensörün doğrusal çalışma aralığı, eğim ve R^2 değerleri gibi önemli potansiyometrik performans özellikleri belirlendi. Şekil 5’te elektrodun kalibrasyon eğrisi, Şekil 6’da ise Pb^{2+} seçici kompozit sensörün doğrusal çalışma aralığı, eğim ve R^2 değerleri verilmiştir. Şekil 5 ve Şekil 6’daki grafikler incelendiğinde, Pb^{2+} seçici kompozitsensörün $1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$ M arasında standart Pb^{2+} çözeltilerine karşı her 10 katlık konsantrasyon değişiminde 31 mV eğimle doğrusal cevap sergilediği gözlenmiştir. $1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$ M doğrusal çalışma aralığına sahip olan Pb^{2+} seçici kompozit sensörün bu doğrusal çalışma aralığındaki belirleme katsayısının (R^2) ise 0.9994 olduğu gözlenmiştir. Elektrodun tayin sınırı Şekil 5’teki kalibrasyon eğrisinin iki doğrusal bölgesinin kesim noktasından 9.0×10^{-6} M olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5. Pb^{2+} seçici kompozit sensör ile gerçekleştirilen detaylı kalibrasyon grafiği

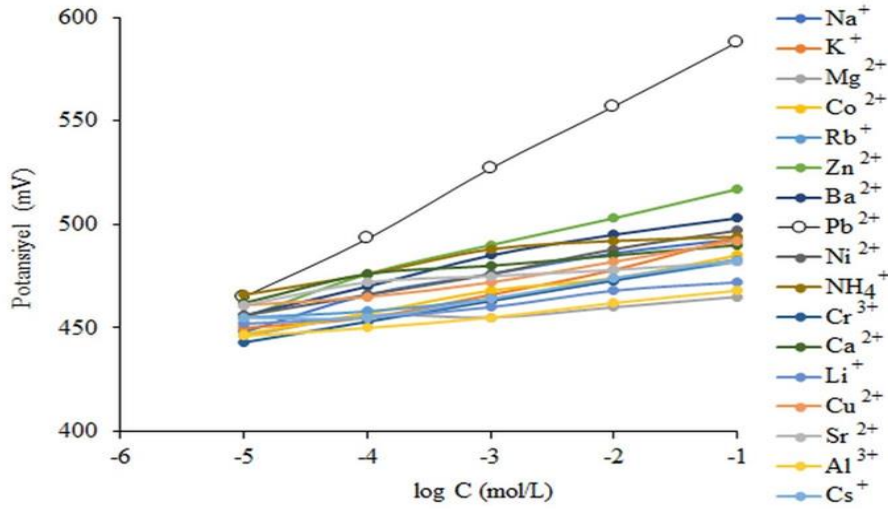


Şekil 6. Pb^{2+} seçici kompozit sensörün doğrusal çalışma aralığı, eğim ve R^2 değerlerini gösteren grafik

Pb^{2+} Seçici Kompozit Sensörün Seçiciliği

Pb^{2+} seçici kompozit sensörün seçiciliğini belirlemek için sensörün yaygın olarak kullanılan katyonların 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığındaki çözeltilerine karşı sergilediği potansiyometrik davranışı test edildi. Pb^{2+} seçici kompozit sensör tüm katyon çözeltilerine ayrı ayrı daldırıldı ve bu esnada elde edilen potansiyel değerleri kaydedildi [25]. Bir çözeltilen diğer bir çözeltiyeye geçiş sırasında

sensörün yüzeyinin deiyonize su ile yıkanmasına dikkat edildi. Elde edilen potansiyel değerleri potansiyel-derişim grafiğine geçirildi (Şekil 7).



Şekil 7. Pb^{2+} seçici kompozit sensörün Pb^{2+} iyonu ve diğer iyonlara karşı sergilediği potansiyometrik davranış

Şekil 7'de görüldüğü gibi hazırlanan Pb^{2+} seçici kompozit sensörün yaygın kullanılan katyonların yanında Pb^{2+} iyonlarına karşı seçici ve duyarlı bir potansiyometrik cevap sergilediği gözlemlendi. Şekil 7'deki veriler yardımıyla ayrı çözelti metodu kullanılarak Pb^{2+} seçici kompozit sensörün Pb^{2+} 'nin yanında diğer iyonlara karşı sergilediği seçiciliğin kantitatif ifadesi olan seçicilik katsayısı değerleri hesaplandı. Hesaplanan seçicilik katsayısı değerleri Tablo 3 de verilmiştir.

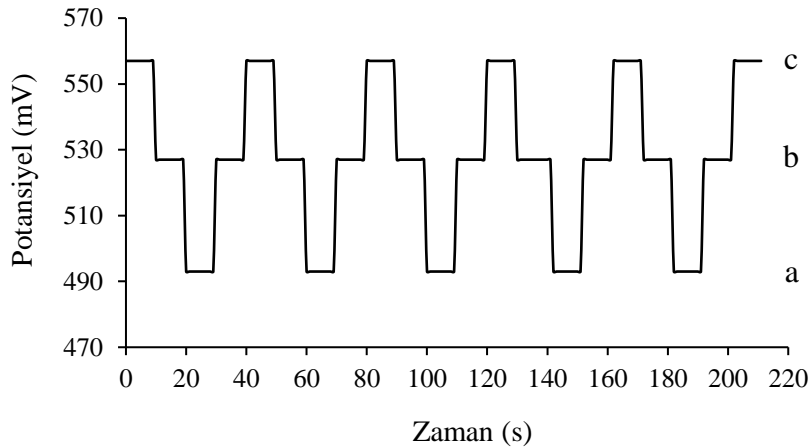
Tablo3. Pb^{2+} seçici kompozit sensörün hesaplanan seçicilik katsayısı değerleri

Girişim Yapan İyon	Ayrı Çözelti Metodu (SSM)	
	Seçicilik katsayısı değerleri ($K_{A,B}^{pot}$)	Logaritmik seçicilik katsayısı değerleri ($-\log K_{A,B}^{pot}$)
K^+	9.28×10^{-3}	2.03
NH_4^+	9.28×10^{-3}	2.03
Na^+	8.62×10^{-3}	2.06
Zn^{2+}	5.12×10^{-3}	2.29
Cs^+	4.10×10^{-3}	2.39
Rb^+	3.81×10^{-3}	2.42
Li^+	1.81×10^{-3}	2.74
Ba^{2+}	1.81×10^{-3}	2.74
Ni^{2+}	1.16×10^{-3}	2.93
Cu^{2+}	8.00×10^{-4}	3.10
Ca^{2+}	6.90×10^{-4}	3.16
Co^{2+}	4.76×10^{-4}	3.32
Sr^{2+}	3.81×10^{-4}	3.42
Cr^{3+}	1.90×10^{-4}	3.72
Mg^{2+}	1.08×10^{-4}	3.97
Al^{3+}	6.25×10^{-5}	4.20

Tablo 3'te verilen logaritmik seçicilik katsayısı değerleri incelendiğinde Pb^{2+} seçici kompozit sensörün potansiyometrik cevabına en yüksek girişim etkisinin 2.03 değeri ile K^+ ve NH_4^+ iyonlarından olduğu görülmektedir. Bu değer bize göstermektedir ki hazırlanan Pb^{2+} seçici kompozit sensörün potansiyometrik cevabına en yüksek girişim etkisi olan K^+ ve NH_4^+ iyonlarının varlığında bile sensör, Pb^{2+} iyonlarına karşı 107.15 kat daha seçici potansiyometrik davranış sergilemiştir. Sonuç olarak, hazırlanan Pb^{2+} seçici kompozitsensörün Pb^{2+} iyonlarına karşı yüksek seçicilikte potansiyometrik davranış sergilediği belirlenmiştir [25].

Pb^{2+} Seçici Kompozit Sensörün Tekrarlanabilirliği

Pb^{2+} seçici kompozit sensörün potansiyometrik cevabının tekrarlanabilirliği 1.0×10^{-2} M, 1.0×10^{-3} M ve 1.0×10^{-4} M standart Pb^{2+} çözeltileri kullanılarak test edildi. Bir çözeltiden diğer bir çözeltiliye geçiş sırasında sensörün yüzeyinin deiyonize su ile yıkanmasına dikkat edildi. Pb^{2+} seçici kompozit sensör standart Pb^{2+} çözeltileri içerisinde denge potansiyeline ulaşınca kadar bekletilmiştir ve denge potansiyeline ulaşıldığı andaki gözlenen potansiyel verileri kaydedilmiştir. Elde edilen potansiyel değerleri potansiyel-zaman grafiğine geçirildi. Şekil 8'de Pb^{2+} seçici kompozit sensörün potansiyometrik cevabının tekrarlanabilirliği verilmiştir.

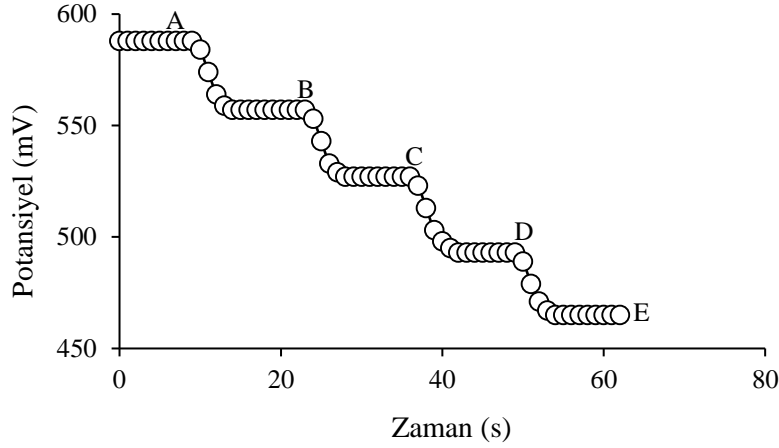


Şekil 8. Pb^{2+} seçici kompozit sensörün potansiyometrik cevabının tekrarlanabilirliği ($a=1.0 \times 10^{-4}$ M, $b=1.0 \times 10^{-3}$ M ve $c=1.0 \times 10^{-2}$ M Pb^{2+})

Pb^{2+} Seçici Kompozit Sensörün Cevap Zamanı

Çalışmamızda, Pb^{2+} seçici kompozit sensörün cevap süresini belirleyebilmek amacıyla 1.0×10^{-1} M, 1.0×10^{-2} M, 1.0×10^{-3} M, 1.0×10^{-4} M ve 1.0×10^{-5} M standart Pb^{2+} çözeltileri kullanıldı. Pb^{2+} seçici kompozit sensör bu çözeltiler içerisinde direkt olarak daldırıldı. Bir çözeltiden diğer bir çözeltiliye geçiş sırasında sensörün yüzeyinin deiyonize su ile yıkanmasına dikkat edildi. Bu esnada potansiyometrik sistem sürekli çalışır durumda tutuldu. Pb^{2+} seçici kompozit sensörün 1.0×10^{-1} M standart Pb^{2+} çözeltisi içerisinde ulaştığı denge potansiyeli değerinden 1.0×10^{-2} M, 1.0×10^{-3} M, 1.0×10^{-4} M ve 1.0×10^{-5} M derişimlere sahip Pb^{2+} iyon çözeltilerinde ulaştığı denge potansiyeli değerlerine geçiş süreleri incelendi.

Elde edilen veriler potansiyel-zaman olarak grafiğe geçirildiğinde, geliştirilen Pb^{2+} seçici kompozit sensörün cevap zamanının ortalama 5 saniye olduğu belirlendi. Şekil 9’da Pb^{2+} seçici kompozit sensörün cevap zamanı verilmiştir.



Şekil 9. Pb^{2+} seçici kompozit sensörün cevap zamanı (A: 1.0×10^{-1} , B: 1.0×10^{-2} , C: 1.0×10^{-3} , D: 1.0×10^{-4} , E: 1.0×10^{-5} mol/L Pb^{2+}).

Sonuç

XRD, FTIR ve SEM-EDX teknikleri bentonit kilinin ana bileşeninin montmorillonit ve az miktarda da kristobalit ve illit içerdiğini; tabakalar arasındaki değiştirilebilir katyonlarının K^+ (çoğunlukla) ve Na^+ iyonları olduğunu ortaya koymuştur. Bu kilin Pb^{2+} seçici bir iyonofor olarak bütünüyle katı hal kompozit potansiyometrik sensörün yapısında kullanılabileceği gösterilmiştir. Hazırlanan potansiyometrik sensör Pb^{2+} -iyonlarına karşı oldukça duyarlı seçici ve kararlı potansiyel değerleri sergilemiştir. Sensörün kurşun iyonlarına karşı 10^{-5} - 10^{-1} M konsantrasyon aralığında, 31.0 mV/10 katlık konsantrasyon değişimi eğim değeri ile doğrusal cevap sergilediği, tayin sınırının da 9.0×10^{-6} M olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan elektrot bütünüyle katı-hal kompozit yapıya sahip olduğundan minyatürizasyona uygun, hazırlanması oldukça basit, mekanik olarak da oldukça dayanıklıdır. Elektrot yüzeyinden ince kesitler alınarak elektrot yüzeyinin tazelenmesi mümkündür. Bu özellik kullanım ömrünü tamamlayan yüzeyin yenilenecek elektrotun defalarca kullanılabilmesini mümkün kılmaktadır ve ölçüm maliyeti açısından önemli avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca elektrotun yapısında çok ucuz ve bolca bulunan kil materyalinin iyonofor olarak kullanılması, çok yüksek maliyetlerle temin edilen ticari iyonofor maddelerle hazırlanan elektrotlarla karşılaştırıldığında önemli bir avantajdır. Yine önerilen elektrodun bir diğer önemli avantajı da polimer yapısında membran içermediğinden dolayı iyon elektron dönüştürücüsü/membran ara yüzeyinde elektrodun stabilitesine zarar veren su tabakasının oluşmuyor olmasıdır. Kullanılan iyonofor maddenin katı halde olması ve çözünerek ölçüm çözeltisine geçme ihtimalinin düşük olması nedeniyle klasik iyonofor temelli PVC membran elektrotlara göre daha uzun kullanım ömrüne sahip olacağı öngörülmektedir.

Teşekkür-

Fon/Finansman bilgileri Bu çalışma Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün (BAP) FBA-2020-687 numaralı projesiyle desteklenmiştir.

Etik Kurul Onayı ve İzinler Çalışma, etik kurul izni ve herhangi bir özel izin gerektirmemektedir.

Çıkar çatışmaları/Çatışan çıkarlar Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazarların Katkısı 1., 2., 3. ve 4. yazarlar %15, 5., 6., 7. ve 8. yazarlar %10 katkı sağlamıştır. Tüm yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

Kaynaklar

[1] Ramola, S., Belwal, T., Li, C. J., Wang, Y. Y., Lu, H. H., Yang, S. M., & Zhou, C. H. (2020). Improved lead removal from aqueous solution using novel porous bentonite-and calcite-biochar composite. *Science of the Total Environment*, 709, Article 136171. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136171>

[2] Ouni, L., Ramazani, A., & Fardood, S. T., (2019). An overview of carbon nanotubes role in heavy metals removal from wastewater. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 13(2), 274–295. <https://doi.org/10.1007/s11705-018-1765-0>

[3] Fu, F., & Wang, Q., (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 407-418. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.011>

[4] Uzoh, C. F., Nwabanne, J. T., & Ozofor, I. H., (2020). Electrocoagulation of Pb²⁺, Co²⁺, and Mn²⁺ from simulated wastewater: An algorithmic optimization using hybrid RSM-GA-PSO. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 39:e13301. <https://doi.org/10.1002/ep.13301>

[5] Wang, T., & Yue, W., (2017). Carbon nanotubes heavy metal detection with stripping voltammetry: a review paper. *Electroanalysis*, 29, 2178-2189. <https://doi.org/10.1002/elan.201700276>

[6] Malik, L. A., Bashir, A., Qureashi, A., & Pandith, A. H., (2019). Detection and removal of heavy metal ions: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 17, 1495-1521. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00891-z>

[7] Pięk, M., Wojciechowska, A., Fendrych, K., Piech, R., & Paczosa-Bator B., (2019). A simple way to modify selectivity of sodium sensitive electrodes by using organic conductive crystals. *Ionics*, 25, 2311-2321. <https://doi.org/10.1007/s11581-018-2600-9>

[8] Lindner, E., & Gyurcsányi, R. E., (2009) Quality control criteria for solid-contact, solven tpolymeric membrane ion-selective electrodes. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 13, 51-68. <https://doi.org/10.1007/s10008-008-0608-1>

[9] Bobacka, J., Ivaska, A., & Lewenstam, A., (2008). Potentiometric Ion Sensors. *Chemical Reviews* 108, 329-351. <https://doi.org/10.1021/cr068100w>

[10] Mendoza, M. O., Ortega, E. P., de Fuentes, O. A., Prokhorov, Y. & Luna Barcenas J. G., (2014) Chitosan/bentonit enanocomposite: Preliminary studies of its potentiometric response to nitrate ions in water. *2014 IEEE 9th Ibero American Congress on Sensors*, 1-4. <https://doi.org/10.1109/IBERSENSOR.2014.6995562>

- [11] Udomphan, K., Wongchaisuwat, A., & Meesuk, L., (2012). CdS-intercalated bentonite: A novel sulfide ions elective electrode. *Applied Mechanics and Materials*, 110-116, 472-477. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.110-116.472>
- [12] Parra, E. J., Blondeau, P., Crespo, G. A., & Rius, F.X., (2011). An effective nanostructured assembly for ion-selective electrodes. An ionophore covalently linked to carbon nanotubes for Pb²⁺ determination. *Chemical Communications*, 47, 2438-2440. <https://doi.org/10.1039/c0cc03639k>
- [13] Ghaedi, M., Montazerzohori, M., Behfar, M., Khodadoust S., Andikaey Z., & Biareh, M. N., (2011). Chemically modified multiwalled carbon nanotubes as efficient material for construction of new zinc(II) ion selective carbon paste electrode. *Sensor Letters*, 9(5), 1718-1725. <https://doi.org/10.1166/sl.2011.1735>
- [14] Zhang, T., Chai, Y., Yuan, R., & Guo, J., (2012). Nanostructured multi-walled carbon nanotubes derivate based on carbon paste electrode for potentiometric detection of Ag⁺ ions. *Analytical Methods* 4, 454-459. <https://doi.org/10.1039/C2AY05668B>
- [15] Shirzadmehr, A., Afkhami, A., & Madrakian, T., (2015). A new nano-composite potentiometric sensor containing an Hg²⁺-ion imprinted polymer for the trace determination of mercury ions in different matrices. *Journal of Molecular Liquids*, 204, 227-235. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.01.014>
- [16] Wang, L., Wang, Z., Zhou, C., Song, W., & Sun, C., (2020). Potentiometric micro sensor based on ion-imprinted polymer for the trace determination of cesium(I) ions. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 41 (7), 1095-1103. <https://doi.org/10.1080/01932691.2020.1730886>
- [17] Yolcu, M., & Dere, N., (2018). All-solid-state potentiometric Cu(II)-selective sensor based on ion imprinted methacrylamide polymer. *Electroanalysis* 30, 1147-1154. <https://doi.org/10.1002/elan.201700849>
- [18] Caglar, B., Keles Guner, E., Ersoy, S., Caglar, S., Özdemir, A.O., Özdokur, K.V., Dogan, B., İcer, F., & Çirak C., (2021). Bi₂S₃ nanorods decorated on bentonite nanocomposite for enhanced visible-light-driven photocatalytic performance towards degradation of organic dyes. *Journal of Alloys and Compounds*, 885, 160964. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2021.160964>
- [19] Caglar, B., Keles Guner, E., Özdokur, K.V., Özdemir, A.O., İcer, F., Caglar, S., Doğan, B., Beşer, B.M., Çirak, Ç., Tabak, A., & Ersoy, S., (2021). Application of BiFeO₃ and Au/BiFeO₃ decorated kaolinite nanocomposites as efficient photocatalyst for degradation of dye and electrocatalyst for oxygen reduction reaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 418, Article 113400, <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113400>
- [20] Caglar, B., Keles Guner, E., Keles, K., Özdokur, K.V., Cubuk, O., Coldur, F., Caglar, S., Topcu, C., & Tabak, A., (2018). Fe₃O₄ nanoparticles decorated smectite nanocomposite: characterization, photocatalytic and electrocatalytic activities. *Solid State Sciences*, 83, 122-136, <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2018.07.013>
- [21] Prabhu, K., Malode, S. J., Veerapur, R. S., & Shetti, N. P., (2021). Clay-based carbon sensor for electro-oxidation of nimesulide. *Materials Chemistry and Physics*, 262, Article 124287. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.124992>
- [22] Killedar, L. S., Vernekar, P. R., Shanbhag, M. M, Shetti, N. P., Malladi, R. S., Veerapur, R. S., & Reddy K. R., (2022). Fabrication of nanoclay-modified electrodes and their use as an effective electrochemical sensor for biomedical applications. *Journal of Molecular Liquids*, 351, Article 118583. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118583> 0167

[23] Molaei N., Wani O. B., & Bobicki E. R., (2022). A comparative study of bio polymer adsorption on model anisotropic clay surface susing quartz crystal microbalance with dissipation (QCM-D). *Journal of Colloid and Interface Science*, 615, 543-553. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.01.180>

[24] Koksall, E., Afsin, B., Tabak, A., & Caglar B., (2011). Structural characterization of aniline-bentonite composite by FTIR, DTA/TG, and PXRD analyses and BET measurement. *Spectroscopy Letters*, 44, 77-82. <https://doi.org/10.1080/00387010903555953>

[25] Topcu, C., Coldur, F., Caglar, B., Ozdokur, K. V., & Cubuk, O. (2022). Solid-state electrochemical sensor based on a cross-linked copper (II)-doped copolymer and carbon nanotube material for selective and sensitive detection of monohydrogen phosphate. *Electroanalysis*, 34(3), 474-484. <https://doi.org/10.1002/elan.202100340>



Using Walnut Shell Based Activated Carbon for the Efficient Removal of Phosphate from Aqueous Solutions

Ayla ARSLAN¹ and Şehriban ZEYBEK²

How to cite: Arslan, A., & Zeybek, Ş. (2022). Using walnut shell based activated carbon for the efficient removal of phosphate from aqueous solutions. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 22-40. <https://doi.org/10.33484/sinopfbfd.1013083>

Research Article

Corresponding Author
Ayla ARSLAN
ataberk@kocaeli.edu.tr

ORCID of the Authors
A. A: 0000-0002-8410-256X
Ş. Z: 0000-0003-3954-4163

Received: 21.10.2021
Accepted: 23.02.2022

Abstract

In this study, walnut shell, which is abundant in Turkey and low-cost biomass waste, has been used for activated carbon production and phosphate removal from aqueous solutions with the produced activated carbon was investigated. ZnCl₂ was used to prepare adsorbent by chemical activation method. Produced activated carbons were characterized by moisture content, ash content, iodine number, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and scanning electron microscopy (SEM) analyses. The specific surface area was calculated as 415.433 m²/g from the isotherms using the Brunauer-Emmett-Teller (BET) equation. The effects of pH, adsorbent amount, agitation speed and temperature were investigated. Different adsorption isotherm models were applied. It was found that the Langmuir isotherm provided the best fit for the experimental data. In the pseudo- second order kinetic model, the values found theoretically (q_{e,cal}) were very similar to those determined by experiments (q_{e,exp}). The results showed that the adsorption of phosphate on the WSAC fits the pseudo- second order kinetic model. According to the thermodynamics analysis, phosphate adsorption on WSAC was endothermic under the studied conditions.

Keywords: Phosphate, activated carbon, adsorption isotherms, walnut shell.

Sulu Çözeltilerden Etkin Fosfat Giderimi için Ceviz Kabuğu Bazlı Aktif Karbon Kullanımı

¹Kocaeli University, Department of Environmental Engineering, Kocaeli, Turkey.

²Kocaeli University, Institute of Science and Technology, Kocaeli, Turkey.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Öz

Bu çalışmada Türkiye'de bol miktarda bulunan ve düşük maliyetli biyokütle atığı olan ceviz kabuğu aktif karbon üretimi için kullanılmıştır ve üretilen aktif karbon ile sulu çözeltilerden fosfat uzaklaştırılması araştırılmıştır. ZnCl₂ kimyasal aktivasyon yöntemi ile adsorbent hazırlamak için kullanılmıştır. Üretilen aktif karbonlar nem içeriği, kül içeriği, iyot sayısı, taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ve Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) analizleri ile karakterize edilmiştir. Brunauer-Emmett-Teller (BET) denklemi kullanılarak aktif karbonun spesifik yüzey alanı 415.433 m²/g olarak hesaplanmıştır. pH, adsorbent miktarı, karıştırma hızı ve sıcaklığın etkileri araştırılmıştır. Adsorpsiyon izotermini farklı izoterm modelleri ile analiz edilmiştir. Langmuir izoterminin deneysel veriler ile uyumlu olduğu görülmüştür. Sözde ikinci dereceden kinetik modelde, teorik olarak bulunan değerler (q_{e,cal}) deneylerle belirlenenlere çok yakındır (q_{e,exp}). Sonuçlar, WSAC üzerindeki fosfat adsorpsiyonunun sözde ikinci derece kinetik modele

uyduğunu göstermiştir. Termodinamik analize göre, WSAC'deki fosfat adsorpsiyonu çalışılan koşullarda endotermiktir.

Anahtar Kelimeler: Fosfat, aktif karbon, adsorpsiyon izotermi, ceviz kabuğu

Introduction

The abatement of elevated phosphorus levels in water bodies is of momentous urgency from the aspect of environmental management, due to its adverse impact on the aquatic ecosystems and human health [1]. In order to remove phosphorus from water and wastewaters, the state-of-the-art treatment methods can be physical, chemical and biological processes [2]. Precipitation as a chemical method is widely used for phosphorus removal [3]. Although chemical precipitation is an effective method, it causes problems such as the complexity of the control system, the use of chemical substances, the excess amount of phosphate sludge formed in the precipitation and disposal of the sludge [4]. Biological processes are lower cost alternatives to chemical treatment of wastewater. Biological phosphorous removal is based on stress-induced activity of the microorganisms for excessive adsorption than usual requirement for microbial growth [5]. Up to 97% of total phosphorus can be treated with advanced biological treatment, but difficulties may arise in operating the process [6]. In addition to the high cost of biological and physical-chemical methods in phosphorus treatment, difficult operating conditions limit the use of these methods. Therefore, it is crucial to use reliable and economical technologies for removing phosphorus from wastewater. Example methods can be stated as adsorption, ion exchange, membrane, electrocoagulation, reverse osmosis, and electrodialysis [7]. For phosphate removal, adsorption is evaluated as a useful and cost-effective method, considering readily available materials at hand [8-10]. Especially in studies with calcium carbonate, calcium kaolinite, red mud, half-burnt dolomite, fly ash, clinker, zeolite, pumice stone, titanium dioxide and coconut shell, very successful results have been obtained in removing phosphate from wastewater [11]. Activated carbon can be defined as an adsorbent material for which surface area and pore volume are highly improved by applying activation process to materials that contain high carbon [12]. Activated carbon can be produced from several raw materials containing low inorganic material and high carbon. In addition to wood, coal and coconut, which are commonly used substrates in activated carbon production, many agricultural wastes and products are also utilized as activated carbon materials for removing some compounds (both organic and inorganic) in liquid and gas phase [13]. Activated carbon contains carbon component within the range of 85-95% and other elements, for example hydrogen, oxygen, nitrogen, and sulfur. Typical activated carbon's elemental composition may be comprised of 88% C, 6-7% O, 0.5% N, 0.5% H and 1% S. The oxygen content of activated carbon may vary between 1-20% depending on the preparation of the substance [14]. Activated carbon's physicochemical properties can be changed by type of raw material used as well as activation conditions [15]. The application of various thermal and chemical treatments improves the pore structure of the raw materials and allows the formation of micropores [16].

Cost-effectiveness, availability, and unique content (high carbon and low inorganic) are the reason for preferring agricultural waste usage in activated carbon production in recent years [17]. Vegetative waste usage for activated carbon production makes an important contribution to the solution of environmental problems [18]. Within the sustainable environment approach, it is aimed to evaluate walnut shells from agricultural wastes formed in our country and to obtain an adsorbent that can be used as an alternative in the removal of phosphate, which is an important pollutant. Phosphate removal with different adsorbents has been studied in the literature. However, while the removal applications of pollutants such as dye and chromium with activated carbon obtained from walnut shell are more, phosphate removal applications are very few. This study aims to investigate whether activated carbon prepared from walnut shell is effective for phosphate removal from aqueous solution. Several important experimental conditions such as pH, adsorbent amount, agitation speed and temperature and also isotherm models, adsorption kinetic and thermodynamic were investigated in the present study.

Materials and Methods

Materials

Walnut shell (WS) was gathered as household waste. The composition of the WS was 47.22% C, 6.12% H, 1.33% N, 1.05% ash and 3.37% moisture. Different chemicals were used in the experimental stages of the study. For the activation of the raw materials, zinc chloride ($ZnCl_2$, Merck) was applied as activating agent. KH_2PO_4 (Merck) was utilized in the preparation of the stock phosphate solution. For pH adjustment NaOH (Merck) and H_2SO_4 (Merck) were used. During analysis of orthophosphate, $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ (Merck), $SnCl_2$ (Merck), $C_3H_8O_3$ (Merck) and phenolphthalein (Merck) were used. During the analysis of iodine number, concentrated hydrochloric acid (HCl, Merck), sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$, Merck), sodium carbonate (Na_2CO_3 , Merck), iodine (I_2 , Merck), potassium iodide (KI, Merck) and starch (Merck) were used according to the standard procedure. All chemicals used were of analytical grade.

Equipments

Drying oven (NÜVE model FN 500), jaw crusher (ÜNAL model 100 x 100 mm), shaking bath (NÜVE model ST 30), laboratory type chamber furnace (PROTHERM), ash furnace (BLULAB), pH meter (Thermo Scientific ORION STAR model A111), magnetic stirrer (MTOPS MS300 HS) and spectrophotometer (HACH DR 5000) were used in the experiments and analyses.

Methods

The surface morphology of the raw shells and activated carbons was investigated with SEM (JEOL JSM-6060). Surface functional groups, or structure characterization of the raw shells and activated carbons, were analyzed through the FTIR transmission spectra recorded by using a FTIR

spectrophotometer (FTIR-Bruker Alpha) in the wave number range of 4000-400 1/cm. BET analysis (Quantachrome Quadrosorb SI) was performed at Yıldız Technical University Science and Technology Application and Research Center. For ash and moisture contents, 1 g of activated carbon samples were weighed with an analytical balance. By placing the samples in the balanced crucibles, the ash content was determined by burning them at 650°C for 10 hours in furnace, and the moisture content was determined by drying them at 105°C for 24 hours in oven. To determine the iodine number, 1 g of activated carbon sample placed in a 250 mL titration flask was soaked with 10 mL of 5% HCl solution and then boiled for 30 seconds, later it was allowed to cool. 100 mL of stock iodine solution was added, and homogenization of the mixture was achieved using magnetic stirrer. It was then filtered through a filter paper and titrated with thiosulfate solution. After a pale-yellow color was obtained, titration was carried on with adding 2 mL of starch into the filtrate. The amount of iodine in the filtrate was calculated from the amount of thiosulfate spent up to the turning point [19]. Total phosphorus analyses were performed in accordance with the tin chloride method (4500-P D.Stannous Chloride Method) given in Standard Methods [20].

Synthesis of WSAC

The walnut shells were first washed several times with tap water to remove foreign particles. After, the shells were washed with distilled water and then dried in an oven at 105°C, for 12 hours. The shells dried in the oven were then crushed to the size of 1-3 mm using a 100x100 mm jaw crusher. For activation, the crushed shells were immersed in ZnCl₂ solution (30%) with the impregnation ratio of 1:1 and then stirred in a shaking bath at 80°C and 125 rpm, for 4 hours. The samples removed from the shaking bath were filtered through coarse filter paper and dried in the oven at 105°C, for 12 hours. Activated shells were carbonized in the ash furnace at 600°C, under nitrogen gas flow of 250 mL/min, for 60 min. After the carbonization processes, the activated carbon samples were washed with distilled water until pH 6-6.5 to remove the excessive chemicals used for activation. The ultimate samples were dried in the oven at 105°C, for 12 hours.

Characterization of WSAC

Synthesized activated carbon was characterized by several analysis which were moisture and ash content, iodine number, SEM, FT-IR and BET. The moisture and ash contents and also iodine number of the produced adsorbent was compared with similar studies in literature (Table 1). The BET specific surface area was calculated to be 415.433 m².g⁻¹. It has been determined that WSAC has a microporous structure.

Table 1. Studies about activated carbon production and characteristics

Shell	Activating Agent	Ash Content (%)	Moisture Content (%)	Iodine Number (mg/g)	References
Hazelnut Shell	ZnCl ₂	1.23	11.02	-	[21]
Almond Shell	ZnCl ₂	-	-	A-S: 256	[22]
Walnut Shell	H ₃ PO ₄	-	-	W-S: 958	
Walnut Shell	ZnCl ₂	-	-	400	[15]
Walnut Shell	KOH	-	-	303	[23]
Chestnut Shell	ZnCl ₂	-	-	C-S:785	[24]
Hazelnut Shell				H-S: 276	
Peanut Shell	ZnCl ₂	8.20	9.00	1114	[25]
Chestnut Shell	ZnCl ₂	-	-	917	[26]
Hazelnut Shell	H ₃ PO ₄	5.32	-	397.7	[27]
Hazelnut Shell	ZnCl ₂	-	1.97	737	[28]
Hazelnut Shell	H ₃ BO ₃ K ₂ CO ₃	2.92	7.41	1009.71	[29]
Walnut Shell	ZnCl₂	1.81	1.03	449	Current Study

In the study, performed by [30], activated carbon was produced from pecans. Activated carbons were characterized by its pore structure, FTIR analysis and acidic surface groups. The raw pecans were reduced to a certain size and their activation was carried out with H₃PO₄ solution (30%). It was observed that the pore structure of the activated carbon was more improved at higher activation temperatures and 1130 m²/g of BET surface area was achieved. [31] applied vacuum chemical activation to produce activated carbon from walnut shells. The highest surface area of the sample obtained at ZnCl₂:walnut shell ratio of 2:1 and activation temperature of 450°C was 1800 m²/g. And it was stated that these activated carbon samples were good adsorbents for removing some organic pollutants in water. In their study with two different impregnation ratio, [28] concluded that the iodine number and the BET surface area of the activated carbon with a walnut shell: ZnCl₂ impregnation ratio of 1:1 were 760 mg/g and 803 m²/g, respectively. On the other hand, the iodine number and the BET surface area of the sample with 1:0.5 impregnation ratio were 737 mg/g and 780 m²/g, respectively. In the study performed by [32], activated carbon had 1452 m²/g surface area and 1.970 nm average pore diameter which was obtained from 60 min-carbonization of 5 g walnut shell activated with ZnCl₂ with the impregnation ratio of 1:1.

SEM

In Figure 1a and b, SEM images softly are given to show the surface morphology of the raw walnut shell and the activated carbon. When the images are examined in Figure 1a, it is seen that the surface of the raw walnut shell was smooth and slightly indented. But then, in Figure 1b, it was obvious that after activation/carbonization, there occurred small pores inside the pores even if its inner walls seemed smooth and also the surface area was increased due to the formation of apparent indentations.

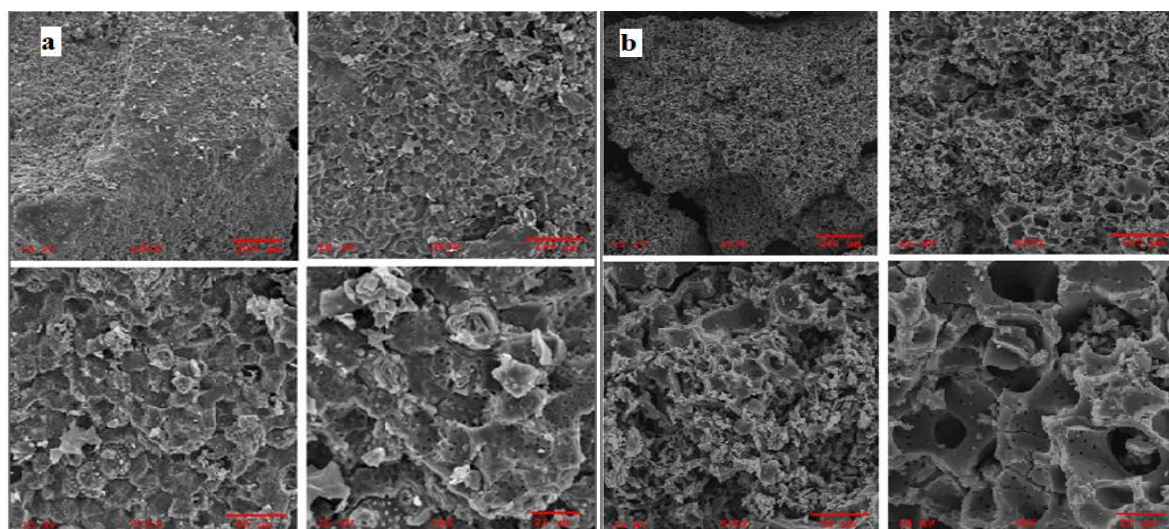


Figure 1. (a) SEM images of walnut shell (100x, 250x, 500x, 1kx) (b) SEM images of activated carbon (100x, 250x, 500x, 1kx)

FTIR

In Figure 2, the FTIR analysis is given, and it may be concluded that the apparent band intensity of organic molecules was weakened because of activation and the cellulosic organic structure of the walnut shell became disrupted.

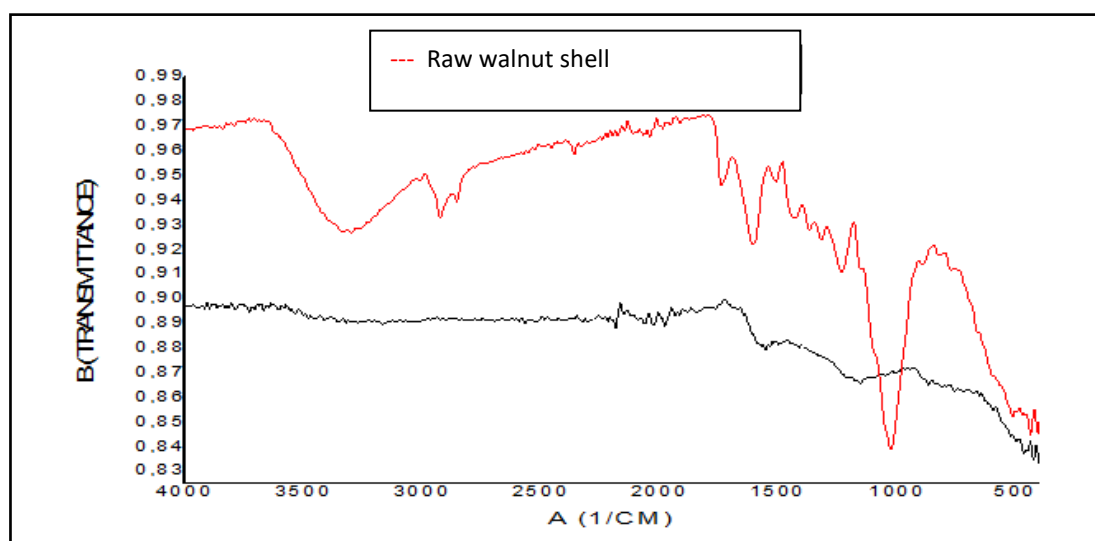


Figure 2. FT-IR spectra of the activated carbon samples and walnut shell

Adsorption Experiments

In the experiments, the effects of pH, adsorbent amount, agitation speed and temperature were investigated on the adsorption process. The batch adsorption experiments were conducted using 100 mL synthetic phosphate solution of different initial concentrations (10, 20 and 30 mg/L). 0.5 g WSAC was added in 250 mL Erlenmeyer flasks. The flasks were placed in a shaker at a constant speed of 150 rpm and 25°C for 150 min. By determining the residual phosphate amount in the solution after adsorption, the adsorption capacity values (q_e) and phosphate removal efficiencies were calculated according to the following equations:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{M} \quad (1)$$

$$\text{Efficiency (\%)} = (C_0 - C_e)/C_0 \times 100 \quad (2)$$

Where C_0 and C_e (mg/L) are the initial and equilibrium concentrations of phosphorus respectively. M (g) is the mass of the adsorbent and V (L) is the volume of the solution.

Results and Discussion

Effect of pH

For evaluating the effect of initial pH; the adsorption studies were conducted in the pH range of 2-10, with 0.5 g of adsorbent and 20 mg/L initial phosphate concentration, at 25°C and 150 rpm, for 150 min. The results are given in Figure 3.

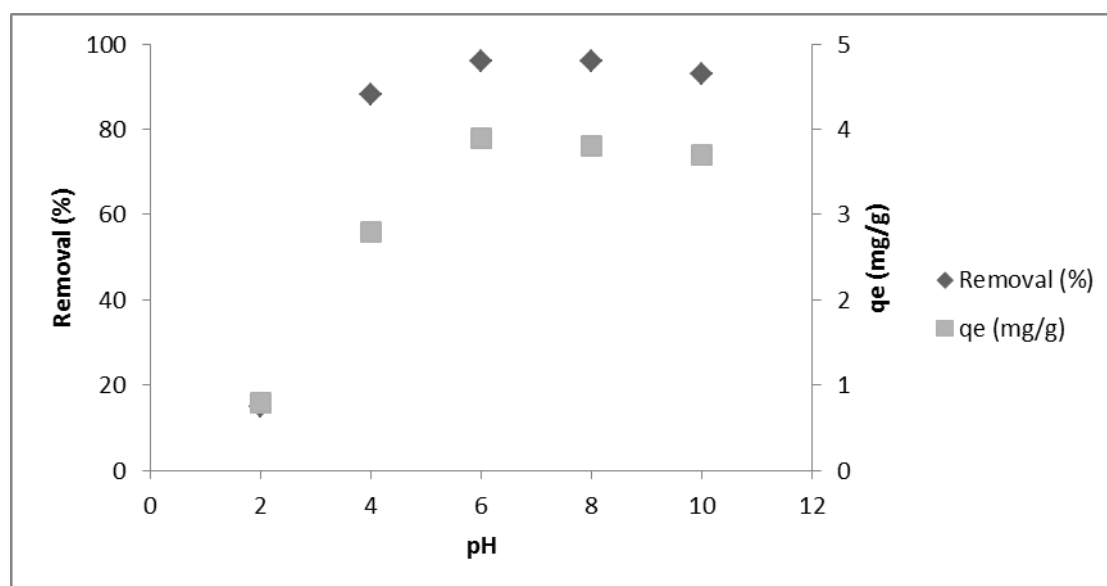


Figure 3. The adsorption capacities and removal efficiencies at different pH ($C_0=20$ mg/L, 150 min, 0.5 g adsorbent/100 mL, 150 rpm, 25°C)

According to the Figure3, the phosphate removal efficiency tended to increase with the increment of pH in the range of 4-7. Because of the insignificant difference between the phosphate removal efficiencies

of particular pH levels, the studies for other parameters were conducted at 6.5, original pH of the solution. Additionally, the highest adsorption capacities (q_e) were also achieved at pH 6.5. At low pH (2-4), phosphate adsorption capacity decreased with protonation caused by high H^+ ion concentration. Also, the decrease in the capacity, at pH higher than 8, could be due to the competition of phosphate and OH^- ions for the adsorption sites on the adsorbent surface [33-34].

Effect of Adsorbent Amount

The adsorption studies for investigating the effect of adsorbent amount were performed with amounts varying between 0.1-0.9 g. Other conditions were hold at pH 6.5, initial phosphate concentration of 20 mg/L, 25°C, 150 rpm and for 150 min (Fig. 4).

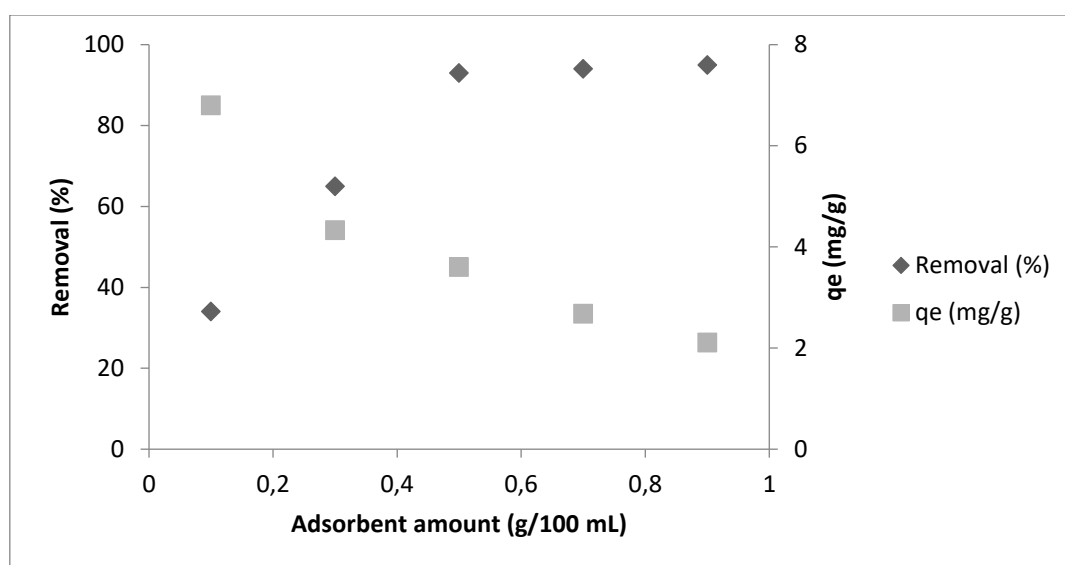


Figure 4. The adsorption capacities and removal efficiencies with different adsorbent amount ($C_0=20$ mg/L, 150 min, pH 6.5, 150 rpm, 25°C).

It was observed that the phosphate removal efficiencies increased proportionally to the increase in the adsorbent amount. However, for applications higher than 0.5 g, the removal efficiencies remained close. Thus, the optimum adsorbent amount was determined as 0.5 g. The decrease in the adsorption capacity with the increase in the adsorbent amount is due to the unsaturation of the active sites during the adsorption process [35].

The Effect of Agitation Speed

In adsorption, the adsorbate must be in contact with the adsorbent in the most effective way to achieve high efficiency. Therefore, the adsorption studies to investigate the optimum agitation speed were carried out with the speeds ranged between 50-200 rpm. Other hold values were pH 6.5, initial phosphate concentration of 20 mg/L, adsorbent amount of 0.5 g, room temperature, and 150 min. The effect of the agitation speed is presented in Fig. 5. Phosphate removal efficiencies tended to increase with the increase in agitation speeds.

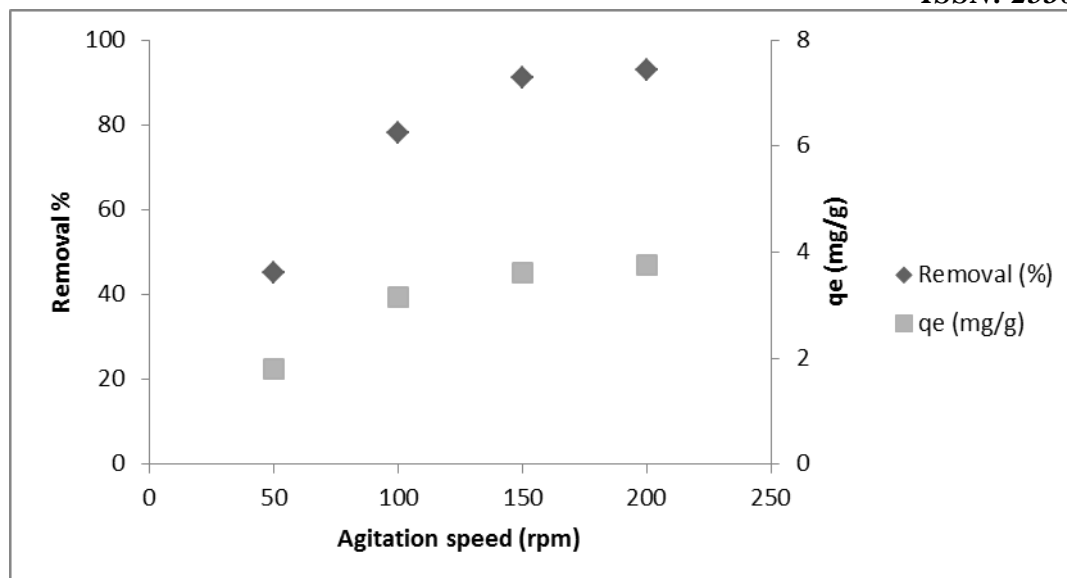


Figure 5. The adsorption capacities and removal efficiencies at different agitation speeds ($C_0=20$ mg/L, 150 min, pH 6.5, 0.5 g adsorbent/100 mL, 25°C).

Effect of Temperature

Temperature is an important physicochemical process parameter that changes adsorption capacity of adsorbent. The effect of temperature on the adsorption of phosphate by WSAC was examined in the range of 25-45°C with 20 mg/L initial phosphate concentration and 0.5 g adsorbent dosage, at pH 6.5 and 150 rpm, for 150 min. The results are shown in Fig. 6. There was no significant difference between the removal efficiencies of the studied temperature levels. Thus, the experiments were performed at room temperature.

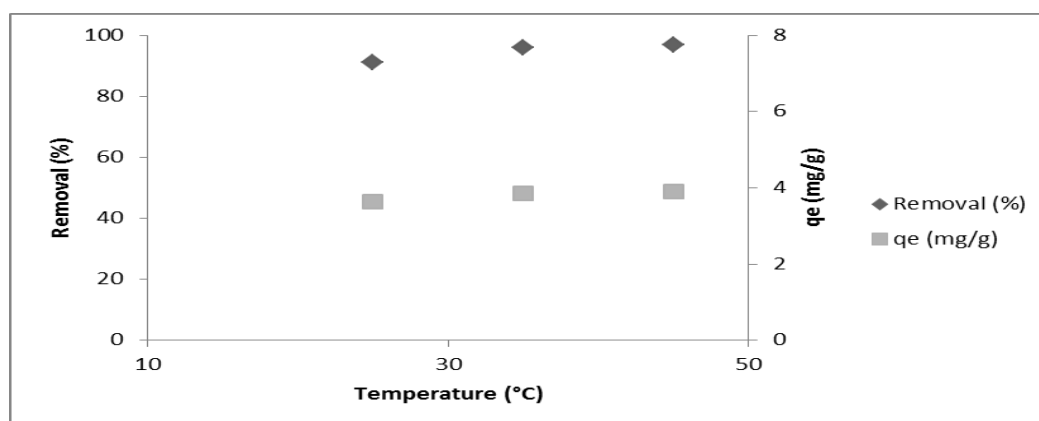


Figure 6. The adsorption capacities and removal efficiencies at different temperatures ($C_0=20$ mg/L, 150 min, pH 6.5, 0.5 g adsorbent/100 mL, 150 rpm)

Adsorption Isotherms

The data obtained were applied to Freundlich, Langmuir, Temkin and Dubinin-Radushkevich adsorption isotherms.

Freundlich Isotherm

Freundlich isotherm is used to model adsorption on heterogeneous surfaces and is expressed in the following equations [36].

$$\log q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad (3)$$

where K_f (mg/g) is the Freundlich adsorption constant and n Freundlich density constant and heterogeneity factor, which is a constant related to surface heterogeneity.

Langmuir Isotherm

Langmuir isothermia is the most widely used isotherm model and is used to describe single-layer homogeneous adsorption [37]. Langmuir isotherm is expressed by equality (2);

$$C_e/q_e = (1/k V_m) + (C_e/V_m) \quad (4)$$

Where; q_e indicates the amount of adsorbed substance (mg/g), k equilibrium constant (L/mg), C_e : concentration of the substance remaining in the solution after adsorption (mg/L) and V_m adsorption capacity (mg/g).

The sizeless separation factor (R_L) is calculated with the following equality help to determine whether langmuir adsorption isotherm is appropriate.

$$R_L = 1 / (1 + a_L C_0) \quad (5)$$

Where a_L (L/mg) refers to the Langmuir constant and C_0 is defined to the adsorbate initial concentration (mg/L).

The fact that the R_L value is greater than 1 indicates that the adsorption process is unfavorable, equal to 1 is linear, it is appropriate to have a value between 0 and 1, and if it is 0, adsorption is irreversible [38].

Temkin Isotherm

Temkin isotutery assumes that the decrease in adsorption energy is linear [39]. Temkin isotherm is calculated from the following equation;

$$q_e = B \ln A + B \ln C_e \quad (6)$$

A: indicates the constant, which represents adsorbate-adsorbate interactions, and B: indicates a constant related to adsorption temperature.

Dubinini – Radushkevich Isotherm

D-R (Dubinin–Radushkevich) isothermia provides information about whether the adsorption process is physical or chemical adsorption [40]. D-R isotherm equality is as follows;

$$\ln q_e = \ln V_m' - K' \varepsilon^2 \quad (7)$$

where q_e (mg/g) is the amount of substance adsorbed at equilibrium, V_m' (mg/g) is the capacity of adsorption, K' ($\text{mol}^2\text{k}/\text{J}^2$) is constant related to adsorption energy and ϵ is Polanyi potential.

Polanyi adsorption potential can be defined as follows;

$$\epsilon = RT \ln(1 + 1/C_e) \quad (8)$$

R , shows universal gas constant ($\text{kJ K}^{-1} \text{mol}^{-1}$) and T' : temperature (K).

The average free energy (E) of adsorption is free energy, which changes with the transfer of each mole adsorbate to the surface and is calculated using the following formula;

$$E = (-2K')^{-0.5} \quad (9)$$

The size of the E value can be used to estimate the type of adsorption process [41]. All isotherm model parameters are given in Table 2.

Table 2. Adsorption isotherm parameters

Model	Model Parameters	R ²
Langmuir	$V_m=7.61$; $k=0.38$ $R_L = 0.50$	0.97
Freundlich	$K_F=2.51$; $n=2.82$	0.82
Temkin	$A=5.632$; $B=1.4337$ $K' = -0.3422$	0.84
Dubinin-Radushkevich	$V_m' = 5.75$ $E = 1.21$	0.85

It was shown that the best fitting of the experimental data for isotherm models achieved by the Langmuir isotherm. This is thought to be due to homogeneous distribution of active parts on the adsorbent surface. In this study, the maximum adsorption capacity on the WSAC was obtained 7.61 mg/g based on the Langmuir isotherm model. The sizeless constant separation factor (R_L) value is calculated as 0.50, and the fact that this value is between 0 and 1 indicates that adsorption is appropriate.

Kinetics of Adsorption

At this stage of the study, batch adsorption experiments were applied for different initial concentrations (10, 20 ve 30 mg/L) under the optimum conditions determined (pH 6.5, 0.5 g adsorbent, 150 rpm and at 25°C). Phosphate removal against time is seen in Figure 7 and adsorption capacity values are seen in Figure 8. The amount of phosphate adsorbed increases as the initial solution concentration increases. This increase is since the executive force of mass transfer becomes dominant with the increase of initial concentrations [42]. Low adsorption capacities also indicate that the active regions on the adsorbent surface do not reach fullness for low initial concentrations [43].

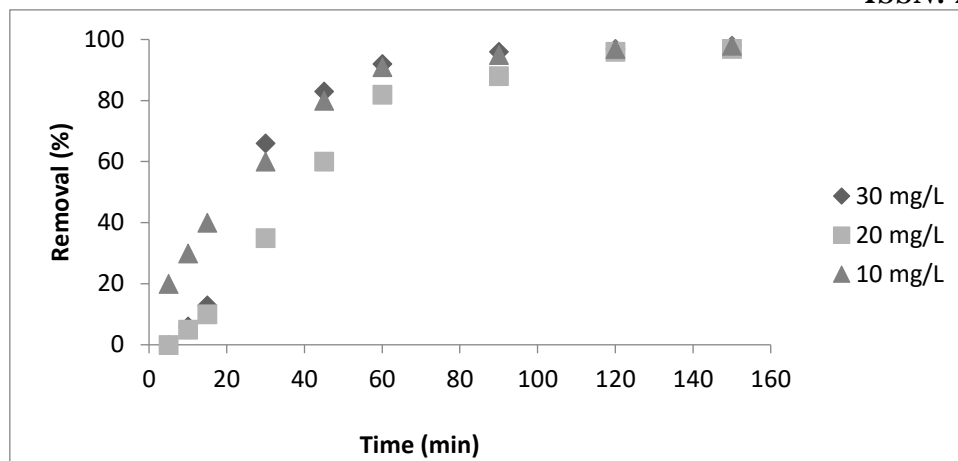


Figure 7. Relationship between contact time and initial concentration and phosphorus removal (pH 6.5, 0.5 g/100 mL, 25°C, 150 rpm)

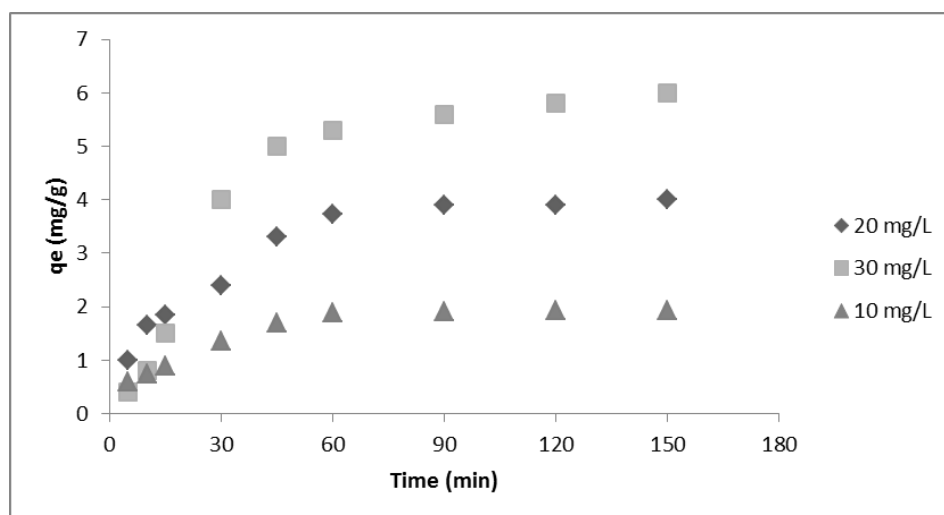


Figure 8. Effect of different initial concentration on adsorption capacity (pH 6.5, 0.5 g/100 mL, 25°C, 150 rpm)

Pseudo-First-Order Reaction Kinetic

The pseudo first order speed equality developed by Lagergren is as follows [44];

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (10)$$

where q_e (mg/g) and q_t (mg/g) are the amounts of adsorbate on the sorbents at equilibrium and time t , respectively. k_1 (min^{-1}) is the pseudo-first order rate constant of adsorption.

Pseudo-Second-Order Reaction Kinetic

The Pseudo second order kinetic model based on adsorption equilibrium capacity is as follows.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (11)$$

k_2 (g/mg.dk) is the rate constant of pseudo-second-order adsorption.

Kinetic models were applied to the values given in Figure 9.

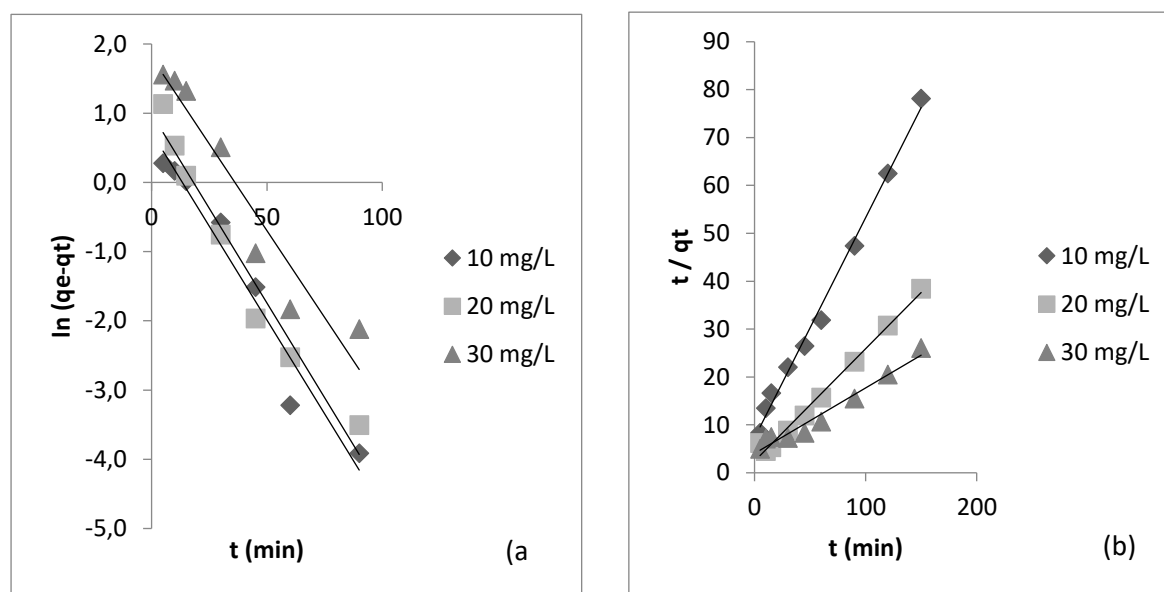


Figure 9. The kinetics models for adsorption of phosphate on the WSAC; (a) pseudo- first order model; (b) pseudo- second order model

The results of kinetics data analysis were given in Table 3.

The values obtained from experimental data ($q_{e,exp}$) and theoretically ($q_{e,cal}$) found are closer to each other in the pseudo-second-order kinetic model. According to these results, it can be said that phosphate adsorption with activated carbon obtained by $ZnCl_2$ activation of walnut shell was a second order adsorption process.

Table 3. Kinetic model constants of phosphate adsorption

C_0 (mg/L)	pseudo first order kinetic model				pseudo second order kinetic model			
	$q_{e,exp}$	$q_{e,cal}$	k_1	R^2	$q_{e,exp}$	$q_{e,cal}$	k_1	R^2
10	1.92	2.60	0.054	0.95	1.92	2.16	0.029	0.99
20	3.90	2.70	0.055	0.96	3.90	4.15	0.023	0.99
30	5.92	8.51	0.066	0.97	5.92	6.20	0.005	0.98

As a result of adsorption experiments carried out with different initial concentrations, adsorbent was filtered out of the solution and the pollutants in the structure of activated carbon was examined with SEM images. SEM images of activated carbons after adsorption are given in Figure 10. From the figure, it was observed that pollutants are holding onto the pores.

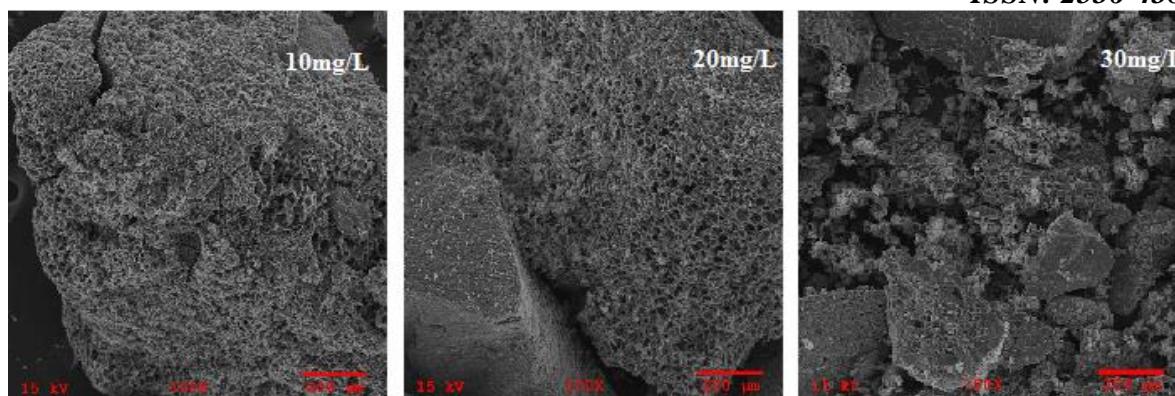


Figure 10. SEM images of activated carbons after adsorption

Thermodynamics of Adsorption

To learn about the thermodynamics of the system, the thermodynamic parameters of enthalpy (ΔH^0), entropy (ΔS^0) and Gibbs free energy (ΔG^0) were calculated according to the following equations [32].

$$K_c = \frac{c_s}{c_e} \quad (12)$$

$$\ln K_c = \frac{\Delta S^0}{R} - \frac{\Delta H^0}{RT} \quad (13)$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_c \quad (14)$$

Studies were carried out at temperatures of 298, 308 and 318 K with an initial concentration of 20 mg/L, under optimum conditions (pH 6.5; 0.5 g adsorbent amount, 150 rpm mixing speed and 150 min contact time). The measurement results were evaluated based on Gibbs free energy exchange principle.

Table 4. Thermodynamic parameters of phosphate adsorption

T(K)	K_c	ΔG^0 (kJ/mol)	ΔH^0 (kJ/mol)	ΔS^0 (J/mol K)
298	1.56	-1.11	1.56	0.00898
308	2.75	-2.59	1.68	0.01389
318	3.23	-3.10	1.75	0.01526

According to Table 4; negative ΔG^0 values indicate that adsorption of phosphate on activated carbon is a spontaneous type of adsorption and occurs without any external energy [45]; [46]. The positive entropy values (ΔS^0) indicate that irregularity increases on the solution-adsorbent interface during the adsorption process and shows the strong interest of carbons in phosphate molecules [47];[48]. The fact that the standard enthalpy change value (ΔH^0) is positive indicates that adsorption is endothermic [46]. The results of the study were compared with the literature based on the adsorbent used and/or the pollutant removed (Table 5).

Table 5. Comparison of study results with literature

Adsorbent Type	Pollutant	Experimental Conditions	Removal	References
Alunite	Phosphate	C ₀ =5 mg/L C ₀ =200 mg/L	93% 53%	[8]
Calcium and magnesium-modified iron-based adsorbent	Phosphate	Fe/CaCO ₃ -PVA 1:1 Fe/CaCl ₂ -PVA 1:1	98.5% 93%	[49]
Al-intercalated acid activated bentonite	Phosphate	Al-ABn Al-ABn-AB	96.4% 93%	[50]
Rice husk and fruit juice residue	Phosphate	pH 6.0, 3g/L adsorbent	95.85%	[51]
Modifying walnut shell	Anionic dye	t=180 min, 0.5 g/L adsorbent	99.6%	[52]
Walnut Shell	Phosphate	C ₀ =20 mg/L, t=120 min	96%	This study

Conclusion

In this study, activated carbon was obtained from walnut shell by chemical activation and then used for phosphate adsorption. The physical and chemical properties of the produced activated carbon were investigated. The iodine number, moisture and ash contents were determined as 449 mg/g, 1.81% and 1.03%, respectively. The optimum conditions of process were initial solution pH of 6.5, 0.5 g adsorbent amount, 150 rpm agitation speed, 120 min reaction time and 25°C temperature. The maximum adsorbent capacity was obtained as 7.61 mg/g. The suitability of the data was examined with respect to the adsorption isotherms of Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin-Radushkevich. According to the results, the data was suitable for the Langmuir isotherm model with R-squared of 0.97. The second order kinetic model was evaluated as suitable for WSAC in the kinetic studies conducted with different initial concentrations. According to the thermodynamic studies, the adsorption of phosphate on the WSAC was spontaneous, endothermic in nature and also the randomness at solid /liquid interface increased with increasing temperature. This study is a good practice for the evaluation of walnut shells, which is a large amount of agricultural waste in Turkey. Synthesized activated carbon is environmentally friendly. As a result, it may be concluded that the activated carbon obtained from walnut shell can be an effective adsorbent for phosphate removal.

Acknowledgments -

Funding/Financial Disclosure The authors have no received any financial support for the research, authorship, or publication of this study.

Ethics Committee Approval and Permissions -

Conflict of Interests The authors stated that there are no conflict of interest in this article.

Authors Contribution Authors contributed equally to the study.

References

- [1] Vikrant, K., Kim, K., Ok, Y. S., Tsang, D. C. W., Tsang, Y. F., Giri, B. S., & Singh, R. S. (2018). Engineered/designer biochar for the removal of phosphate in water and wastewater. *Science of the Total Environment*, 616–617, 1242–1260. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.193>
- [2] Jiang, J., Kim, D. I., Dorji, P., Phuntsho, S., Hong S., & Shon, H. K. (2019). Phosphorus removal mechanisms from domestic wastewater by membrane capacitive deionization and system optimization for enhanced phosphate removal. *Process Safety and Environmental Protection*, 126, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.04.005>
- [3] Zelmanov, G., & Semiat, R. (2014). Phosphate removal from aqueous solution by an adsorption ultrafiltration system. *Separation and Purification Technology*, 132, 487-495. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.06.008>
- [4] Delaney, P., McManamon, C., Hanrahan, J. P., Copley, M. P., Holmes, J. D., & Morris, M. A. (2011). Development of chemically engineered porous metal oxides for phosphate removal. *Journal of Hazardous Materials*, 185(1), 382-391. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.08.128>
- [5] Mulkerrins, D., Dobson, A. D. W., & Colleran, E. (2004). Parameters affecting biological phosphate removal from wastewaters. *Environment International*, 30(2), 249-259. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00177-6](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00177-6)
- [6] Clark, T., Stephenson, T., & Pearce, P. A. (1997). Phosphorus removal by chemical precipitation in a biological aerated filter. *Water Research*, 31(10), 2557-2563. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00091-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00091-2)
- [7] Xing, B., Chen, T., Liu, H., Qing, C., Xie, J., & Xie, Q. (2017). Removal of phosphate from aqueous solution by activated siderite ore: Preparation, performance and mechanism. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 80, 875-882. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.07.016>
- [8] Özacar, M. (2003). Adsorption of phosphate from aqueous solution onto alunite. *Chemosphere*, 51(4), 321–327. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00847-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00847-0)
- [9] Huang, X., Liao, X., & Shi, B. (2009). Adsorption removal of phosphate in industrial wastewater by using metal-loaded skin split waste. *Journal of Hazardous Materials*, 166(2-3), 1261–1265. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.12.045>
- [10] Fan, C., & Zhang, Y. (2018). Adsorption isotherms, kinetics and thermodynamics of nitrate and phosphate in binary systems on a novel adsorbent derived from corn stalks. *Journal of Geochemical Exploration*, 188, 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2018.01.020>
- [11] Namasivayam, C., & Sangeetha, D. (2004). Equilibrium and kinetic studies of adsorption of phosphate onto ZnCl₂ activated coir pith carbon. *Journal of Colloid and Interface Science*, 280(2), 359–365. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.08.015>
- [12] Alslaibi, T. M., Abustan, I., Ahmad, M. A., & Foul, A. A. (2013). A review: Production of activated carbon from agricultural byproducts via conventional and microwave heating. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 88(7), 1183–1190. <https://doi.org/10.1002/jctb.4028>

- [13] Tsai, W. T., Chang, C. Y., & Lee, S. L. (1998). A low cost adsorbent from agricultural waste corn cob by zinc chloride activation. *Bioresource Technology*, 64(3), 211–217. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00168-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00168-5)
- [14] Bansal, R. C., & Goyal, M. (2005). *Activated Carbon Adsorption*. CRC Press Taylor & Francis Group, USA.
- [15] Kim, J. W., Sohn, M. H., Kim, D. S., Sohn, S. M., & Kwon, Y. S. (2001). Production of granular activated carbon from waste walnut shell and its adsorption characteristics for Cu²⁺ ion. *Journal of Hazardous Materials*, 85(3), 301–315. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(01\)00239-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(01)00239-4)
- [16] Yahya, M.A., Al-Qodah, Z., & Ngah, C.W.Z. (2015). Agricultural bio-waste materials as potential sustainable precursors used for activated carbon production: A review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 46, 218–235. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.051>
- [17] Girgis, B. S., Yunis, S. S., & Soliman, A. M. (2002). Characteristics of activated carbon from peanut hulls in relation to conditions of preparation. *Materials Letters*, 57(1), 164–172. [https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(02\)00724-3](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(02)00724-3)
- [18] Dias, J. M., Alvim-Ferraz, M. C. M., Almeida, M. F., Rivera-Utrilla, J., & Sánchez-Polo, M. (2007). Waste materials for activated carbon preparation and its use in aqueous-phase treatment: A review. *Journal of Environmental Management*, 85(4), 833–846. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2007.07.031>
- [19] ASTM D4607-14 and ASTM (2006). Standard Test Method for Determination of Iodine Number of Activated Carbon 1, ASTM International, 94, 1–5.
- [20] *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, (2005). 21st edn, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- [21] Tuna, M. (1996). *The usage of west Karadeniz region hazelnut shells as active carbon*. (Thesis no. 57082) [Master Thesis, Sakarya University].
- [22] Çiçek, İ. (1998). *Production of activated carbon from agricultural wastes*. (Thesis no. 75384) [Master Thesis, Istanbul Technical University].
- [23] Martínez, M. L., Torres, M. M., Guzmán, C. A., & Maestri, D. M. (2006). Preparation and characteristics of activated carbon from olive stones and walnut shells. *Industrial Crops and Products*, 23(1), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.03.001>
- [24] Özçimen, D. (2007) *Evaluation of various vegetable residues by carbonization*. (Thesis no. 223161) [Ph.D. Thesis, Istanbul Technical University].
- [25] Malik, R., Ramteke, D. S., & Wate, S. R. (2007). Adsorption of malachite green on groundnut shell waste based powdered activated carbon. *Waste Management*, 27(9), 1129–1138. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.06.009>
- [26] Döşemen, Y. (2009) *Production of activated carbon from chestnut shell*. (Thesis no. 251540) [Master Thesis, Istanbul Technical University].
- [27] Şen, N. (2009). *Production of activated carbon from hazelnut shells and characterization*. (Thesis no. 246951) [Master Thesis, Fırat University].

- [28] Zabihi, M., Haghghi, Asl A., & Ahmadpour, A. (2010). Studies on adsorption of mercury from aqueous solution on activated carbons prepared from walnut shell. *Journal of Hazardous Materials*, 174(1-3), 251–256. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.09.044>
- [29] Sayın, Z. E., Kumaş, C., & Ergül, B. (2016). Activated carbon production from hazelnut shells. *Afyon Kocatepe University Journal Science and Engineering*, 16, 409–419. <https://doi.org/10.5578/fmbd.28129>
- [30] Guo, Y., & Rockstraw, D. A. (2007). Activated carbons prepared from rice hull by one-step phosphoric acid activation. *Microporous Mesoporous Materials*, 100(1-3), 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2006.10.006>
- [31] Yang, J., & Qiu, K. (2010). Preparation of activated carbons from walnut shells via vacuum chemical activation and their application for methylene blue removal. *Chemical Engineering Journal*, 165(1), 209–217. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.09.019>
- [32] Nazari, G., Abolghasemi, H., & Esmaili, M. (2016). Batch adsorption of cephalexin antibiotic from aqueous solution by walnut shell-based activated carbon. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 58, 357–365. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.06.006>
- [33] Xu, X., Gao, B., Tan, X., Zhang, X., Yue, Q., Wang, Y., & Li, Q. (2013). Nitrate adsorption by stratified wheat straw resin in lab-scale columns. *Chemical Engineering Journal*, 226(1-6), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.04.033>
- [34] Qiao, H., Mei, L., Chen, G., Liu, H., Peng, C., Ke, F., Hou, R., Wan, X., & Cai, H. (2019). Adsorption of nitrate and phosphate from aqueous solution using amine cross-linked tea wastes. *Applied Surface Science*, 483, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.03.147>
- [35] Özacar, M., & Şengil, I. A. (2005). Adsorption of metal complex dyes from aqueous solutions by pine sawdust. *Bioresource Technology*, 96(7), 791–795. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.07.011>
- [36] Arslan, A., & Veli, S. (2012). Zeolite 13 X for adsorption of ammonium ions from aqueous solutions and hen slaughterhouse wastewaters. *Journal of The Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43(3), 393-398. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2011.11.003>
- [37] Tan, I. A. W., Hameed, B. H., & Ahmad, A. L. (2007). Equilibrium and kinetic studies on basic dye adsorption by oil palm fibre activated carbon. *Chemical Engineering Journal*, 127(1-3), 111–119, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2006.09.010>
- [38] Annadurai, G., Ling, L. Y., & Lee, J. F. (2008). Adsorption of reactive dye from an aqueous solution by chitosan: isotherm, kinetic and thermodynamic analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 152(1), 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.002>
- [39] Günay, A., Arslankaya, E., & Tosun, İ. (2007). Lead removal from aqueous solution by naturel and pretreated clinoptilolite: Adsorption equilibrium and kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, 146(1-2), 362-371. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.034>
- [40] Alberti, G., Amendola, V., Pesavento, M., & Biesuz, R. (2012). Beyond the synthesis of novel solid phases: Review on modelling of sorption phenomena. *Coordination Chemistry Reviews*, 256(1-2), 28–45. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.08.022>
- [41] Kilislioglu, A., & Bilgin, B. (2003). Thermodynamic and kinetic investigations of uranium adsorption on amberlite IR-118H resin. *Applied Radiation Isotopes*, 58(2), 155–160. [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(02\)00316-0](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(02)00316-0)

- [42] Tan, I.A.W., Ahmad, A.L., & Hameed, B.H. (2009). Adsorption isotherms, kinetics, thermodynamics and desorption studies of 2, 4, 6-trichlorophenol on oil palm empty fruit bunch-based activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3), 473–482. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.08.025>
- [43] Tomar, V., Prasad, S. & Kumar, D. (2014). Adsorptive removal of fluoride from aqueous media using Citrus limonum (lemon) leaf. *Microchemical Journal*, 112, 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.09.010>
- [44] Alyüz, B., & Veli, S. (2009). Kinetics and equilibrium studies for the removal of nickel and zinc from aqueous solutions by ion exchange resins. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1–3), 482–488. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.006>
- [45] Eren, E., & Afsin, B. (2007). Investigation of a basic dye adsorption from aqueous solution onto raw and pre-treated sepiolite surfaces. *Dyes and Pigments*, 73(2), 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2005.11.004>
- [46] Dahri, M. K., Kooh, M. R. R., & Lim, L. B. L. (2014). Water remediation using low cost adsorbent walnut shell for removal of malachite green: Equilibrium, kinetics, thermodynamic and regeneration studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(3), 1434–1444. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.07.008>
- [47] Hamdaoui, O., Saoudi, F., Chiha, M. & Naffrechoux, E. (2008). Sorption of malachite green by a novel sorbent, dead leaves of plane tree: Equilibrium and kinetic modeling. *Chemical Engineering Journal*, 143(1-3), 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.12.018>
- [48] Alkan, M., Demirbaş, Ö., & Doğan, M. (2007). Adsorption kinetics and thermodynamics of an anionic dye onto Sepiolite, *Microporous and Mesoporous Materials*, 101(3), 388-396. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2006.12.007>
- [49] Han, C., Lalley, J., Iyanna, N., & Nadagouda, N. M. (2017). Removal of phosphate using calcium and magnesium-modified iron-based adsorbents, *Materials Chemistry and Physics*, 198, 115-124. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.05.038>
- [50] Pawar, R., Gupta, P., Lalhmunsiana, Bajaj, H. C., & Lee, S. (2016). Al-intercalated acid activated bentonite beads for the removal of aqueous phosphate, *Science of the Total Environment*, 572, 1222-1230. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.040>
- [51] Yadav, D., Kapur, M., Kumar, P., & Mondal, M.K. (2015). Adsorptive removal of phosphate from aqueous solution using rice husk and fruit juice residue, *Process Safety and Environmental Protection*, 94, 402-409. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.09.005>
- [52] Cao, J., Lin, J., Fang, F., Zhang, M., & Hu, Z. (2014). A new adsorbent by modifying walnut Shell for the removal of anionic dye: Kinetic and thermodynamic studies, *Bioresource Technology*, 163, 199-205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.046>



Doğal ve Asitle Aktive Edilmiş Siirt/Koçpınar Kili Kullanılarak Atık Sulardan Malahit Yeşili Boyar Maddesinin Uzaklaştırılması

Ali Rıza KUL¹ ve Veysel BENEK¹

How to cite: Kul, A. R., & Benek, V. (2022). Doğal ve asitle aktive edilmiş Siirt/Koçpınar kili kullanılarak atık sulardan malahit yeşili boyar maddesinin uzaklaştırılması. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 41-56. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1016061>

Araştırma Makalesi

Sorumlu Yazar
Veysel BENEK
vbenek@yahoo.com

Yazarlara ait ORCID
A.R.K: 0000-0001-9331-775X
V. B: 0000-0002-8523-6922

Received: 28.10.2021
Accepted: 28.02.2022

Öz

Bu çalışmada, genellikle akvaryumculukta, sıklıkla da pamuk ve elyaf gibi ürünlerin boyanmasında kullanılan toksik ve kanserojen bir boyar madde olan malahit yeşilinin atık sulardan Siirt/Koçpınar kili kullanılarak uzaklaştırılması incelenmiştir. Çalışmamızın ilk aşamasında adsorbent herhangi bir modifiyeye maruz bırakılmadan (K1) gerekli çalışmalarda kullanılmış, ardından aynı işlemler nitrik asit ile modifiye edilen adsorbent (K2) ile tekrar edilmiştir. Çalışmada başlangıç pH'nın (2.0 – 8.0 aralığı), adsorbent miktarının (0.05 g - 1 g aralığı), derişimin (50 ppm - 150 ppm aralığı), sıcaklığın (298 K - 323 K aralığı) ve temas süresinin (0 dk. - 120 dk. aralığı) etkinliği de araştırılmış ve elde edilen veriler Langmuir, Freundlich, D-R izoterm modellerine uygulanmıştır. Çalışma sonucunda en iyi verim pH 5 başlangıç değeri ile 0.2 g adsorbent kullanılarak yapılan çalışmalarda elde edilmiş ve çalışma neticesinde de K1 adsorbenti için %63.05, K2 adsorbentin de %91.99 giderim sağlanmıştır. İzoterm hesaplamaları sonucunda Freundlich izoterm modeline ait korelasyon katsayısı tüm sıcaklıklarda 0.98'den büyük bulunmuştur. D-R izoterm modeli yardımıyla hesaplanan D-R adsorpsiyon serbest enerjisi ise her iki kil ve tüm sıcaklıklar için 8 kJ/mol değerinden küçük bulunmuştur. Termodinamik hesaplamalar yardımıyla bulunan Gibbs serbest enerji değerlerinin negatif olması, adsorpsiyon işleminin kendiliğinden meydana geldiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Adsorpsiyon, izoterm, karakterizasyon, malahit yeşili, termodinamik

Removal of Malachite Green Dye from Wastewater Using Natural and Activated Siirt/Koçpınar Clay

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Van, Türkiye

Abstract

In this research, the removal of malachite green, which is a toxic and carcinogenic dyestuff, which is often used in aquaria and in the dyeing of products such as cotton and fiber, from wastewater by using Siirt/Koçpınar clay was investigated. In the first stage of our study, the adsorbent was used without any modification (K1) in the necessary studies, then the same processes were repeated with the nitric acid modified adsorbent (K2). In the study, initial pH (2.0 – 8.0 range), adsorbent amount (0.05 g - 1 g range), concentration (50 ppm - 150 ppm range), temperature (298 K - 323 K range) and contact time (0 min. - 120 min interval) was also investigated and the data obtained were applied to Langmuir, Freundlich, DR isotherm models. As a result of the study, the best efficiency was obtained in the studies using 0.2 g adsorbent with the

Bu çalışma Creative Commons Attribution 4.0 International License ile lisanslanmıştır

initial value of pH 5, and as a result of the study, 63.05% for K1 adsorbent and 91.99% removal for K2 adsorbent were achieved. As a result of isotherm calculations, the correlation coefficient of the Freundlich isotherm model was found to be greater than 0.98 at all temperatures. The D-R adsorption free energy calculated with the help of the D-R isotherm model was found to be less than 8 kJ/mol for both clays and all temperatures. The negative Gibbs free energy values found as a result of thermodynamic calculations showed that the adsorption process occurred spontaneously.

Keywords: Adsorption, isotherm, characterization, malachite green, thermodynamics

Giriş

Canlıların su olmadan yaşamlarını devam ettirmeleri imkânsız olmasına rağmen [1], hayati öneme sahip içme sularının her geçen gün daha fazla kirletilmesi büyük bir problem olarak karşımızda durmaktadır. Bu durum tatlı su kaynaklarının da zamanla azalmasıyla, insanları temiz ve içilebilir su bulma yolunda yeni arayışlara yönlendirmiştir. Arayışlar neticesinde bilim insanları, kirli suların, özellikle endüstriyel atık sularının arıtılmasının iyi bir seçenek olarak değerlendirilebileceğini görmüşlerdir çünkü önceki yüzyılda dünya genelinde kişi başına düşen yıllık su miktarının %5.71'lik kısmını sadece endüstriyel atık suları oluşturmaktaydı [2]. Boyar maddeler; endüstride kumaş, pamuk ya da elyaf gibi malzemeleri renklendirmek amacıyla oldukça sık kullanılan, sentetik veya organik maddelerdir [3]. Dünyada her yıl yaklaşık 7×10^4 ton boyar maddenin üretildiği [4] ve bunun da neredeyse %54'lük kısmının tekstil endüstrisinde kullanıldığı tahmin edilmektedir [5]. Bu miktarın da %15-20'lik gibi önemli bir kısmı atık sulara aktarılmaktadır [4]. Katyonik boyar madde grubunda yer alan malahit yeşili (MY), endüstride boyama işlemlerinde oldukça fazla kullanılmakla [6] beraber balıklarda fungusit olarak da tercih edilmektedir. Fakat bu boyar maddenin, mikroorganizmalar tarafından zor parçalanıyor olması, sucul ve karasal canlılar için toksik özellik göstermesi [7], bazı çalışmalarda kanserojen etki göstermesi [8] nedeniyle atık sulardan uzaklaştırılması elzemdir. Uzaklaştırılma işlemlerinde birçok yöntem kullanılmakla beraber bilim insanları maliyet açısından diğer yöntemlere göre daha fazla avantaj sağlayan adsorpsiyonu [9] tercih etmektedirler. Adsorpsiyon; pomza [10], sediment [11], aktif karbon [12], kil [13] gibi gözenekli yapıların, çözeltildeki kirleticileri uzaklaştırmak amacıyla kullanılan etkili bir yöntemdir. Bu çalışmamızda adsorbent olarak Siirt iline bağlı Koçpınar köyünden temin edilen kil kullanılmıştır. MY'nin uzaklaştırılması amacıyla öncelikle orijinal kil (K1, modifikasyona tabi tutulmamış) üzerinde çalışılmış, ardından aynı işlemler HNO_3 ile aktive edilen (K2, modifikasyona tabi tutulmuş) kil kullanılarak tekrar edilmiştir. İşlem boyunca diğer parametreler sabit tutularak; pH, adsorbent miktarı, temas süresi ve derişimin adsorpsiyon prosesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Deneysel Çalışma

Kimyasallar

Çalışmada kullanılan malahit yeşili (C₅₂H₅₄N₄O₁₂) boyar maddesi, hidroklorik asit (HCl), sodyum hidroksit (NaOH), nitrik asit (HNO₃) Sigma – Aldrich firmasından temin edildi. Kullanılan kimyasallar ve sorbentler analitik saflıkta olduğundan deneysel çalışmalarda saflaştırılmadan kullanılmıştır.

Karakterizasyonda Kullanılan Cihazlar

K1 ve K2 adsorbentlerinin fizikokimyasal özellikleri, literatürde [14] bildirilen yöntemler kullanılarak belirlendi. K1 ve K2 adsorbentlerinin yapısındaki fonksiyonel grupların tayin edilmesi amacıyla fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi (500 – 4500 cm⁻¹ aralığı) kullanıldı. Yüzeylerin morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM, Zeiss) cihazı ile belirlendi. Yüzey alanı ölçümü, Brunauer–Emmett–Teller (BET, Nova 2200e Quantachrome Instruments) cihazında gerçekleştirildi. Çözeltide kalan maddenin derişimi UV-Vis. spektrofotometresi (Pg instruments, T80+ için λ_{max}=617 nm'lik) kullanılarak belirlendi. Santrifüj işlemlerinde Nüve Nf 200 marka cihaz kullanıldı.

Deneylerde Kullanılan Cihazlar

pH metre (Selecta, pH-2005 pH meter), ısıtmalı su banyosu (Julabo, Model ED), manyetik karıştırıcı (Thermo Scientific, Telesystem 15.07 with Telemodul 15).

Doğal Adsorban ve Özellikleri

Adsorpsiyon işlemlerinde kullanılan doğal kil, Siirt iline bağlı Koçpınar köyünün 3 km doğusunda yüzeyden yaklaşık 10 cm altından (adsorbentın kontaminasyonunu bertaraf etmek adına) alınmış ve bileşimlerinin belirlenmesi amacıyla X-Işını Fraksiyonu (XRF) analizi yapılmıştır. XRF verileri incelendiğinde adsorpsiyon işleminde kullandığımız doğal adsorbentın saf olmadığı farklı kil mineralleri içerdiği görülmüştür. XRF analizi sonucunda doğal adsorbentini meydana getiren mineraller; kalsit, dolomit, kuvars, plajiyoklas, mika minerali, illit, kolorit, koalinit, paligorskit olduğu görülmüştür. XRF analizi sonucu Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Doğal Siirt/Koçpınar adsorbentinin XRF analizi (Bileşenlerin % değerleri)

A.Za	Al ₂ O ₃	CaO	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	MgO	MnO	Na ₂ O	P ₂ O ₅	SiO ₂	TiO ₂
27.00	6.3	31.7	3.7	1.2	4.9	0.1	0.2	0.1	24.0	0.6

K1 Adsorbentinin Hazırlanması

Doğal kilden 10 g, öncelikle safsızlıkların giderilmesi için 1.7 L distile su ile 12 saat 150 rpm çalkalama hızında yıkandı. Ardından sıvı ve katı faz birbirinden ayrılınca kadar oda sıcaklığında bekletildi. Katı ve sıvı faz birbirinden ayrıldıktan sonra süzülen kil, bir hafta boyunca oda sıcaklığında kurumaya

bırakıldı. Kurutma işleminden sonra numuneler desikatörde, kullanıma hazırlanmak amacıyla saklandı [15].

K2 Adsorbentinin Hazırlanması

Asit ile aktivasyon işlemi, geri soğutucuya bırakılan 50 g K1 adsorbenti üzerine 5 N ve 250 mL HNO₃ konulmak suretiyle 105 °C sıcaklıkta 3 saat süre boyunca kaynatılarak yapılmıştır. Aktivasyondan sonra kil, distile su ile son pH değeri yaklaşık 6.80 oluncaya kadar yıkanmıştır. 20 defa tekrar edilen yıkama işleminden sonra kilde asit kalmadığı anlaşılmış ve kurutma işlemine geçilmiştir. Kurutma işlemi, 60 °C'de 48 saat süreyle yapılmıştır. Topaklanmanın giderilmesi için havanda dövülen kil, 235 mesh elekten geçirilmiştir [16].

DeneySEL Çalışmalarının Yapılması

Adsorpsiyon çalışmasında, MY boyar maddesinin ortamdaki uzaklaştırılması için çeşitli parametrelerin (pH, derişim, sıcaklık, adsorbent miktarı ve temas süresi) etkinliği incelenmiştir.

Temas Süresinin Adsorpsiyona Etkisinin Belirlenmesi

Denge süresinin hesaplanması, izoterm ve termodinamik hesaplamaların yapılması için oldukça büyük bir önem arz etmektedir. Bu amaçla 100 ppm derişim ve 250 mL hacimlerde iki adet MY çözeltisi hazırlanarak su banyosuna bırakılmıştır. Çözeltiler sabit çalkalama hızında (400 rpm) denge sıcaklığına (30 °C) ulaşıncaya kadar bekletilmiştir. Sıcaklık dengeye ulaştıktan sonra çözeltilerden birine 0.5 g K1, diğerine ise 0.5 g K2 adsorbenti ilave edilmiştir. İlave işleminden sonra karıştırma süresi boyunca çözeltiden 0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 25, 35, 45, 60, 75, 90, 120. dakikalarda 1.5 mL numune alınarak 2000 rpm'de 3 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Ardından bu numuneler UV-Vis. spektrofotometre cihazında 617 nm dalga boyunda okunmuştur.

Adsorbent Miktarının Adsorpsiyona Etkisinin Belirlenmesi

Adsorbent miktarının adsorpsiyona etkisini gözlemleyebilmek amacıyla; 0.05 g, 0.1 g, 0.2 g, 0.4 g, 0.6 g, 0.8 g ve 1 g kütleli yedi adet numune tartılmıştır. Ardından 100 ppm derişim ve 100 mL hacimlerde hazırlanan yedi ayrı çözelti, sabit çalkalama hızında (400 rpm) denge sıcaklığına (30 °C) ulaşıncaya kadar bekletilmiştir. Sıcaklık dengeye ulaştıktan sonra her bir çözeltiye tartılan killer bırakılarak denge zamanında çözeltilerden 1.5 mL'lik numuneler alınmıştır. Bu numuneler daha sonra 2000 rpm'de 3 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında numuneler UV-Vis. spektrofotometre cihazında 617 nm dalga boyunda okunmuştur. Böylece çözeltide kalan derişim (C_e) hesaplanmıştır.

Başlangıç pH'ının Adsorpsiyona Etkisinin Belirlenmesi

pH'ın adsorpsiyon üzerindeki etkisini araştırmak için, başlangıç pH değerleri 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 olacak şekilde 100 ppm derişim ve 100 mL hacminde yedi ayrı çözelti hazırlanmıştır. Her bir çözelti için 0.2 g

kilin kullanıldığı çalışma sırasında çözeltiler sabit sıcaklık (30 °C) ve çalkalama hızı (400 rpm) altında denge süresine (60 dk.) kadar bekletilmiştir. Belirlenen süre sonunda her bir çözeltiden 1.5 mL'lik numuneler alınarak 2000 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Son olarak bu numuneler UV-Vis. spektrofotometre cihazında 617 nm dalga boyunda okunarak çözeltide kalan derişim (C_e) hesaplanmıştır.

Derişim ve Sıcaklığın Adsorpsiyona Etkisinin Belirlenmesi

Derişimin, K1 ve K2 adsorbentleri üzerindeki etkinliğini belirlemek için 100 mL hacimlerde ve 50 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm ve 150 ppm derişimlerde beş adet çözelti hazırlanmıştır. Çözeltiler öncelikle 298 K sıcaklıkta, sabit karıştırma hızı (400 rpm) ve dozda (0.2 g) denge süresine (60 dk.) kadar bekletilmiştir. Çözeltinin dengeye ulaştığı sırada ortamdan 1.5 mL'lik numune alınarak 2000 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüj edilmiş ardından santrifüj edilen numuneler UV-Vis. spektrofotometre cihazında 617 nm dalga boyunda okunmuştur böylece çözeltide kalan derişim (C_e) hesaplanmıştır. Aynı işlemler 303 K, 313 K ve 323 K sıcaklıkları için de tekrar edilmiştir. Çalışma sonunda yüzde adsorplanan miktar, denge anında birim yüzeyde tutunan madde miktarı (q_e) ve birim zamanda birim yüzeyde tutunan madde miktarı (q_t) aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır [11], [17].

$$\% \text{ ads.} = \frac{(C_i - C_e) * 100}{C_i} \quad (1)$$

$$q_e = \frac{(C_i - C_e) * V}{m} \quad (2)$$

$$q_t = \frac{(C_i - C_t) * V}{m} \quad (3)$$

Burada; C_i : başlangıç boyar madde derişimini (ppm), C_e : adsorpsiyon işlemi sonrasında çözeltide kalan boyar madde derişimini (ppm), V : çözeltinin hacmini (L), m : adsorbentın kütlesini (g) ifade etmektedir.

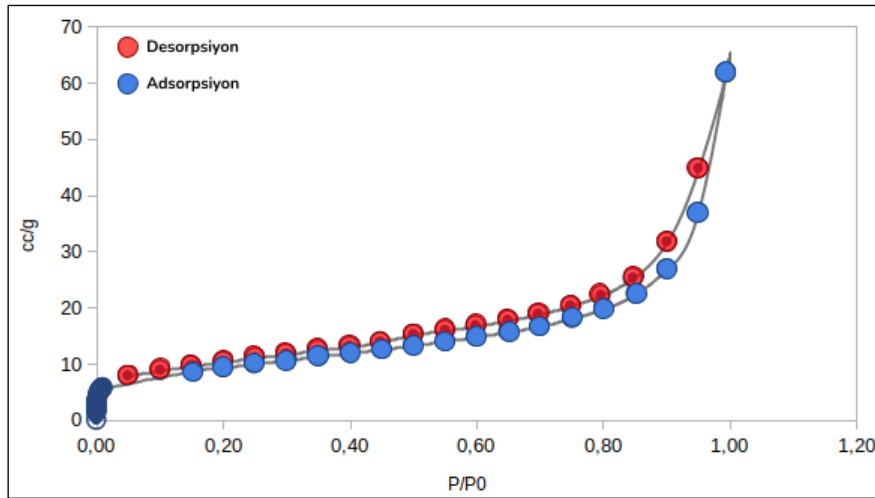
Bulgular ve Tartışma

K1 ve K2 Killerinin Karakterizasyonu

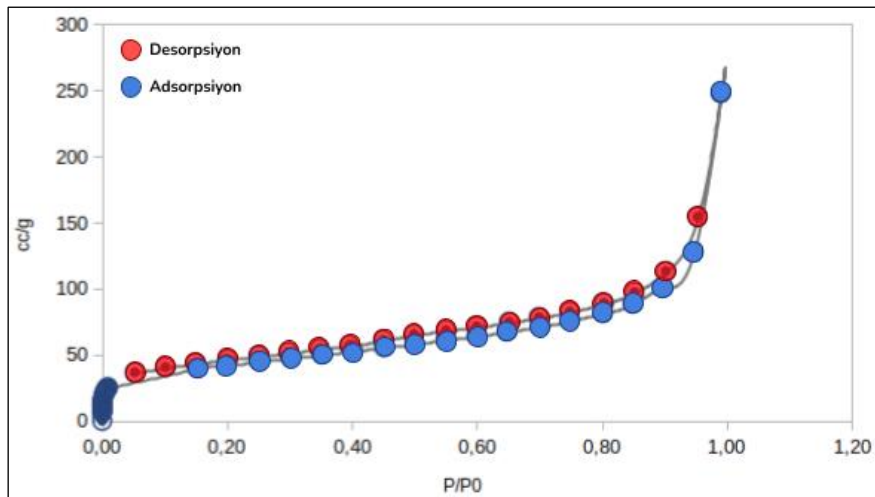
BET Analizi

K1 ve K2 kilerinin yüzey alanları azot gazı (N_2) ortamında BET yöntemi ile belirlenmiş, hesaplama sonucunda, K1 için spesifik yüzey alanı 33.026 m²/g olarak bulunmuştur. Bu değer K2 adsorbenti için ise 147.957 m²/g olarak hesaplanmıştır. Bu artış, asit aktivasyonu sonucunda kilin yapısında bulunan karbonat gruplarının karbondioksit olarak uzaklaşmasının ardından meydana gelen yeni gözeneklerden kaynaklanmaktadır. Şekil 1 ve Şekil 2'de verilen adsorpsiyon ve desorpsiyon grafiklerine baktığımızda ise adsorbent izotermelerinin tip 3 izoterm tipine uyduğu görmekteyiz ayrıca killerin gözenek hacimleri hakkında bilgilerin verildiği Tablo 2 yardımıyla mikro gözenek hacmi ve mikro gözenek alanının yaklaşık olarak 7, dış yüzey alanının ise yaklaşık 4 kattan fazla arttığı ifade edilebilir. Bununla beraber toplam gözenek hacminde artışın meydana geldiği hesaplama neticesinde ortalama gözenek çapının ise

azaldığı görülmüştür. Killerin ortalama gözenek çaplarının 20 Å'dan büyük olmaları ise bizlere adsorbentlerin mezo gözenek yapıları olduğunu göstermiştir.



Şekil 1. K1 adsorbentinin adsorpsiyon ve desorpsiyon izoterm grafiği



Şekil 2. K2 adsorbentinin adsorpsiyon ve desorpsiyon izoterm grafiği

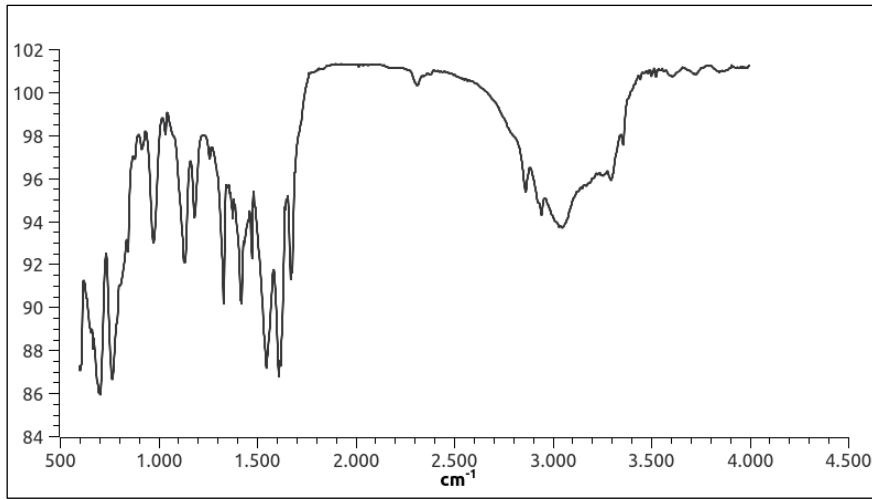
Tablo 2. K1 ve K2 adsorbentlerine ait BET analizleri

	K1	K2
Mikro gözenek hacmi (cc/g)	0.002	0.014
Mikro gözenek alanı (m ² /g)	4.275	29.637
Dış yüzey alanı (m ² /g)	28.751	118.321
Toplam gözenek hacmi (cc/g)	9.575e-02	3.844e-01
Ortalama gözenek yarıçapı (Å)	5.7980e+01	5.1960e+01

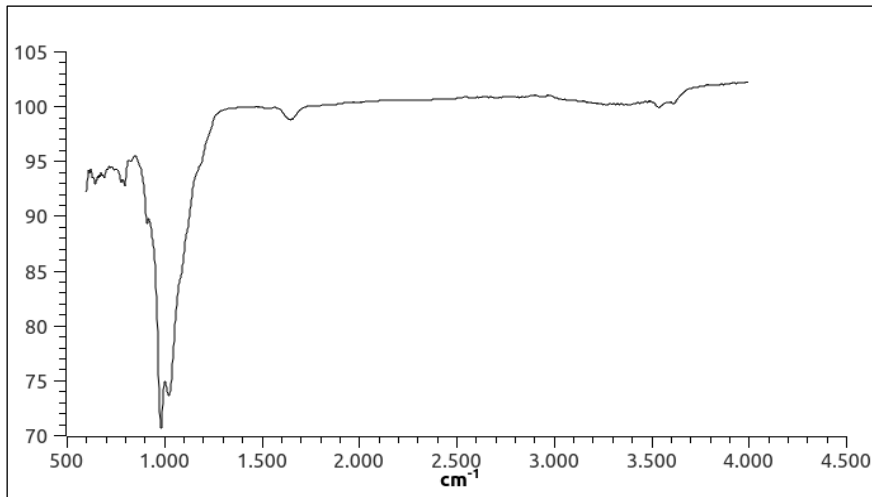
FTIR Analizi

K1 ve K2 adsorbentlerine ait FTIR grafiklerinin verildiği Şekil 3 ve Şekil 4'e baktığımız zaman 3026 cm⁻¹'deki pikin geniş ve yayvan olması onun karakteristik OH grubuna ait olduğunu gösterir. CO₂'ye ait

atmosferik pikse 2307 cm^{-1} 'de görülmektedir. Kil içinde adsorbe edilen su moleküllerine ait pikse 1611 cm^{-1} 'dedir. Kalsit titreşimine ait pik 1416 cm^{-1} 'de görülürken, Si-O'ya ait pikse 1128 cm^{-1} bandında görülmüştür. Al-OH-Al, 970 cm^{-1} bölgesinde deformasyon titreşimini gösterdi. 760 cm^{-1} ve 696 cm^{-1} 'de sırasıyla farklı Si-O ve Si-O-Al titreşimlerine sahip kuvars tepe noktaları tespit edildi. Ayrıca adsorbent yapısında bulunan kuaterner amonyum tuzunun organik zincirinden CH_2 gruplarının sırasıyla simetrik ve asimetrik uzamasına karşılık gelen 2940 ve 2857 cm^{-1} bölgelerinde bantlar gözlemlendi. K1 malzemesinin FTIR spektrumunda kalsit titreşimlerine ait pikler K2 spektrumunda kaybolmuştur. Bunun sebebi K1 malzemesinin HNO_3 ile muamelesi sonucunda malzemedeki karbonatların parçalanıp CO_2 olarak ayrılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca elde edilen bulgular karşılaştırıldığında K1 kilinin K2 kiline nazaran daha nemli olduğu anlaşılmaktadır. Elde edilen pikler literatüre uygundur [18], [19].



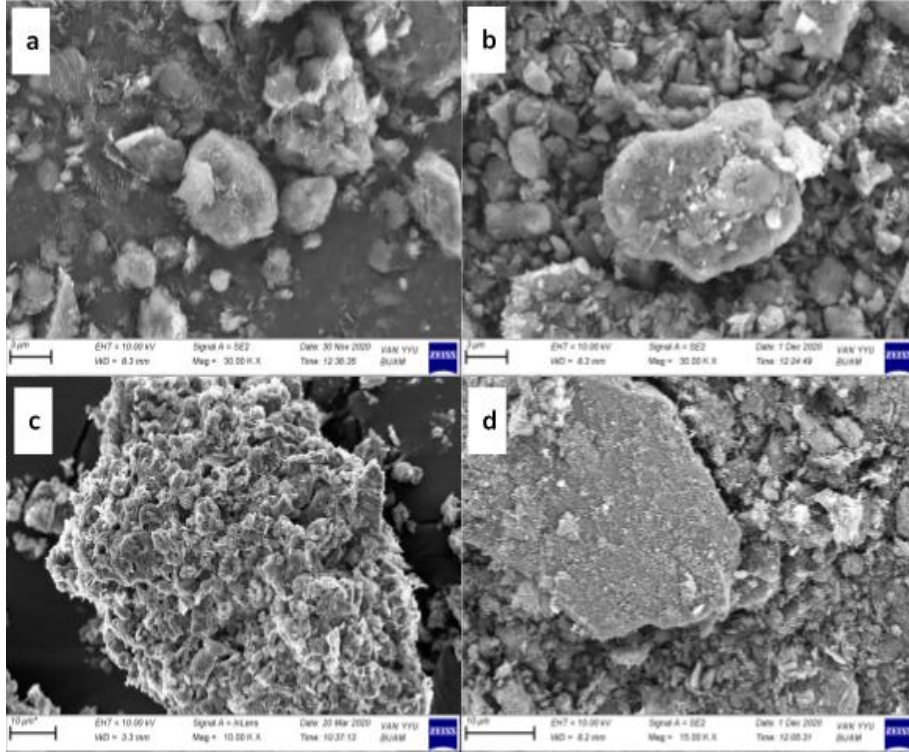
Şekil 3. K1 adsorbentine ait FTIR grafiği



Şekil 4. K2 adsorbentine ait FTIR grafiği

SEM Analizi

K1 ve K2 killerinin adsorpsiyon öncesi ve sonrasına ait SEM görüntüleri Şekil 5'de verilmiştir.



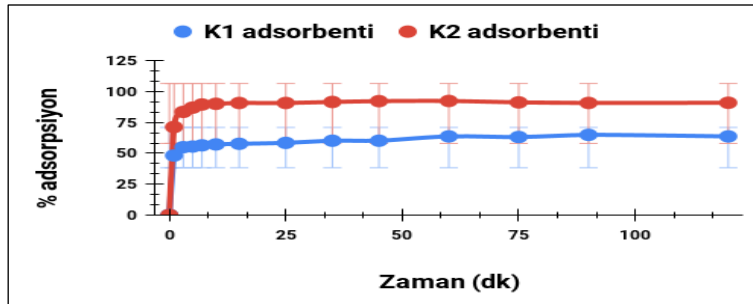
Şekil 5. K1 ve K2 killerine ait SEM görüntüsü (a. K1 adsorbenti, b. MY ile muamele edilmiş K1 adsorbenti, c. K2 adsorbenti, d. MY ile muamele edilmiş K2 adsorbenti)

Adsorpsiyon öncesinde, heterojen bir karakterde olan yüzeyin kısmen küresel gözeneklere, kısmen de silindirik ve kompakt oluşumlara sahip olduğu belirtilebilir. Adsorpsiyon sonrasında ise, gözeneklerin uzaklaştırılan madde ile kaplandığı ve dolayısıyla heterojenliğin kısmen kaybolarak homojen bir yüzey özelliğine doğru değişim gösterdiği ifade edilebilir.

Adsorpsiyon Çalışmaları

Temas Süresinin MY Adsorpsiyonu Üzerindeki Etkisi

K1 ve K2 adsorbentleri için adsorpsiyona temas süresinin (0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 25, 35, 45, 60, 75, 90 ve 120 dk.) etkisi Şekil 6’da gösterilmiştir.



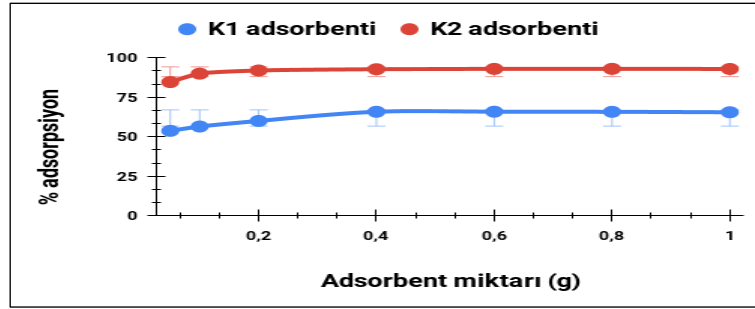
Şekil 6. K1 ve K2 adsorbentleri için adsorpsiyona temas süresinin etkisi (T: 303 K, m: 0.5 g, V: 0.25 L, doğal pH)

Grafiğe bakıldığı zaman K1 adsorbentinin yüzeyine başlangıçta hızlı bir şekilde madde tutunmasının olduğunu fakat zamanla bu hızın azaldığını ve yaklaşık 25. dakikadan sonra ise bu tutunmanın yatay bir

pozisyon seyrettiğini görüyoruz. Aynı durum K2 adsorbenti için de geçerli olmaktadır. Bu yatay izlenim 60. dakikaya kadar hafif bir yükselme göstermesine rağmen bu dakikadan sonra kayda değer bir yükseliş görülmemiştir. Bunun nedeni adsorbentlerin sahip olduğu gözeneklerin zamanla hızlı bir şekilde dolması ve belirli bir süre sonunda doyuma ulaşmasıdır [20].

Adsorbent Miktarının MY Adsorpsiyonu Üzerindeki Etkisi

Adsorbentlerin adsorpsiyonuna adsorbent miktarının etkisini gösteren grafik, Şekil 7’de verilmiştir.

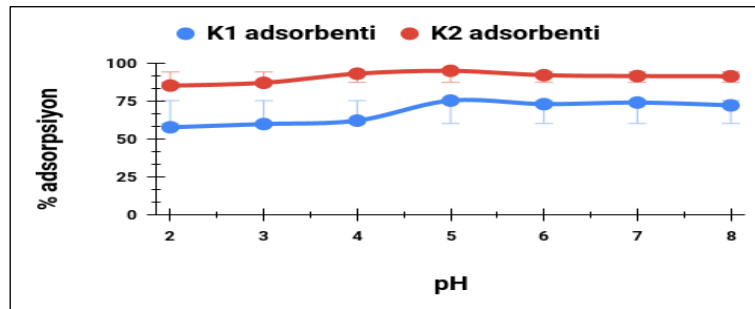


Şekil 7. K1 ve K2 adsorbentleri için adsorpsiyona adsorbent miktarının etkisi ($T: 303\text{ K}$, $V: 0.25\text{ L}$, doğal pH)

Başlangıçta adsorbent miktarının artması, adsorpsiyon miktarının da artmasına neden olmaktadır fakat bu yükseliş sürekli değildir çünkü bir noktadan sonra çözeltildeki adsorbentlerin üst üste yığılmalarından kaynaklanan durum gözeneklerin daha fazla madde almasına engel olmaktadır [21]. Bu durum literatür çalışmaları [21], [22] ile uygunluk göstermektedir.

Başlangıç pH’ının MY Adsorpsiyonu Üzerindeki Etkisi

Şekil 8’de gösterilen başlangıç pH’ının MY boyar maddesinin uzaklaştırılmasındaki etkisine bakıldığında zaman hem K1 hem de K2 adsorbentleri için pH 5’te en yüksek giderimin sağlandığı görülmektedir.



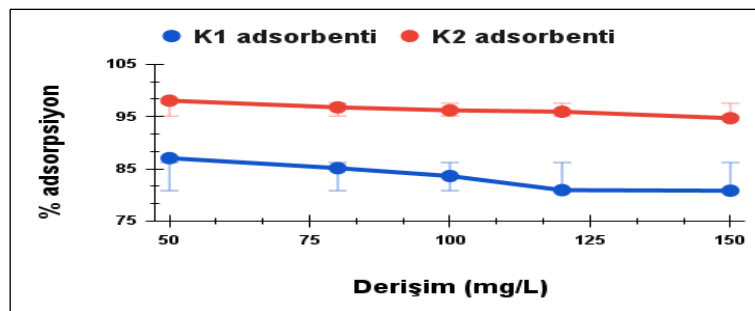
Şekil 8. pH’in MY boyar maddesinin uzaklaştırılması üzerindeki etkisi ($C_i: 100\text{ ppm}$, $m: 0.2\text{ g}$, $V: 0.1\text{ L}$, $T: 303\text{ K}$)

pH 5’ten büyük ortamlarda adsorpsiyonun azalması, muhtemelen ortamda bulunan OH^- iyonunun fazla bulunması ve boyarmaddenin katyonik olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bazik pH ortamlarında OH^- iyon fazlalığı katyonik bir boyarmadde olan MY ile kompleks oluşturup adsorpsiyonu azalttığı gibi daha düşük pH değerlerinde adsorbentin negatif yük bölgeleri azalmasıyla birlikte yüzeydeki pozitif yük bölgelerinin artması katyonik yapıdaki boyar maddenin elektrostatik itme

sonucunda daha az adsorpsiyona uğramasına neden olmuştur. Bu durum pH 5 değerinden daha düşük ve daha yüksek ortamlarda adsorpsiyonun azalmasına neden olduğu söylenebilir [23-25].

Derişimin MY Adsorpsiyonu Üzerindeki Etkisi

Derişimin MY boyar maddesinin adsorpsiyonu üzerindeki etkisini gösteren grafik Şekil 9'da gösterilmiştir. Boyar madde derişimi arttıkça hem K1 hem de K2 adsorbentlerinin MY adsorpsiyon yüzdesi azalmaktadır. Bu durum diğer tüm sıcaklıklar (298 K, 313 K, 323 K) için de aynıdır. Bunun nedeni derişim arttıkça killerin yüzeyinde tutunma kapasitesinin azalması ve verimin buna oranla azalmasıdır. Benzer durum [26-28] çalışmalarında da elde edilmiştir. Bununla beraber K2 adsorbentinin adsorpsiyon yüzdesi tüm derişimler için K1 adsorbentinden daha fazladır.



Şekil 9. K1 ve K2 killerin üzerine MY boyar maddesinin derişim etkisi (pH: 5, m: 0.2 g, V: 0.1 L, T: 303 K)

İzoterm Hesaplamaları

Denge anında adsorbent yüzeyinde tutunan MY derişimi ile çözeltilde kalan MY derişimi arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla veriler, Langmuir, Freundlich ve D-R izoterm modellerine uygulandı. İzoterm hesaplamalarında Tablo 3'de verilen bağıntılar kullanılmıştır. Tabloda; **K_L**: Langmuir sabitini (L/mg), **C_e**: denge anında çözeltilde kalan maddenin derişimini (ppm), **q_m**: Langmuir sabitini (mg/g), **C_e**: denge anında çözeltilde kalan maddenin derişimini (ppm), **R**: İdeal gaz sabitini (8.314 j/mol.K), **T**: sıcaklığı (K), **D**: D-R izoterm sabitini (mol²/kJ²), **ε**: Polanyi potansiyelini, **E**: D-R adsorpsiyon serbest enerjisini (kJ/mol) ifade etmektedir. Tablo 3'te verilen bağıntıları kullanılarak hesaplanan izoterm verileri Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Hesaplama kullanılan izoterm bağıntıları

İzoterm modeli	Lineer bağıntı	Grafik	Sabitler	Eşitlik	Ref.
Langmuir	$\frac{C_e}{q_e} = \left(\frac{1}{K_L q_m}\right) + \left(\frac{C_e}{q_m}\right)$	$\frac{C_e}{q_e}$ vs C_e	K_L : Eğim/Kesme noktası, q_m : (Eğim) ⁻¹	(4)	[17]
Freundlich	$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e$	$\log q_e$ vs $\log C_e$	K_F : exp(Kesme noktası), n : (Eğim) ⁻¹	(5)	[16]
D-R	$\ln q_e = \ln q_m - D \varepsilon^2$ $\varepsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e}\right)$	$\ln q_e$ vs ε^2	D : -Eğim, q_m : exp(Kesme noktası) $E = \frac{1}{\sqrt{2D}}$	(6)	[16]

Tablo 4. K1 ve K2 adsorbentleri üzerine MY boyar maddesi adsorpsiyonu sonucunda hesaplanan izoterm verileri (pH: 5, V: 0.1 L, m: 0.2 g)

		K1 adsorbenti				K2 adsorbenti			
		298 K	303 K	313 K	323 K	298 K	303 K	313 K	323 K
Langmuir	K_L	0.026	0.034	0.060	0.081	0.172	0.268	0.425	0.651
	q_m	130.655	117.166	91.146	85.246	118.893	101.530	95.592	86.934
	R^2	0.948	0.950	0.947	0.945	0.979	0.965	0.990	0.986
Freundlich	n	1.427	1.508	1.820	1.999	1.630	1.938	2.064	2.435
	$1/n$	0.700	0.663	0.550	0.500	0.614	0.516	0.484	0.411
	K^f	5.457	6.409	9.379	11.557	19.914	24.440	29.702	34.308
	R^2	0.995	0.992	0.986	0.987	0.985	0.996	0.996	0.997
D-R	q_m	53.131	53.183	51.545	51.118	63.093	58.570	60.589	59.127
	E	0.234	0.258	0.337	0.426	0.905	1.285	1.577	2.082
	D	9.120	7.467	4.396	2.750	0.609	0.302	0.201	0.115
	R^2	0.894	0.893	0.873	0.845	0.913	0.836	0.879	0.860

K1 ve K2 killeri için adsorpsiyon izoterm hesaplamalarında modelin uygunluğunu gösteren korelasyon katsayısı (R^2), Freundlich izoterm modelinde tüm sıcaklıklarda 0.98'den büyük bulunmuştur. Bu nedenle adsorpsiyon işleminin Freundlich izoterm modeline daha fazla uyduğu söylenebilir. Bu durum bizlere adsorpsiyon işleminde tutunmanın çok tabakalı olduğunu ve bu tutunmanın adsorbent her yerinde aynı olmadığını göstermektedir. Freundlich izoterm sabitleri olan n ve $1/n$ değerlerinin sırasıyla 1-10 ve 0-1 arasında olması çalışmamızın Freundlich izoterm modeline uygunluğunu göstermesi açısından ayrıca önemlidir [29]. Son olarak D-R izoterm modelinde hesaplanan E değerlerinin tüm sıcaklık ve killerde 8 kJ/mol'dan küçük olması adsorpsiyonun fiziksel adsorpsiyon olduğunu göstermiştir [30].

Termodinamik Hesaplamalar

Adsorpsiyon işleminin enerji değişimini gözlemlemek amacıyla termodinamik hesaplamalar da yapılmıştır. Burada ΔG° (kJ/mol), ΔH° (kJ/mol) ve ΔS° (kJ/mol.K) değerlerinin bilinmesi adsorpsiyonun işleyişi hakkında bize fikir verir. ΔG° Gibbs serbest enerji olarak bilinir. Bu değer negatif olması işlemin kendiliğinden meydana geldiğini göstermektedir. Bir sıcaklıktaki ΔG° değerini hesaplamak için K_c değerinin hesaplanması gerekir [31].

$$K_c = \frac{q_e}{C_e} \quad (7)$$

Eşitlik 7 kullanılarak hesaplanan K_c , 8 numaralı bağıntıda yerine yazılarak ΔG° hesaplanabilmektedir.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_c \quad (8)$$

$$\ln K_c = \left[\frac{\Delta S^\circ - \Delta H^\circ}{T} \right] \frac{1}{R} \quad (9)$$

Son olarak eşitlik 9 bağıntısında, $\ln K_c$ değerinin $1/T$ değerine karşı grafiğe geçirilmesiyle (Van't Hoff Eşitliği) oluşan doğrunun eğimi ΔH° 'ı ve kesişim noktası da ΔS° 'yi verecektir.

Eşitlik 7, eşitlik 8 ve eşitlik 9 yardımı ile hesaplanan termodinamik parametreler Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. K1 ve K2 adsorbentleri üzerine MY boyar maddesi adsorpsiyonu için hesaplanan termodinamik parametreler (pH: 5, V: 0.1 L, m: 0.2 g)

Derişim, ppm	T (K)	K1 adsorbenti			K2 adsorbenti		
		ΔG° , KJ/mol	ΔH° , KJ/mol	ΔS° , KJ/mol.K	ΔG° , KJ/mol	ΔH° , KJ/mol	ΔS° , KJ/mol.K
50	298	-2.7190			-6.9465		
	303	-3.0012	21.0717	0.0797	-7.9760	35.1342	0.1419
	313	-3.6882			-8.7881		
	323	-4.3324			-9.8222		
80	298	-2.3888			-6.5793		
	303	-2.6047	14.1117	0.0554	-6.6972	25.0485	0.1058
	313	-3.1010			-7.7567		
	323	-3.4626			-8.3914		
100	298	-2.0547			-5.9313		
	303	-2.3217	7.3793	0.0319	-6.2793	20.5524	0.0890
	313	-2.4374			-7.1637		
	323	-2.6828			-7.4525		
120	298	-1.7771			-5.9933		
	303	-1.8618	5.1458	0.0232	-6.1080	14.7013	0.0693
	313	-1.9374			-6.7567		
	323	-2.2010			-7.0559		
150	298	-1.7328			-5.2641		
	303	-1.8442	4.9870	0.0226	-5.4167	9.9988	0.0513
	313	-1.9162			-5.9140		
	323	-2.1485			-5.9817		

K1 ve K2 killeri üzerine MY boyar maddesi adsorpsiyonu için hesaplanan termodinamik verilere bakıldığında zaman tüm derişimler için ΔG° değerleri negatif olarak bulunmuştur. Bu durum adsorpsiyon işleminin kendiliğinden meydana geldiğini göstermektedir. Bununla beraber ΔH° değerlerinin pozitif

olması prosesin endotermik olduğunu, ΔS° değerlerinin pozitif olması ise düzensizliğin arttığını göstermektedir [32]

Sonuçlar

MY boyar maddesinin K1 ve K2 adsorbentleri üzerindeki etkisi dört farklı sıcaklık (298 K, 303 K, 313 K ve 323 K), beş farklı derişim (50, 80, 100, 120, 150 ppm), 0.1 g - 1 g arasında değişen farklı adsorbent miktarı ve yedi farklı başlangıç pH değerinde (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) araştırılmıştır. MY boyar maddesinin adsorbentler üzerindeki adsorpsiyonu zamanın fonksiyonu olarak değerlendirildiğinde, adsorplanan boyar madde miktarının sabit değere ulaşması için geçen süre denge süresidir ve yapılan deneylerde adsorpsiyonun yaklaşık 60 dakika gibi bir sürede dengeye ulaştığı tespit edilmiştir. K1 ve K2 adsorbentlerinin mikro ve mezo gözenek alanlarının BET yöntemi ile hesaplandığı analizlerde bu değerler K1 adsorbenti için sırasıyla 4.275 m²/g, 28.751 m²/g olarak bulunmuşken, K2 adsorbenti için sırasıyla 29.637 m²/g, 118.321 m²/g olarak bulunmuştur. Adsorbent miktarı ile MY boyar maddesinin adsorpsiyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptığımız çalışma neticesinde 0.2 g K1 adsorbent miktarı ile %63.05 oranında giderim sağlanırken, bu oran aynı miktar K2 adsorbentinde %91.99 olarak hesaplanmıştır. pH çalışması, MY boyar maddesinin uzaklaştırılmasında araştırdığımız diğer bir yöntemdir. İşlem sonucunda hem K2 hem de K2 adsorbentlerinde en iyi giderimin pH 5’de yapılan çalışma neticesinde elde edildiği görülmüştür. Zamanın sabit tutularak, sıcaklık ve derişim arasındaki ilişkiyi anlamamıza yardımcı olan izoterm çalışmaları sonucunda her iki adsorbent için adsorpsiyon işleminin Freundlich izoterm modeli uyduğu görülmüştür. Freundlich izoterm modeline ait hesaplanan n değerlerinin 1-10 arasında olması ve 1/n değerlerinin 0-1 arasında olması istenen durumdur. Çalışmamızın verilerinin istenen değerlere uyum sağlanması adsorpsiyon işlemlerimizin Freundlich modeline uyduğunu gösteren başka bir yöntemdir. Bu durum adsorpsiyon işlemlerimizin heterojen bir yüzeyde meydana geldiğini ve tutunmanın ise çok tabakalı olduğu kabulü ile açıklanmaktadır. Termodinamik verilerin hesaplanması sonucunda hesaplanan tüm ΔG değerlerinin negatif olması ise adsorpsiyonun kendiliğinden meydana geldiğini göstermektedir. Ayrıca bulunan tüm ΔH değerleri pozitifdir. Bu durum çalışmamızın ısı alan (endotermik) olduğunu göstermektedir. ΔS değerlerinin pozitif olması adsorpsiyonun entropisinin arttığını göstermekle beraber boyar madde derişimi arttıkça entropi önceki derişime göre daha az artış göstermektedir.

Teşekkür Bu araştırma makalesi “Bazı Boyar Maddelerin Doğal ve Modifiye Edilmiş Kil Minerali Koçpınar/Siirt Üzerindeki Adsorpsiyonunun İzoterm Kinetik ve Termodinamik Analizi” isimli tez çalışmasından derlenmiştir. YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FDK-2018-7334 No’lu proje olarak desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı ilgili kuruma teşekkür ederiz.

Fon/Finansman bilgileri Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FDK-2018-7334 No’lu proje olarak desteklenmiştir.

Etik Kurul Onayı ve İzinler Çalışma, etik kurul izni ve herhangi bir özel izin gerektirmemektedir.

Çıkar çatışmaları/Çatışan çıkarlar Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazarların Katkısı Tüm yazarlar, bu çalışmanın planlanmasına, yürütülmesine veya analizine yazar olarak dahil edilmek üzere yeterince katkıda bulunmuştur. Tüm yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

Kaynaklar

- [1] Atasoy, N., Mercan Y., Kömüroğlu, A. U., Alacabey, İ., & Kul, A. R. (2011). Levels of heavy metals and certain macro elements in potable and tap water at Van city center. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 39(4), 391–396.
- [2] Kaftan, A. (2010). Entegre et tesislerinde atık suyun yeniden kullanımı. *Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi*, 2(1), 81-88. [https://doi.org/ 10.1501/Csaum_0000000027](https://doi.org/10.1501/Csaum_0000000027)
- [3] Karadağ, R. (2001). Doğal boyamacılıkta kullanılan boyarmadde kaynakları ve mordan maddelerinin boyamaya etkisi. *Öneri Dergisi*, 4(16), 145-150. [https://doi.org/ 10.14783/maruoneri.728223](https://doi.org/10.14783/maruoneri.728223)
- [4] Önal, Y., & Tantekin, T. (2018). Aktif karbon, kil ve zeolit ile Malatya tekstil fabrikalarında kullanılan tekstil boyalarının adsorpsiyonu. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 9(2), 837-847.
- [5] Oyar, B. (2020). *Elektrokoagülasyon Yöntemi Kullanılarak Atık Sulardan Boyarmadde Gideriminin Araştırılması*. (Tez no. 639357) [Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi].
- [6] Belibağlı, P. & Uysal, Y. (2020). Atık yumurta kabuklarından sentezlenen hidroksiapatitler ile sulardan malahit yeşil giderimi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 23(3), 141-152. [https://doi.org/ 10.17780/ksujes.753116](https://doi.org/10.17780/ksujes.753116)
- [7] Tanyol, M. (2017). Malahit yeşili içeren atıksuların fenton oksidasyon prosesi ile renk gideriminde işletme parametrelerinin optimizasyonu. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 29(1), 183-191.
- [8] Srivastava, S., Sinha, R., & Roy, S. (2004). Toxicological effects of malachite green, *Aquatic Toxicology*, 66(3), 319-329.
- [9] Kul, A. R., & Koyuncu, H. (2010). Adsorption of Pb(II) ions from aqueous solution by native and activated bentonite: Kinetic, equilibrium and thermodynamic study. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1), 332-339.
- [10] Elik, H., Kul, A. R., & Benek, V. (2019). Van pomzası üzerinde kurşun iyonunun adsorpsiyon kinetiği. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 35(2), 26-31.
- [11] Alacabey, İ., Kul, A. R., Ece, Ş., & Alkan, H. (2020). Van Gölü doğal sediment ve modifiye sediment üzerine krom (III) adsorpsiyonu (izoterm ve termodinamik analiz çalışması). *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 11(3), 1225-1232. [https://doi.org/ 10.24012/dumf.731216](https://doi.org/10.24012/dumf.731216)
- [12] Depci, T., Alkan, S., Kul, A. R., Önal, Y., Alacabey, İ., & Dişli, E. (2011). Characteristic properties of adsorbed catalase onto activated carbon based adiyaman lignite. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20, 2371-2378.

- [13] Kausar, A., Javed, A., Aftab, K., Nazli, Z., Bhatti, H., & Nouren, S. (2018). Dyes adsorption using clay and modified clay: A review. *Journal of Molecular Liquids*, 256. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.02.034>
- [14] Kul, A., Depci, T., Alacabey, İ., Alkan, S., & Önal, Y. (2011). Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies of nickel adsorption onto natural and modified kaolinites. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20, 1155-1166.
- [15] Alacabey, İ. (2006). *Bazı Ağır metallerin (Kobalt, Krom, Kadmiyum) Doğal ve Aktive Edilmiş Çaldıran Diatomiti (Çaldıran/Van) Üzerindeki Adsorpsiyon Denge Çalışmaları*. (Tez no. 182669) [Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi].
- [16] Alacabey, İ. (2014). *Doğal ve Aktive Edilmiş Van Gölü Sediment (Dip Çamuru) Örneklerinin Bazı Ağır Metallerle Adsorpsiyonunun İzoterm ve Termodinamik Analizi*. (Tez no. 390572) [Doktora Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi].
- [17] Behnamfard, A., & Salarirad, M. M. (2009). Equilibrium and kinetic studies on free cyanide adsorption from aqueous solution by activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 170, 127-133. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.124>
- [18] Ece, M. Ş. (2021). Synthesis and characterization of activated carbon supported magnetic nanoparticles (Fe O₄/AC@SiO₂@Sulfanilamide) and its application in removal of toluene and benzene. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 617, Article 126231. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126231>
- [19] Rezende, J. C. T., Ramos, V. H. S., Oliveira, H., Oliveira, R., & De Jesus, E. (2018). Removal of Cr (VI) from aqueous solutions using clay from calumbi geological formation, N. Sra. Socorro, SE State, Brazil. *Materials Science Forum*, 912, 1-6. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.912.1>
- [20] Caliskan, N., Kul, A. R., Alkan, S., Gökırmak S. E., & Alacabey, İ. (2011). Adsorption of Zinc(II) on diatomite and manganese-oxide-modified diatomite: A kinetic and equilibrium study. *Journal of Hazardous Materials*, 193, 27-36. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.06.058>
- [21] Padmavathy, K. S., Madhu, G., Haseena, P. V. (2016). A study on effects of pH, adsorbent dosage, time, initial concentration and adsorption isotherm study for the removal of hexavalent chromium (Cr (VI)) from wastewater by magnetite nanoparticles. *Procedia Technology*, 24, 585-594. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.05.127>
- [22] Öter, Ç. (2021). Kromun zencefil tozu üzerine adsorpsiyon ile atık sulardan uzaklaştırılması. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9(1), 480-492. <https://doi.org/10.29130/dubited.800876>
- [23] Ceyhan, A., Baytar, O., Güngör, A., Saygınlı, E., & Celal, S. (2013). Formaldehit ile modifiye edilmiş iğde çekirdeği kullanılarak sulu çözeltilerden malahit yeşilinin uzaklaştırılması. *Selçuk Üniversitesi Mühendislik, Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(2), 1-8.
- [24] Çelebi, H. (2020). Doğal kabak çekirdeği kabuğunun bor adsorpsiyon kapasitesi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(4), 1698-1710. <https://doi.org/10.17798/bitlisfen.667331>
- [25] Şenol, Z. M. (2020). Kitosan-vermikülit kompoziti kullanılarak sulu çözeltilerden etkin kurşun giderimi: denge, kinetik ve termodinamik çalışmalar. *Akademik Platform Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 15-21. <https://doi.org/10.21541/apjes.531737>

- [26] Demir, B., & Kalpaklı, Y. (2020). İşlem görmemiş Kütahya Ca-bentonitinin bazik mavi 41 (BB41) adsorpsiyon karakteristiğinin incelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(1), 309-319. <https://doi.org/10.21597/jist.556691>
- [27] Gürkan, E. H., & Çoruh, S. (2017). Atık döküm kumu ile katyonik boyarmaddelerin adsorpsiyon çalışmaları. *Celal Bayar University Journal of Science*, 13(2), 515-521. <https://doi.org/10.18466/cbayarfbe.319947>
- [28] Kopaç, T., & Sulu, E. (2019). Bazik Kırmızı 46 tekstil boyasının Zonguldak kömüründen elde edilen farklı aktif karbonlar üzerinde adsorpsiyon davranışının karşılaştırılması. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 34(3), 1227-1240. <https://doi.org/10.17341/gazimmfd.460518>
- [29] Ekinci, S. & İlter, Z. (2021). Sulu çözeltiden alizarin sarısı boyarmaddesinin nanoadsorbent (MNPs-G1-Mu) vasıtasıyla adsorpsiyon özelliklerinin belirlenmesi. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 11(1), 27-42. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/buyasambid/issue/63446/915311>.
- [30] Kırkan, B., & Bekaroğlu, M. (2019). Modifiye edilmiş pomza kullanılarak sulu ortamlardan adsorpsiyon prosesi ile arsenat (V) giderimi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(2), 356-366. <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.467165>
- [31] Lacin, O., Haghghatnia, A., Demir, F., Sevim, F., & Laçın, O. (2019). Adsorption characteristics and behaviors of natural red clay for removal of BY28 from aqueous solutions. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, 3, 1037-1047. <https://doi.org/10.31142/ijtsrd21544>.
- [32] Çiçekçi, A., Dönmez, B., Kavcı, E., & Laçın, Ö. (2020). Malahit yeşilinin şeftali çekirdeği kabuğu üzerine adsorpsiyon izotermi ve termodinamiği. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5(2), 103-111. <https://doi.org/10.33484/sinopfbd.701059>

**Sülfanilamid İçeren Maleik Asit ile Aminopiridin Türevlerinin Proton Tuzlarının Sentezi ve Karakterizasyonu**Halil İLKİMEN¹ ve Cengiz YENİKAYA¹

How to cite: İlkimen, H., & Yenikaya, C. (2022). Sülfanilamid içeren maleik asit ile aminopiridin türevlerinin proton tuzlarının sentezi ve karakterizasyonu. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 57-70. <https://doi.org/10.33484/sinopfbd.1069649>

Araştırma Makalesi**Sorumlu Yazar**

Halil İLKİMEN

halil.ilkimen@dpu.edu.tr

Yazarlara ait ORCID

H.İ: 0000-0003-1747-159X

C.Y: 0000-0002-5867-9146

Received: 09.02.2022**Accepted:** 22.04.2022**Öz**

Bu çalışmada önce literatürde bulunan yöntemle maleik anhidrit (mal) ile sülfanilamid (sa) tepkimesinden sülfanilamid içeren maleik asit olan (E)-3-(4-sülfamoilfenilkarbamoyl) akrilik asit (1) sentezlenmiştir. Daha sonra 1 ile 2-amino-6-metilpiridin (2), 2-amino-5-metilpiridin (3), 2-amino-4-metilpiridin (4) ve 3-aminopiridin (5) tepkimesinden proton transfer tuzları (6-9) elde edilmiştir. Elde edilen tuzların yapıları, elementel analiz, ¹H ve ¹³C Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ve yük dengeliği ile önerilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre tuzlarda asit:baz oranı 1:1 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, suda çözülebilen ve farklı aktivite özellikleri gösterebilecek kimyasal madde sentezi hedeflenmiştir.

Anahtar Kelimeler: (E)-3-(4-sülfamoilfenilkarbamoyl) akrilik asit, Aminopiridinler, Proton Transfer Tuzu

Synthesis and Characterization of Proton Salts of Sulfanilamide Containing Maleic Acid and Aminopyridine Derivatives

¹Kütahya Dumlupınar
Üniversitesi, Fen-Edebiyat
Fakültesi Kimya Bölümü,
Kütahya, Türkiye

Bu çalışma Creative Commons
Attribution 4.0 International
License ile lisanslanmıştır

Abstract

In this study, maleic acid containing sulfanilamide (E)-3-(4-sulfamoylphenylcarbamoyl) acrylic acid (1) was synthesized from the reaction of maleic anhydride (mal) and sulfanilamide (sa) with the method found in the literature. Then, proton transfer salts (6-9) were obtained. The structures of the obtained salts were suggested by elemental analysis, ¹H and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and charge balance. According to the results of this analysis, the acid:base ratio of salts was found to be 1:1. In this study, it was aimed to synthesize chemical substances that can be dissolved in water and have different activity properties.

Keywords: (E)-3-(4-sulfamoylphenylcarbamoyl) acrylic acid, Aminopyridines, Proton Transfer Salt

Giriş

Proton transfer tepkimeleri, enzim katalizi ve asit-baz tepkimelerinde gözlenir [1]. Proton transfer tuzunun sentezinde asitin protonu, baz tarafından transfer edilerek (+) ve (-) yüklerin bir arada bulunduğu yapılardan elde edilen kompleksler suda çözünebilmektedir [2]. Bu çalışmanın asidik bileşeni olan (E)-3-(4-sülfamoilfenilkarbamoyl) akrilik asit türevleri literatürde sülfoamoyl türevleri ile

maleik anhidritin reaksiyonundan sentezlenmektedir [3-24]. Bu bileşiklerin karbonik anhidraz enzimi inhibisyonu [6, 7, 22], antimalaryal aktivite [18], antibakteriyel aktiviteleri [14, 15, 23] çalışılmıştır. (E)-3-(4-sülfamoilfenilkarbamoil)akrilik asitin Co(II) [24], Fe(II) [25, 26] ve Cu(II) [23] metal kompleksleri, 2-aminopiridin ile benzimidazolün tuzu ve Cu(II) [23], Ni(II) ve Zn(II) [25] kompleksleri sentezlenip yapıları aydınlatılmıştır. Bu çalışmanın bazik bileşeni olan aminopiridin türevleri, antiviral, antiparazitik, antibakteriyel, antikonvülsan, antihistaminik, antifungal, antiinflamatuvar, antidiyabetik, analjezik ve anti-alzheimer gibi bilinen biyolojik aktiviteye sahiptirler [27]. Günümüzde hastalıklara karşı aktivite gözlenen bileşiklerin sentezi insan sağlığı açısından önemlidir. İnsan sağlığı için ölümcül olabilen hastalıkların ortadan kaldırılabilmesi için yeni etkili ve ucuz yollardan elde edilebilen kimyasallara ihtiyaç vardır. Bu çalışmada elde edilen tuzları oluşturan bileşiklerin farklı aktive sahip olduğu bilinmektedir. Elde edilen bileşiklerinde bu aktiviteye sahip olacağı aşıkardır. Bu çalışmada, (E)-3-(4-sülfamoilfenilkarbamoil) akrilik asit (**1**) literatürde bulunan yöntem ile maleik anhidrit (mal) ile sülfanilaminin (sa) tepkimesinden elde edilmiştir [19]. Daha sonra **1** ile aminopiridin türevi {2-amino-6-metilpiridin (**2**), 2-amino-5-metilpiridin (**3**), 2-amino-4-metilpiridin (**4**) ve 3-aminopiridin (**5**)} tepkimesinden proton transfer tuzları (**6-9**) sentezlenmiştir. Amorf halde elde edilen tuzların yapıları elementel analiz, ¹H ve ¹³C NMR, IR ve yük denklığı ile önerilmiştir Bu analiz sonuçlarına göre tuzlarda asit:baz oranı 1:1 olarak bulunmuştur.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir. FT-IR çalışmaları, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümünde bulunan BRUKER OPTICS VERTEX 70 cihazı ile KBr kullanılarak yapılmıştır. ¹H ve ¹³C NMR spektrumları, Anadolu Üniversitesi, Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırma Merkezinde (AUBİBAM) bulunan 500 MHz UltraShield NMR Spektrometrisi ile d₆-DMSO çözücü ortamında alınmıştır.

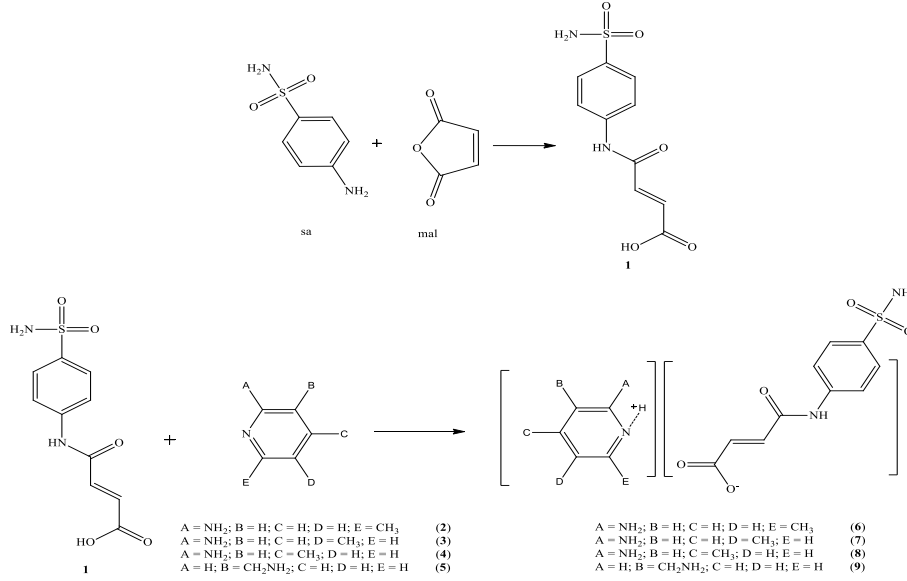
Proton Transfer Tuzlarının Sentezi

1 Bileşiği literatürde bulunan yöntemle sentezlenmiştir [21]. 10 mmol **1** (2.70 g) ve 10 mmol aminopiridin türevleri (1.0814 g **2-5**) bileşikleri balonda 50 mL saf etanolde çözüldü. Bir gün karıştırıldıktan sonra çöken proton transfer tuzları (**6-9**) süzöldü ve kurutuldu (Şekil 1). Sentezlenen tuzların bazı fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Elde edilen bileşiklerin bazı fiziksel özellikleri

Bileşik	Renk	Mol Kütle*	Verim (%)
6	Beyaz	378.40	85
7	Beyaz	378.40	95
8	Beyaz	378.40	92
9	Beyaz	378.40	93

*Tahmini molekül ağırlığı (g/mol)



Şekil 1. Proton transfer tuzlarının sentezi

Bulgular ve Tartışma

Elementel Analiz sonuçları

6-9 Bileşiklerinin elementel analiz sonuçları Tablo 2’de verilmiştir. Sentezlenen tuzların deneysel element miktarları ile önerilen yapılarıdaki teorik element miktarları benzerdir. Bu sonuçlara göre **1:2-5** oranları 1:1 olarak görülmektedir. Bu sonuçlar diğer spektroskopik çalışmaları desteklemektedir.

Tablo 2. Tuzların elementel analiz sonuçları

Bileşik	Kapalı formülü	% Deneysel (% Teorik)			
		C	H	N	S
6	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₅ S	50.75(50.78)	4.81(4.79)	14.82(14.81)	8.50(8.47)
7	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₅ S	50.79(50.78)	4.80(4.79)	14.80(14.81)	8.51(8.47)
8	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₅ S	50.78(50.78)	4.76(4.79)	14.85(14.81)	8.46(8.47)
9	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₅ S	50.76(50.78)	4.75(4.79)	14.82(14.81)	8.48(8.47)

NMR Spektrumu Sonuçları

6 Tuzunun NMR Sonuçları

6 Proton transfer tuzunun (Şekil 1) DMSO-d₆ içerisinde alınan ¹H ve ¹³C NMR kimyasal kayma değerleri Tablo 3’te, spektrumları Şekil 2 ve 3’te verilmiştir.

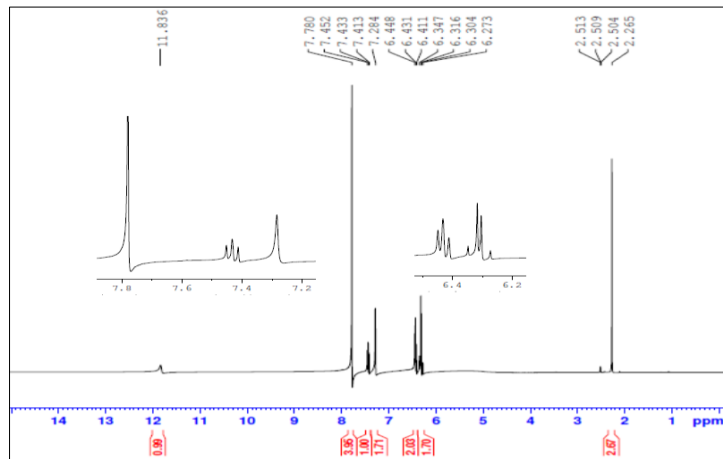
6 Proton transfer tuzunun ¹H-NMR spektrumunda (Tablo 3); tuzun yapısında bulunan alken protonları (-CH=CH-), 6.28 ppm (H³, ³J_{H3-H4} = 12.00 Hz) ve 6.33 ppm’de (H⁴, ³J_{H4-H3} = 12.00 Hz) 1H’lık doublet pikler olarak gözlenmiştir. Bu protonların Hz değerleri 12 olması yapının trans pozisyonunda olduğunu göstermektedir [23]. Spekturumda 7.78 ppm de gözlenen 4H’lık singlet pik tuzun **1** kısmındaki aromatik protonları (H⁸, H^{8'}, H⁹ ve H^{9'}), 11.84 ppm’de 1H’lık singlet pik amit protonu (H⁶) ve 7.28 ppm de 2H’lık gözlenen singlet pik ise -SO₂NH₂’deki protonlarından (H¹²) kaynaklanmaktadır. **2** Grubu protonları ise;

6.43 ppm 2H'lık doublet+ doublet pik (H^{15} ve H^{17} , ${}^3J_{H^{15},H^{17}-H^{16}} = 6.80$ Hz), 7.43 ppm'de 1H'lık triplet pik (H^{16} , ${}^3J_{H^{16}-H^{15},H^{17}} = 7.60$ Hz) ve 2.27 ppm'de 3H'lık singlet (H^{20}) olarak gözlenmiştir. Yapıda $-NH_2$ (H^{19}) protonları ise gözlenmemiştir.

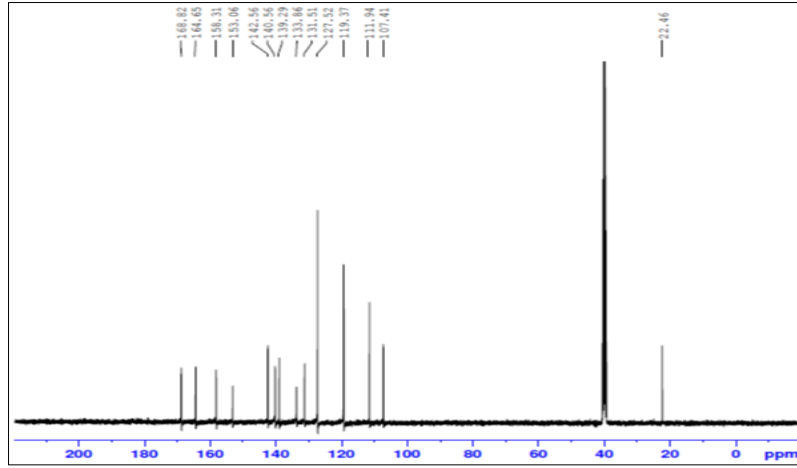
6 Bileşiğinin ${}^{13}C$ NMR spektrumunda on dört tane karbon atomu gözükmemektedir (Tablo 3). **1** grubuna ait sekiz adet karbon pikleri, 168.82 (C^2), 127.52 (C^3), 119.37 (C^4) 164.65 (C^5), 139.29 (C^7), 131.51 (C^8 ve $C^{8'}$), 133.86 (C^9 ve $C^{9'}$) ve 142.56 (C^{10}) ppm'de gözlenirken, **2** grubuna ait altı adet karbon pikleri ise 158.31 (C^{14}), 140.56 (C^{15}), 107.41 (C^{16}), 111.94 (C^{17}), 153.06 (C^{18}) ve 22.46 (C^{20}) ppm'de gözlenmiştir.

Tablo 3. 6 Tuzunun 1H ve ${}^{13}C$ NMR değerleri (ppm)

1H NMR		${}^{13}C$ NMR	
H^3	6.28 ppm (1H, d) [${}^3J_{H^3-H^4} = 12.00$ Hz]	C^2	168.82
H^4	6.33 ppm (1H, d) [${}^3J_{H^4-H^3} = 12.20$ Hz]	C^3	127.52
H^6	11.84 ppm (1H, s)	C^4	119.37
$H^8, H^{8'}$, $H^9, H^{9'}$	7.78 ppm (4H, s)	C^5	164.65
H^{12}	7.28 ppm (2H, s)	C^7	139.29
H^{13}	-	$C^8, C^{8'}$	131.51
H^{15}, H^{17}	6.43 ppm (2H, d+d) [${}^3J_{H^{15},H^{17}-H^{16}} = 6.80$ Hz]	$C^9, C^{9'}$	133.86
H^{16}	7.43 ppm (1H, t) [${}^3J_{H^{16}-H^{15},H^{17}} = 7.60$ Hz]	C^{10}	142.56
H^{19}	-	C^{14}	158.31
H^{20}	2.27 ppm (3H, s)	C^{15}	140.56
		C^{16}	107.41
		C^{17}	111.94
		C^{18}	150.34
		C^{20}	22.46



Şekil 2. 6 Bileşiğinin 1H NMR sonuçları

Şekil 3. 6 Bileşiğinin ^{13}C NMR sonuçları

7 Tuzunun NMR Sonuçları

7 Proton transfer tuzunun (Şekil 1) DMSO- d_6 içerisinde alınan ^1H ve ^{13}C NMR kimyasal kayma değerleri Tablo 4'te, spektrumları Şekil 4 ve 5'te verilmiştir.

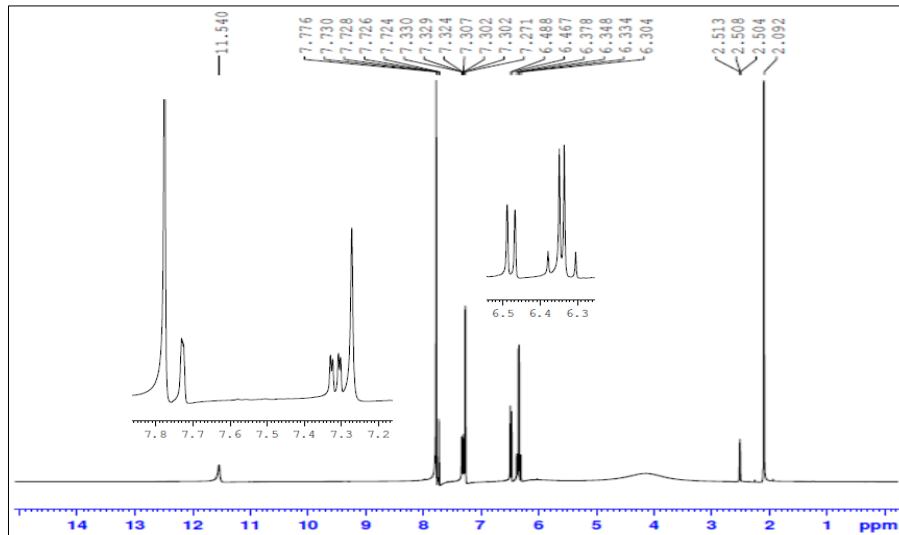
Tablo 4. 7 Tuzunun ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (ppm)

		^1H NMR	^{13}C NMR
H^3	6.32 ppm (1H, d) [$^3\text{J}_{\text{H}^3-\text{H}^4} = 12.00$ Hz]	C^2	168.10
H^4	6.36 ppm (1H, d) [$^3\text{J}_{\text{H}^4-\text{H}^3} = 12.20$ Hz]	C^3	127.20
H^6	11.54 ppm (1H, s)	C^4	119.32
$\text{H}^8, \text{H}^{8'}$, $\text{H}^9, \text{H}^{9'}$	7.77 ppm (4H, s)	C^5	164.65
H^{12}	-	C^7	140.20
H^{15}	6.39 ppm (1H, d) [$^3\text{J}_{\text{H}^{15}-\text{H}^{16}} = 12.00$ Hz]	$\text{C}^8, \text{C}^{8'}$	131.87
H^{16}	7.32 ppm (1H, dxd) [$^3\text{J}_{\text{H}^{16}-\text{H}^{18}} = 8.80$ Hz, $^4\text{J}_{\text{H}^{16}-\text{H}^{18}} = 2.00$ Hz]	$\text{C}^9, \text{C}^{9'}$	132.87
H^{18}	7.73 ppm (1H, d) [$^4\text{J}_{\text{H}^{18}-\text{H}^{16}} = 1.60$ Hz]	C^{10}	144.91
H^{19}	-	C^{14}	157.23
H^{20}	2,50 ppm (3H, s)	C^{15}	142.56
		C^{16}	109.41
		C^{17}	119.32
		C^{18}	153.06
		C^{20}	17.39

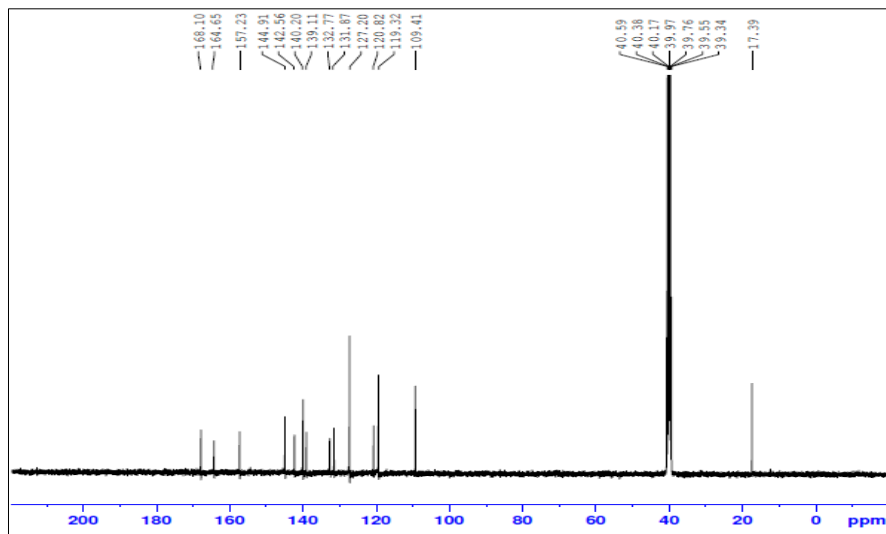
7 Tuzunun ^1H NMR spektrumunda (Tablo 4); tuzun yapısında bulunan alken protonları (-CH=CH-),

6.32 ppm (H^3 , $^3J_{H3-H4} = 12.00$ Hz) ve 6.36 ppm'de (H^4 , $^3J_{H4-H3} = 12,00$ Hz) 1H'lık doublet pikler olarak gözlenmiştir. Bu protonların Hz değerleri 12 olması yapının trans pozisyonda olduğunu göstermektedir [23]. Spekturumda 7.77 ppm de gözlenen 6H'lık singlet pik tuzun **1** kısmındaki aromatik protonları (H^8 , H^8 , H^9 ve H^9) ve $-SO_2NH_2$ deki protonları (H^{12}) ve 11.54 ppm'de 1H'lık singlet pik amit protonundan (H^6) kaynaklanmaktadır. **3** Grubu protonları ise; 6.39 ppm (H^{15} , $^3J_{H15-H16} = 12.00$ Hz) ve 7.73 ppm'de (H^{18} , $^4J_{H18-H16} = 1.60$ Hz) 1H'lık doublet pikler, 7.32 ppm'de 1H'lık doublet-doublet pik (H^{16} , 8.80 Hz, $^4J_{H16-18} = 2.00$ Hz) ve 2.50 ppm'de 3H'lık singlet pik (H^{20}) olarak gözlenmiştir. Yapıda $-NH_2$ (H^{19}) protonları ise spektrumda gözlenmemiştir.

7 Bileşiğinin ^{13}C NMR spekturumunda on dört tane karbon atomu gözükmemektedir (Tablo 4). **1** Grubuna ait sekiz adet karbon pikleri, 168.10 (C^2), 127.20 (C^3), 119.32 (C^4), 164.65 (C^5), 140.20 (C^7), 131.87 (C^8 ve C^8), 133.87 (C^9 ve C^9) ve 144.91 (C^{10}) ppm'de gözlenirken, **3** grubuna ait altı adet karbon pikleri ise 157.23 (C^{14}), 142.56 (C^{15}), 109.41 (C^{16}), 119.41 (C^{17}), 153.06 (C^{18}) ve 17.39 (C^{20}) ppm'de gözlenmiştir.



Şekil 4. 7 Bileşiğinin 1H NMR sonuçları



Şekil 5. 7 Bileşiğinin ^{13}C NMR sonuçları

8 Tuzunun NMR Sonuçları

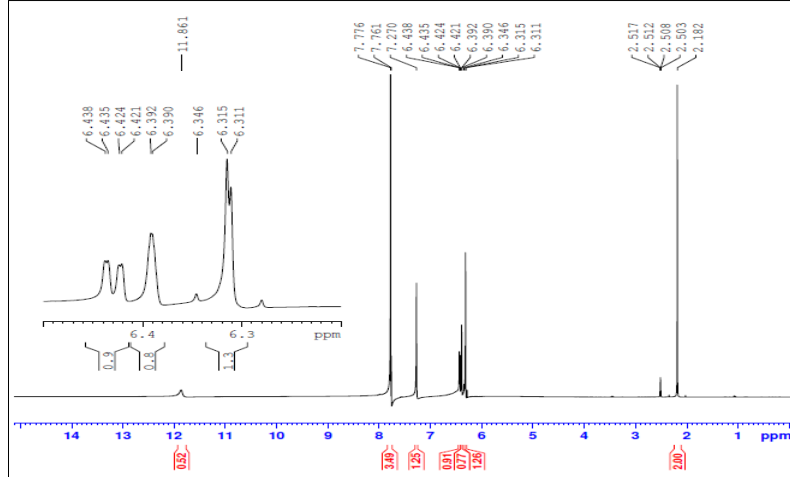
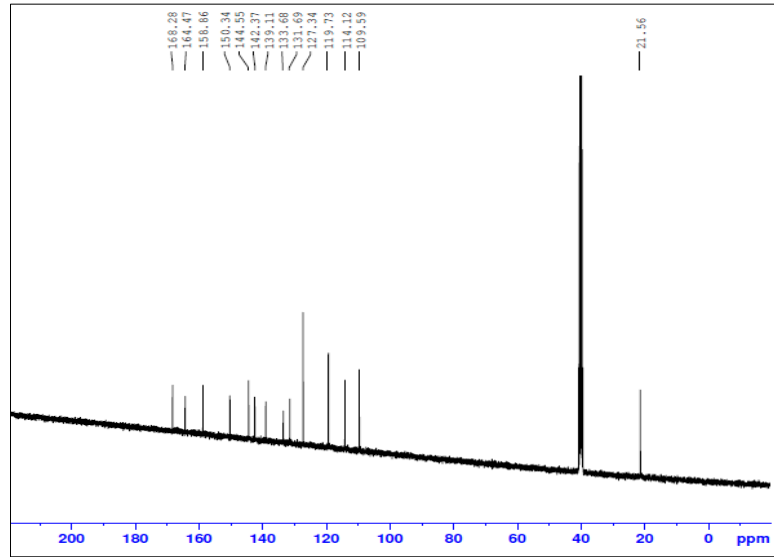
8 Proton transfer tuzunun (Şekil 1) DMSO-d₆ içerisinde alınan ¹H ve ¹³C NMR kimyasal kayma değerleri Tablo 5'te, spektrumları Şekiller 6 ve 7'de verilmiştir.

8 Tuzunun ¹H NMR spektrumunda (Şekil 6, Tablo 5); tuzun yapısında bulunan alken protonları (-CH=CH-), 6.30 ppm (H³, ³J_{H3-H4} = 12.40 Hz) ve 6.33 ppm'de (H⁴, ³J_{H4-H3} = 12.40 Hz) 1H'lık doublet pikler olarak gözlenmiştir. Bu protonların Hz değerleri 12.40 olması yapının trans pozisyonunda olduğunu göstermektedir [23]. Spekturumda 7.77 ppm de gözlenen 4H'lık singlet pik tuzun **1** kısmındaki aromatik protonları (H⁸, H^{8'}, H⁹ ve H^{9'}), 11.86 ppm'de 1H'lık singlet pik amit protonu (H⁶) ve 7.27 ppm de 2H'lık gözlenen singlet pik ise -SO₂NH₂'deki protonlardan (H¹²) kaynaklanmaktadır. **4** Grubu protonları ise; 6.39 ppm (H¹⁵, ⁴J_{H15-H17} = 0.80 Hz) ve 7.76 ppm'de (H¹⁸, ³J_{H18-H17} = 6.00 Hz) 1H'lık doublet pikler, 6.43 ppm'de 1H'lık doublet-doublet pik (H¹⁷, ³J_{H17-H18} = 5.60 Hz, ⁴J_{H17-H15} = 1.20 Hz) ve 2.18 ppm'de 3H'lık singlet pik (H²⁰) olarak gözlenmiştir. Yapıda -NH₂ (H¹⁹) protonları ise spektrumda gözlenmemiştir.

8 Bileşiğinin ¹³C NMR spekturumunda on dört tane karbon atomu gözükmemektedir (Şekil 7, Tablo 5). **1** Grubuna ait sekiz adet karbon pikleri, 168.28 (C²), 127.34 (C³), 119.73 (C⁴) 164.47 (C⁵), 139.11 (C⁷), 131.69 (C⁸ ve C^{8'}), 133.68 (C⁹ ve C^{9'}) ve 144.55 (C¹⁰) ppm'de gözlenirken, **4** grubuna ait altı adet karbon pikleri ise 158.86 (C¹⁴), 142.37 (C¹⁵), 109.59 (C¹⁶), 114.12 (C¹⁷), 150.34 (C¹⁸) ve 21.56 (C²⁰) ppm'de gözlenmiştir.

Tablo 5. 8 Tuzunun ¹H ve ¹³C NMR değerleri (ppm)

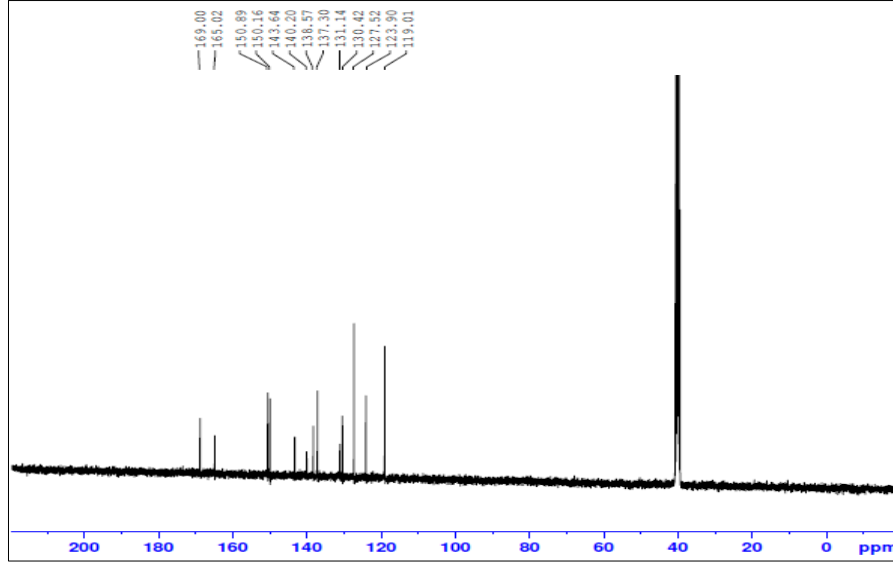
¹ H NMR		¹³ C NMR	
H ³	6.30 (1H, d) [³ J _{H3-H4} = 12.40 Hz]	C ²	168.28
H ⁴	6.33 (1H, d) [³ J _{H4-H3} = 12.40 Hz]	C ³	127.34
H ⁶	11.86 (1H, s)	C ⁴	119.73
H ⁸ , H ^{8'} , H ⁹ , H ^{9'}	7.77 (4H, s)	C ⁵	164.47
H ¹²	7.27 (2H, s)	C ⁷	139.11
H ¹³	-	C ⁸ , C ^{8'}	131.69
H ¹⁵	6.39 (1H, d) [⁴ J _{H15-H17} = 0.80 Hz]	C ⁹ , C ^{9'}	133.68
H ¹⁷	6.43 (1H, dxd) [³ J _{H17-H18} = 5.60 Hz, ⁴ J _{H17-H15} = 1.20 Hz]	C ¹⁰	144.55
H ¹⁸	7.76 (1H, d) [³ J _{H18-H17} = 6.00 Hz]	C ¹⁴	158.86
H ¹⁹	-	C ¹⁵	142.37
H ²⁰	2.18 (3H, s)	C ¹⁶	109.59
		C ¹⁷	114.12
		C ¹⁸	150.34
		C ²⁰	21.56

Şekil 6. 8 Bileşiğinin ¹H NMR sonuçlarıŞekil 7. 8 Bileşiğinin ¹³C NMR sonuçları

9 Tuzunun NMR Sonuçları

9 Proton transfer tuzunun (Şekil 1) DMSO-d₆ çözücüsünde alınan ¹H ve ¹³C NMR kimyasal kayma değerleri Tablo 6'da ve spektrumları Şekiller 8 ve 9'da verilmiştir.

9 Tuzunun ¹H NMR spektrumunda (Şekil 8, Tablo 6); tuzun yapısında bulunan alken protonları (-CH=CH-), 5.81 ppm (H³, ³J_{H3-H4} = 13.20 Hz) ve 6.22 ppm'de (H⁴, ³J_{H4-H3} = 13.60 Hz) 1H'lık doublet pikler olarak gözlenmiştir. Bu protonların Hz değerleri 13 olması yapının trans pozisyonunda olduğunu göstermektedir [23]. Spekturumda 7.77 ppm de gözlenen 4H'lık singlet pik tuzun 1 kısmındaki aromatik protonları (H⁸, H^{8'}, H⁹ ve H^{9'}), 11.86 ppm'de 1H'lık singlet pik amit protonu (H⁶) ve 7.27 ppm de 2H'lık gözlenen singlet pik ise -SO₂NH₂'deki protonlardan (H¹²) kaynaklanmaktadır. 5 Grubu protonları ise; 8.65 ppm'de 1H'lık doublet pik (H¹⁵, ⁴J_{H14-H16} = 2.00 Hz), 8.57 ppm'de 1H'lık doublet-doublet pik (H¹⁶, ³J_{H16-H17} = 4.80 Hz, ⁴J_{H16-H14} = 1.60 Hz), 7.45 ppm'de 1H'lık quartet-doublet pik (H¹⁷, ³J_{H17-H16/H18} = 4.80 Hz, ⁴J_{H17-H15} = 0.80 Hz), 7.76 ppm'de 1H'lık doublet-triplet pik (H¹⁸, ³J_{H18-H17} = 7.60 Hz, ⁴J_{H18-H16} = 2.40



Şekil 9. 9 Bileşiğinin ^{13}C NMR sonuçları

Tüm proton transfer tuzlarında, **1**'e ait -COOH hidrojeni (H^1) aminopiridin türevlerindeki N^{13} veya N^{19} 'a tersinir tepkimesine uğrayarak transfer olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle tuzlarda H^1 , H^{13} veya H^{19} protonları spektrumunda gözlenememiştir. Proton transfer tuzlarının FT-IR spektrumlarında (Ekler 9-12) H^{13} veya H^{19} 'un varlığı gözlenmiştir. Sentezlenen tuzlarda **2-5** ve **1** birleşme oranı 1:1 olarak bulunmuştur.

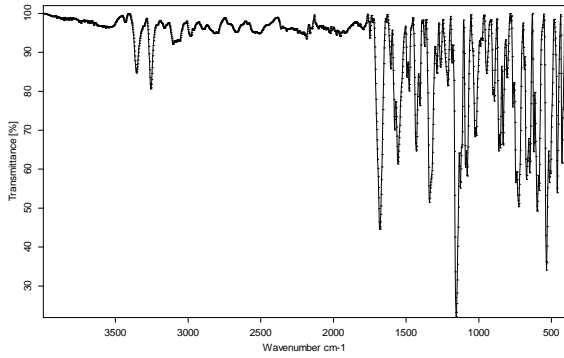
FT-IR Sonuçları

1-9 Bileşiklerinin FT-IR değerleri Tablo 7'de, elde edilen tuzların FT-IR spektrumları Şekiller 10-13'te verilmiştir. Spektrumlarda tuzların yapılarını destekleyen bantlar mevcuttur.

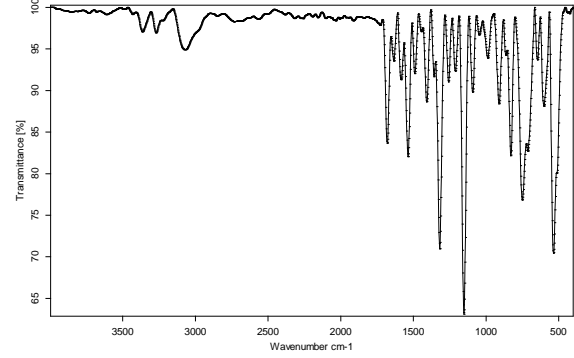
Başlangıç maddeleri ve tuzlarının FT-IR spektrumlarında; **1**'de 2900 cm^{-1} civarında gözlenen $\nu(\text{O-H})$ gerilmeleri, tuzlarda gözükmemektedir. $\nu(\text{N-H})$ gerilmeleri ise **1**'de $3352, 3262$ ve 3274 cm^{-1} , **2**'de 3360 ve 3250 cm^{-1} , **3**'te 3350 ve 3243 cm^{-1} , **4**'te 3428 ve 3302 cm^{-1} , **5**'de 3366 ve 3288 cm^{-1} , **6**'da 3355 ve 3256 cm^{-1} , **7**'de 3367 ve 3268 cm^{-1} , **8**'de 3331 ve 3208 cm^{-1} ve **9**'da 3330 ve 3240 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. $\nu(\text{N}^+-\text{H})$ titreşim bantları **6**'da 2672 ve 2510 cm^{-1} , **7**'de 2684 ve 2576 cm^{-1} , **8**'de 2758 ve 2548 cm^{-1} ve **9**'da 2676 ve 2531 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. Bu bantların gözlenmesi tuzlarda bazın protonlandığını göstermektedir (Şekil 1) [28]. Karboksilat $\nu(\text{C=O})$ gerilmeleri **1**'de 1695 cm^{-1} , **6**'da 1680 cm^{-1} , **7**'de 1670 cm^{-1} (asit), **8**'de 1670 cm^{-1} ve **9**'da 1698 cm^{-1} 'de gözlenirken, amit $\nu(\text{C=O})$ gerilmeleri **1**'de 1630 cm^{-1} , **6**'da 1636 cm^{-1} , **7**'de 1642 cm^{-1} , **8**'de 1644 cm^{-1} ve **9**'de 1639 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. Tüm bileşiklerde, $3034\text{-}2765\text{ cm}^{-1}$ aralığında alken/alifatik $\nu(\text{C-H})$ gerilmeleri, $3129\text{-}3052\text{ cm}^{-1}$ aralığında aromatik $\nu(\text{C-H})$ gerilmeleri, $1686\text{-}1401\text{ cm}^{-1}$ aralığında $\nu(\text{C=N})$ ve $\nu(\text{C=C})$ gerilmeleri, $809\text{-}739\text{ cm}^{-1}$ aralığında piridin halkasından kaynaklanan pikler (**1** hariç), $1397\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ aralığında $\nu(\text{C-O})$ ve $1320\text{-}1152\text{ cm}^{-1}$ aralığında $\nu(\text{S=O})$ gerilmeleri (**2-5** hariç) gözlenmiştir.

Tablo 7. Bileşiklerin bazı FT-IR bantları (cm^{-1})

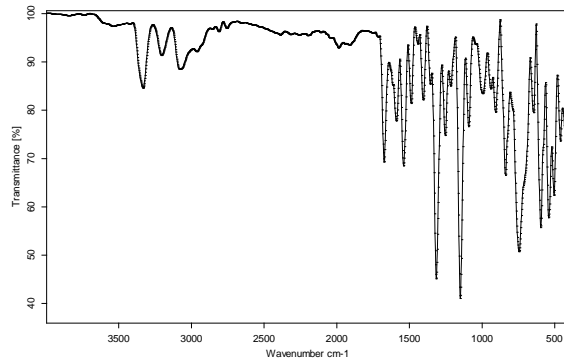
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\nu(\text{OH})$	2900	-	-	-	-	-	-	-	-
$\nu(\text{NH}_2)$	3352 3263 3212	3360 3250	3350 3243	3428 3302	3366 3288	3355 3256	3367 3268	3331 3208	3330 3240
$\nu(\text{NH})^+$	-	-	-	-	-	2672 2510	2684 2576	2758 2548	2676 2531
$\nu(\text{C-H})_{\text{Ar}}$	3068	3084	3083	3052	3086	3104	3076	3072	3129
$\nu(\text{C-H})_{\text{Alf.}}$	3011 2944 2807	2985 2919 2850	2995 2919 2739	2983 2899 2837	2998 2910 2860	2985 2892 2820	2983 2936 2896	2961 2920 2089	3034 2897 2765
$\nu(\text{C=O})_{\text{amit}}$	1630	-	-	-	-	1636	1642	1644	1639
$\nu(\text{C=O})_{\text{asit}}$	1695	-	-	-	-	1681	1680	1670	1689
$\nu(\text{C=N})$	1549	1610	1612	1686	1591	1606	1586	1610	1611
$\nu(\text{C=C})$	1496 1468 1463 1425 1401	1585 1545 1533 1459 1428	1584 1539 1493 1467 1418	1601 1550 1497 1439	1577 1480 1426	1579 1557 1494 1478	1536 1489 1443 1408 1430	1587 1539 1491 1447 1405	1590 1553 1491 1422
$\nu(\text{C-O})$	1397 1264 1094	-	-	-	-	1373 1288 1090	1353 1264 1096	1351 1258 1096	1358 1265 1093
$\nu(\text{S=O})$	1317 1194 1153	-	-	-	-	1320 1213 1156	1322 1211 1152	1320 1214 1154	1306 1205 1150
$\nu(\text{py})$	-	797	809	778	783	725	753	754	739



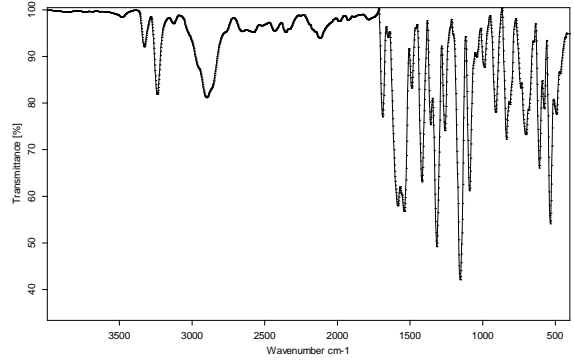
Şekil 10. 6 Bileşiğinin IR spektrumu



Şekil 11. 7 Bileşiğinin IR spektrumu



Şekil 12. 8 Bileşiğinin IR spektrumu



Şekil 13. 9 Bileşiğinin IR spektrumu

Sonuçlar

Bu çalışmada önce literatürde bulunan yöntemle maleik anhidrit (mal) ile sülfanilamin (sa) tepkimesinden sülfanilamin içeren maleik asit olan (*E*)-3-(4-sülfamoilfenilkarbamoyl) akrilik asit (**1**) sentezlenmiştir. Daha sonra **1** ile 2-amino-6-metilpiridin (**2**), 2-amino-5-metilpiridin (**3**), 2-amino-4-metilpiridin (**4**) ve 3-aminopiridin (**5**) tepkimesinden proton transfer tuzları (**6-9**) elde edilmiştir. Elde edilen tuzların yapıları, elementel analiz, ¹H ve ¹³C NMR, IR ve yük denklığı ile önerilmiştir. Elde edilen maddeler su, etanol, DMSO, DMF’de çözünmektedir. **1** ve tuzların (**6-9**) NMR spektrumları incelenerek, asit (**1**):baz (**2-5**) oranları 1:1 olarak bulunmuştur. Tuzların IR spektrumlarında yapıları destekleyen fonksiyonel grupların titreşim bantları mevcuttur. Şekil 1’de verilen proton transfer tuzlarının yapıları, yukarıda tartışılan deneysel sonuçları dikkate alınarak önerilmiştir.

Teşekkür Katkılarından dolayı Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu’na teşekkür ederiz.

Fon/Finansman bilgileri Bu çalışma, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon’unca, 2013/36 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Etik Kurul Onayı ve İzinler Çalışma, etik kurul izni ve herhangi bir özel izin gerektirmemektedir.

Çıkar çatışmaları/Çatışan çıkarlar Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazarların Katkısı Tüm yazarlar eşit oranında katkı sağlamıştır. Tüm yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

Kaynaklar

[1] Macdonald, J. C., Dorrestein, P. C., Pilley, M. M., Foote, M. M., Lundburg, J. L., Henning, R. W., Schultz, A. J., & Manson, J. L. (2000). Design of layered crystalline materials using coordination chemistry and hydrogen bonds. *Journal of the American Chemical Society*, 122, 11692-11702. <https://doi.org/10.1021/ja002102v>

[2] Aghabozorg, H., Sadrkhanlou, E., Shokrollahi, A., Ghaedi, M., & Shamsipur, M. (2009). Synthesis, characterization, crystal structures, and solution studies of Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes obtained from pyridine-2,6-dicarboxylic acid and 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline. *Journal of Iranian Chemical Society*, 6(1), 55-70. <https://doi.org/10.1007/BF0324650>

[3] Farrag, A. A. S., Ammar, Y. A., El-Sehemi, A. A. G., Thabet, H. K., Hassan, N. A. A., & Samy, A. K. (2011). Synthesis and pharmacological screening of novel sulfamoylphenylcarbamoylequinoxaline derivatives as anti-inflammatory, analgesic and antitumour agents. *Journal of Chemical Research*, 35(3), 163-166. <https://doi.org/10.3184/174751911X12983997221326>

[4] Jain, B. C., Iyer, B. H., & Guha, P. C. (1945). Some *N*- and *N*-heterocyclic-acyl-sulfanilamides. *Science and Culture*, 11, 270-271.

[5] Jain, B. C., Iyer, B. H., & Guha, P. C. (1947). Sulfanilamides. XIII. Reaction with dicarboxylic acids -*N* - and *N* -acyl and heterocyclic derivatives. *Journal of the Indian Chemical Society*, 24, 173-176.

- [6] Irani, R. J. (1945). A simple method of preparation of *N*-substituted disulfanilamido derivatives of some dibasic acids. *Current Science*, 14, 46-47.
- [7] Oktay, K., Kose, L. P., Sendil, K., Gultekin, M. S., Gulcin, I., & Supuran, C. T., (2016). The synthesis of (Z)-4-oxo-4-(arylamino) but-2-enoic acids derivatives and determination of their inhibition properties against human carbonic anhydrase I and II isoenzymes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(6), 939-945. <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1071808>
- [8] Martin, G. J., Balant, C. P., Avakian, S., & Beiler, J. M., (1954). Inhibition of carbonic anhydrase. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 98, 284-287.
- [9] Delmar, G. S., & Macallum, E. N. N (Carboxyacyl) sulfanilamides. United States, US2576825 1951-11-27.
- [10] Vargha, L., (1939). The semiamides of *p*-aminobenzenesulfonamide formed with dicarboxylic acids. *A Magyar Biologiai Kutatóintézet Munkái*, 11, 372-374.
- [11] Miller, E., Rock, H. J., & Moore, M. L., (1939). Substituted sulfanilamides. I. *N*-Acyl derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, 61, 1198-1200.
- [12] Merz, H., Pfeleiderer, G., & Wieland, T., (1965). Synthesis of *S*- or *S*-containing maleimides. *Biochemische Zeitschrift*, 342(1), 66-75.
- [13] Valee, J. P. S. Soluble derivatives of aminobenzenesulfonamides. France, FR1055834 1954-02-22.
- [14] Bergmann, F., & Haskelberg, L., (1941). Synthesis of lipophilic chemotherapeutics. V. *N*-Acylsulfanilamides. *Journal of the American Chemical Society*, 63, 2243-2245.
- [15] Tahir, M. N., Khalid, M., Islam, A., Ali Mashhadi, S. M., & Braga, A. A. C. (2017). Facile synthesis, single crystal analysis, and computational studies of sulfanilamide derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1127, 766-776. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.08.032>
- [16] Poth, E. J., & Ross, C. A., (1944). Rates of hydrolysis of *N*-dibasic acid-substituted sulfonamides. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 57, 322-327.
- [17] Ciba, J., Sycz, J., & Trzcionka, J. (1983), Study of the thermal properties of derivatives of sulfonamides. *Journal of Thermal Analysis*, 26(1), 145-150.
- [18] Ciba, J., & Trzcionka, J., (1983). Derivatives of sulfanilamide and dicarboxylic acids. *Zeszyty Naukowe Politechniki Slaskiej, Chemia*, 751(106), 107-116.
- [19] Bergmann, F., & Schapiro, D., (1942). Further acylation experiments with sulfanilamide and heterocyclic amines. *Journal of Organic Chemistry*, 7, 419-423.
- [20] Nigmatov, I. N., Gafurov, B. L., & Askarov, M. A., (1977), Study of the reaction of citraconic anhydride with *p*-aminobenzenesulfamide. *Uzbekskii Khimicheskii Zhurnal*, (3), 41-43.
- [21] Kremlev, M. M., Kul'chitskaya, N. E., Biba, A. D., & Romanenko, V. D., (1971). Arenesulfonamides. XXVII. *N*-(sulfamoylaryl)maleimides. *Khimicheskaya Tekhnologiya (Kharkov)*, 21, 5-10.
- [22] Goya, H., Nakanishi, M., Saruwatori, K., Hirose, A., & Shinozawa, T., Sulfanilamides as inhibitors of oxidation of ammoniacal nitrogen in soils. Japan, JP47004966 B 1972-02-12.
- [23] Yenikaya, C., İlkimen, H., Demirel, M. M., Ceyhan, B., Bulbul, M., & Tunca, E., (2016). Preparation of two maleic acid sulfonamide salts and their copper (II) complexes and antiglaucoma

activity studies. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27(10), 1706-1714. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160051>

[24] Bapna, S., Hiran, B. L., & Jain, S., (2015). Antimicrobial evaluation of maleimide monomers, homopolymers and copolymers containing azo, sulfonamide and thiazole groups. *Journal of Advances in Chemistry*, 11(1), 3404-3415. <https://doi.org/10.24297/jac.v11i1.2228>

[25] Yenikaya, C., İlkimen, H., Demirel, M. M., Ceyhan, B., Tunca, E., & Bulbul, M., (2016). 2-Aminopiridin ile (E)-4-okso-4-((4-sülfamoyilfenil) amino) büt-2-enoik asitin proton transfer tuzunun sentezi, metal komplekslerinin hazırlanması ve hCA I ve hCA II izoenzimleri üzerindeki inhibisyon özelliklerinin incelenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16, 41-53.

[26] Yenikaya, C., İlkimen, H., Ceyhan, B., Demirel, M. M., Tunca, E., & Bulbul, M., (2017). Benzimidazol ile (E)-3-(4-sülfamoyilfenilkarbamoyl)akrilik asitin proton transfer tuzunun sentezi, metal komplekslerinin hazırlanması ve inhibisyon özelliklerinin incelenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 21(3), 454-462.

[27] Marinescu, M. (2017). 2-Aminopyridine-A classic and trendy pharmacophore. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 8(2), 338-355. <http://dx.doi.org/10.22376/ijpbs.2017.8.2.p338-355>

[28] Cook, D., (1961). Vibrational spectra of pyridinium salts. *Canadian Journal of Chemistry*, 39, 2009–2024. <https://doi.org/10.1139/v61-271@cjc-csc.issue01>



Ucuz Bir Adsorbent ile Metil Mavisinin Giderimi: Optimizasyon, ANOVA Analizi

Erbil KAVCI¹

How to cite: Kavcı, E. (2022). Ucuz bir adsorbent ile metil mavisinin giderimi: Optimizasyon, ANOVA analizi. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 71-80. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1098225>

Araştırma Makalesi

Sorumlu Yazar

Erbil KAVCI
erbilkavci@gmail.com

Yazara ait ORCID

E.K: 0000-0001-6519-9901

Received: 04.04.2022

Accepted: 21.06.2022

Öz

Bu çalışmada Kars ilinden elde edilen yerel kil kullanılarak metil mavisinin adsorpsiyonu incelenmiş ve Taguchi metodu (ortogonal L₉ tasarım matrisi) ile parametreler optimize edilmiştir. Burada sıcaklık (20-25-30°C), boyar madde konsantrasyonu (80-120-160 mg/L) ve adsorbent miktarı (0.04-0.08-0.12 g) adsorpsiyona etki eden parametreler olarak seçilmiştir. Çalışmada metil mavisinin %98.6'sı kil üzerine adsorplanarak giderilmiştir. Bu giderimin sağlandığı optimum şartlar; sıcaklığın 20°C, konsantrasyonun 80 mg/L ve adsorbent miktarının 0.12 g olduğu seviyelerdir. Parametrelerin etkisini gözlemek için yapılan ANOVA analizinde en etkili parametrenin adsorbent miktarının olduğu ardından konsantrasyonun geldiği, sıcaklığın ise etkisiz olduğu görülmüştür. Aynı çalışma birim adsorbent başına adsorplanan metil mavisi miktarı üzerinden de optimize edilmiştir. Burada ise sıcaklığın 20°C, konsantrasyonun 160 mg/L ve adsorbent miktarının 0.04 g olduğu seviyeler optimum seviyeler olarak tespit edilmiştir. ANOVA analizinden konsantrasyon ve adsorbent miktarının adsorpsiyon üzerine etkilerinin birbirine yakın olduğu görülmüş, sıcaklığın ise adsorpsiyon üzerinde etkisiz olduğu gözlenmiştir. Belirlenen optimum şartlar da yapılan deneylerde birim adsorbent başına adsorplanan boyar madde miktarı, q₁=87.33 mg/g olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Adsorpsiyon, metil mavisi, kil, Taguchi metodu, ANOVA analizi

Removal of Methylene Blue Using A Cheap Adsorbent: Optimization ANOVA Analysis

¹ Kafkas Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Kars, Türkiye

Bu çalışma Creative Commons Attribution 4.0 International License ile lisanslanmıştır

Abstract

In this study, methylene blue adsorption was investigated using clay found locally in the Kars region. The temperature, dye concentration, and amount of adsorbent that can affect the adsorption were optimized by the Taguchi method. L₉ orthogonal experimental design matrix was used in the design. Here, temperature (20-25-30°C), the concentration of dye (80-120-160 mg/L), and the amount of adsorbent (0.04-0.08-0.12 g) were selected as parameters affecting adsorption. In the study, 98.6% of methylene blue was removed. The optimum conditions for the removal of methylene blue are the temperature of 20°C of the temperature, 80 mg/L of the concentration, and 0.12 g of the amount of adsorbent. From the ANOVA analysis performed to observe the effect of the parameters, it was seen that the amount of adsorbent was the most effective parameter, then the concentration was effective and the temperature was ineffective. The

same study was also optimized on the amount of methylene blue adsorbed per unit adsorbent. The optimum levels of temperature, concentration, and amount of adsorbent were determined as 20°C, 160 mg/L, and 0.04g, respectively. According to ANOVA analysis, it was observed that the concentration and amount of adsorbent had approximately the same effect, while the temperature was ineffective on adsorption. In the experiments carried out under optimum conditions, the value of $q_t=87.33$ mg/g was reached.

Keywords: Adsorption, methylene blue, clay, Taguchi method, ANOVA

Giriş

Adsorpsiyon boyar maddelerin gideriminde gerek uygulamadaki kolaylığı gerekse ucuzluğu dolayısıyla hala etkili bir şekilde kullanılan yöntemlerden biridir. Özellikle kullanılan adsorbentın bol bulunması ve ucuz olması durumunda adsorpsiyon prosesleri oldukça verimli hale gelmektedir [1, 2]. Boyar maddelerin gideriminde çok kez tercih edilen bu metodun yanı sıra kuagülasyon, iyon değişimi, membran ayırma, fotokataliz v.s gibi yöntemler de kullanılmaktadır [3]. Ancak her yöntemin kendine göre avantajları ve dezavantajları olduğundan, bu ayırma yöntemlerinden herhangi biri beklentiler veya eldeki şartlara göre tercih edilmektedir [4]. Boyar maddeler ise hemen hemen bütün endüstride kullanılan renklendirici maddelerdir. Renklendirme işleminde proses edilen boyar maddeler atık sularda büyük miktarlarda bulunmaktadır [5]. Kimyasal yapıları çok çeşitli olan boyar maddeler bozunmaya karşı oldukça dirençlidir. Bundan dolayı çevreye ve doğadaki canlılara ve insanlara zarar verirler [6, 7]. Dolayısıyla çevreye verilmeden önce atık sulardan giderilmesi önemlidir. Bu boyar maddelerden en çok bilineni çalışmada da kullanılan Metil mavisi (MM)'dir. MM kimyadan biyolojiye birçok alanda halen kullanılmaktadır. Antiseptik olarak ya da iplik, kumaş gibi malzemelerin boyanmasında kullanılmaktadır. Metil mavisi kusma, terleme, zihinsel sıkıntılar gibi ciddi rahatsızlıkları ortaya çıkarmaktadır [8]. Adsorpsiyon ile boyar madde gideriminde prosesi etkileyen birçok etken vardır. Bunlar arasında konsantrasyon, adsorbent miktarı, boyar maddenin başlangıç konsantrasyonu, sıcaklık, pH, karıştırma hızı gibi faktörler gelmektedir [9, 10]. Bu faktörlerin etkisini değerlendirirken birçok deney yapılması gerekir. Bir optimizasyon tekniği kullanıldığında ise yapılan deney sayısı azalmaktadır. Dolayısıyla daha az deney yaparak parametrelerin etkisi incelenebilir ve parametreler optimize edilebilir. Bu optimizasyon metodlarından biri de bu çalışmada kullanılan Taguchi tekniğidir. Taguchi tekniği parametreleri tasarlayarak ve optimum seviyede planlayarak ürün kalitesini artıran bir tekniktir [11]. Bu teknikte elde edilen veriler Sinyal/Gürültü oranına dönüştürülerek parametrelerin optimum seviyeleri belirlenir [12, 13]. Mevcut çalışmada sıcaklık, başlangıç konsantrasyonu ve adsorbent miktarı MM giderimini etkileyen en belirgin parametreler seçilmiştir. pH' da önemli bir parametre olmasına rağmen metil mavisinin güçlü bir katyonik boyar madde olmasından dolayı parametre dizaynında kullanılmamıştır. Bu parametrelerin optimum seviyeleri Taguchi deney tasarımı kullanılarak bulunmuştur. Daha sonra varyans analizi (ANOVA) yapılarak prosesi etkileyen parametrelerin önem sırası belirlenmiştir.

Materyal ve Metot

Adsorbent, Adsorbat ve Deneyin Yapılışı

Kil Kars çimento fabrikasından temin edilmiş, saf suyla yıkanıp 105 °C’ de bir gün boyunca kurutulup sonra optimizasyon deneylerinde kullanılmıştır. Kilin karakterizasyonu ile ilgili bilgiler (kimyasal kompozisyonu, FT-IR (Bruker VERTEX 70 V, 4000-400 cm⁻¹), BET, SEM (Zeiss Sigma 300, çözünürlük: 1.2 nm (15kV)- 2.2 nm (1kV), maksimum tarama hızı: 100 ns/piksel, büyütme oranı: 10x – 1.000.000x) [14]’de rapor edilmiştir. Metil mavisinin (CAS:61-73-4, C.I:52015) molekül ağırlığı 320 g/mol, kimyasal formülü C₁₆H₁₈ClN₃S, dalga boyu 665 nm’dir. Deney tasarımında belirlenen konsantrasyonlarda MM çözeltisi hazırlanmıştır. Belli adsorbent miktarları eklenerek sıcaklık kontrollü çalkalayıcılarda 180 rpm’de 1 saat deneyler gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyondan sonra numune 10 dk 5000 rpm’ de santrifüjlenmiş, spektrofotometre (MAPADA – V1100D UV) yardımı ile MM konsantrasyonları (1) ve (2)’ den hesaplanmıştır;

$$\%Giderim = \frac{C_o - C_e}{C_o} \times 100 \quad (1)$$

$$q_t = \frac{(C_o - C_t) \times V}{m} \quad (2)$$

Burada q_t birim adsorbent başına adsorplanan boyar madde miktarı, C_o, C_e ve C_t (mg/L) sırasıyla MM’ nin başlangıçtaki konsantrasyonu ve denge anındaki ve herhangi bir andaki boyar madde konsantrasyonu ve V çözelti hacmi (L), m ise adsorbent miktarıdır (g).

Deney Tasarımı

Etkili bir istatistiksel analiz yapabilmek için gerekli verileri toplayabileceğimiz, deneysel metotları düzenleyebileceğimiz deney tasarımları gerekmektedir. Deney tasarımı ile nispeten az sayıda deney yaparak optimum koşulları belirleyeceğimiz güçlü bir araçtır [15]. Taguchi metodu da yaygın olarak kullanılan deney tasarımı metotlarından biridir. Bu teknikte ilk olarak cevap değişkeni belirlenir, ikinci adımda cevap değişkenini etkileyecek faktörler belirlenir ve sonraki adımda faktörlerin seviyelerinin cevap değişkenine etkileri test edilir [16]. Daha sonra da faktörlerin optimum seviyeleri bulunur. Ortogonal bir dizi ile tüm parametreler analiz edilmiş olur. Bu çalışmada giderim verimi ve adsorbent başına en çok giderim miktarı incelendiğinden Taguchi analiz metodunda “en büyük en iyi” karakteristik hesaplaması dikkate alınmıştır [17]. Bu hesaplama (3)’de verilmiştir;

$$S/N = -10 \log\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2}\right) \quad (3)$$

y_i, performans karakteristik değeri, n tekrar sayısı ANOVA analizi ise faktörlerin görece önemini tahmin etmemizi sağlar. ANOVA tablosunda serbestlik derecesi (SD), kareler toplamı, varyans ve katkının yüzdesi görülür [18]. En yüksek yüzdesel katkıya sahip olan faktör cevap değişkenini görece en çok etkileyen faktördür [19]. P değeri ise sıfır hipotezine karşı kanıtı temsil eden bir göstergedir. Yani P

değeri 0.05'den küçük ise faktörler ile cevap değişkeni arasında bir istatistiksel ilişkinin var olduğu söylenir [20]. Çalışmada üç parametrelili üç seviyeli L_9 ortogonal tasarım matrisi kullanılmıştır. Bu parametreler ve seviyeleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablo 2'de ise tasarım matrisi 1. ve 2. tekrar deneylerine ait yüzdesel giderim ve q_t değerleri verilmiştir. Parametrelerin optimizasyonu ve ANOVA analizleri "Minitab 20" programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 1. Temel parametreler ve seviyeleri

Parametre	Seviyeler		
	1	2	3
A. Sıcaklık (°C)	20	25	30
B. Kons. (mg/L)	80	120	160
C. Ads.Miktarı (g)	0.04	0.08	0.12

Bulgular ve Tartışma

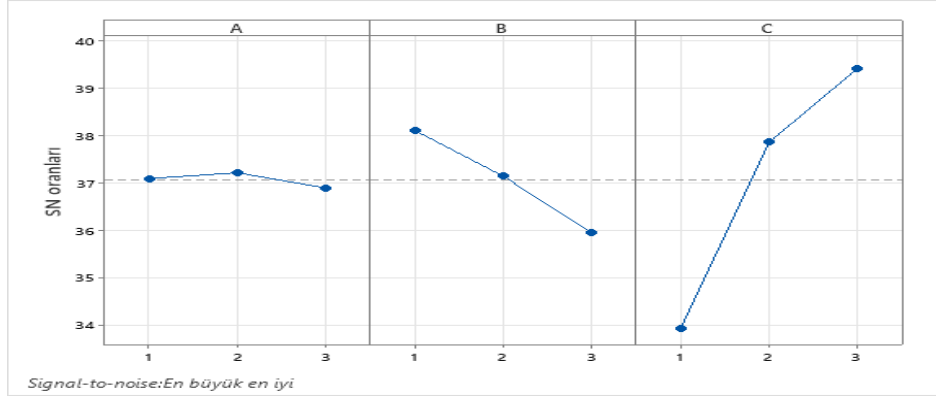
Parametre Optimizasyonu ve ANOVA analizi

Tablo 2'deki değerler kullanılarak hem %Giderim hem de q_t değerlerine göre optimum parametreler belirlenmiş ve Şekil 1'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Tasarım matrisi, %Giderim ve q_t değerleri

Deney No	Sıcaklık	Konsan.	Ads. Mik.	%Giderim	%Giderim	q_t (mg/g)	q_t (mg/g)
1	1	1	1	51.67	62.43	51.67	62.43
2	1	2	2	70.17	81.80	52.63	61.35
3	1	3	3	84.94	87.65	56.63	58.43
4	2	1	2	93.66	93.66	46.83	46.83
5	2	2	3	95.54	96.85	47.77	48.42
6	2	3	1	43.19	41.47	86.39	82.94
7	3	1	3	98.40	98.51	32.80	32.83
8	3	2	1	48.22	55.02	72.34	82.54
9	3	3	2	74.07	75.41	74.07	75.41

Şekil 1'de parametrelerin seviyeleri incelendiğinde sıcaklık %Giderim verimi üzerine etkisinin olmadığı görülmektedir. İkinci değişken olan konsantrasyonun birinci seviyesi %Giderim için optimum seviyedir. Adsorbent miktarının ise üçüncü seviyesi optimum seviyeleri olarak görülmektedir.



Şekil 1. %Giderim S/N oranları ana etkileri

Bu durumda sıcaklık 20°C, konsantrasyon 80 mg/L, adsorbent miktarı 0.12 g olarak optimum seviyeler seçilmiştir. Parametreler ve seviyeleri A1B1C3 şeklinde kodlanarak ifade edilmiştir. Tablo 3'te ise parametrelerin etkinlik değerleri verilmiştir.

Tablo 3. Parametrelerin etkinlik değerleri

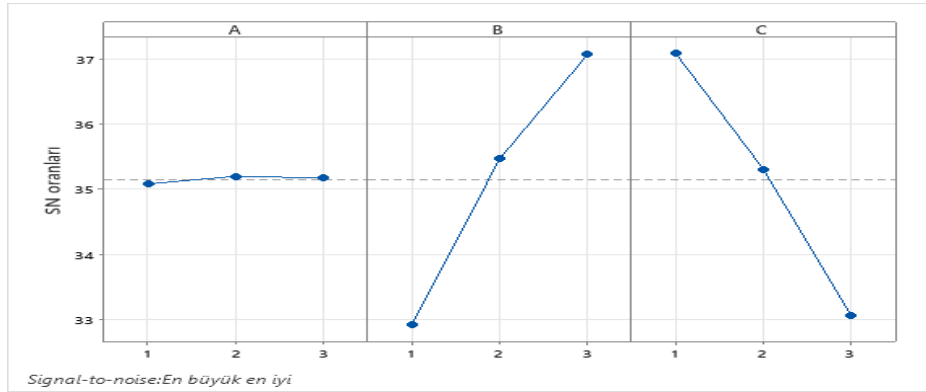
Seviyeler	A (Sıcaklık)	B (Başlangıç kons.)	C (Ads. Miktarı)
1	37.08	38.10	33.91
2	37.20	37.13	37.85
3	36.88	35.94	39.41

Tablo 4'de her bir parametrenin varyansını toplam varyans ile karşılaştırarak %Giderim üzerine ne kadar etkili olduğunu gösteren ANOVA analizi verilmiştir. %95 güven aralığında kritik F değeri ($F_{0,05;2;17}$) =3.59 olarak okunmuştur. Parametrelere ait F değerleri ile karşılaştırıldığında sıcaklık için F değerinin (1.3) kritik F değerinden küçük olduğu görülmektedir. Dolayısıyla adsorpsiyon üzerine etkisinin olmadığı söylenebilir. Konsantrasyon F değeri 16.41 olarak hesaplanmıştır. 3.59'dan büyük olmasından dolayı konsantrasyon adsorpsiyon üzerinde etkilidir denir. Adsorbent miktarı için ise F değeri 139.95'dir. 3.59'dan büyük olmasının yanı sıra en büyük F değerine sahiptir. Dolayısıyla F değeri en büyük olan adsorbent miktarı en büyük katkıyı yapmaktadır. P değerlerinin 0.5'den küçük olması seçilen parametrelerin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. Metil mavisinin %Giderim için ANOVA analizi

Parametre	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Ortalama Kareler Toplamı	F değeri	P
Sıcaklık	2	55.5	27.8	1.30	0.312
Konsantrasyon	2	702	301	16.41	0.000
Ads. Miktarı	2	5987.4	2993.7	139.95	0.000
Hata	11	235.3	21.4		
Toplam	17	6980.2			

Tablo 4'te incelendiğinde çıkan bu sonuçlardan %Giderim üzerine en büyük etkiyi adsorbent miktarının yaptığı daha sonra ise metil mavisi konsantrasyonunun geldiği anlaşılmaktadır. Bu durum şöyle açıklanabilir. Yüzesel olarak yüksek bir verim için düşük konsantrasyon ve yüksek adsorbent miktarı ile elde edilebilir. Konsantrasyon azaldıkça boyar maddenin temas etkileşimde olduğu adsorbent yüzeyindeki aktif siteler daha fazla olacak ve daha fazla boyar madde adsorplanacaktır [21]. Adsorbent miktarı arttıkça hem yüzey alanı hem de aktif sitelerin sayısı attığı için daha fazla boyar madde giderilecektir [22]. Eğer daha fazla boyar maddenin miktar olarak adsorplanması istenirse optimizasyon q_t değerleri üzerinden bir daha incelenmelidir. Bu durum için yapılan Taguchi analiziyle ilgili S/N oranlarına ait görsel Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. q_t değerleriyle hesaplanan S/N oranları ana etkileri

Şekil 2'den optimum parametre seviyeleri A1B3C1 olarak görülmektedir. Yani sıcaklık 20°C, konsantrasyon 160 mg/L, adsorbent miktarı 0.04 g 'dır. Tablo 5'de parametrelerin etkinlik değerleri ve Tablo 6'da ise ANOVA analizi verilmiştir.

Tablo 5. Parametrelerin etkinlik değerleri

Seviyeler	A (Sıcaklık)	B (Başlangıç kons.)	C (Ads. Miktarı)
1	35.08	32.91	37.09
2	35.20	35.47	35.31
3	35.17	37.07	33.05

Tablo 6. Metil mavisi adsorpsiyonu q_t değerleri için ANOVA analizi

Parametre	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Ortalama Kareler Toplamı	F değeri	P
Sıcaklık	2	60.85	30.43	1.90	0.195
Konsantrasyon	2	2160.76	1080.38	67.56	0.000
Ads. Miktarı	2	2171.62	1085.81	67.90	0.000
Hata	11	175.91	15.99		
Toplam	17	4569.15			

ANOVA tablosu (Tablo 6) incelendiğinde, sıcaklığın F değeri (1.90) kritik F değerinden küçük, konsantrasyon ($F=67.56$) ve adsorbent miktarının ($F=67.90$) ise kritik F değerinden büyük olduğu görülmektedir. Bu durumda birim adsorbent miktarı başına adsorplanan MM miktarında konsantrasyon ve adsorbent miktarının etkili olduğu, sıcaklığın ise etkisiz olduğu sonucuna varılır. Burada dikkat edilirse konsantrasyon ve adsorbent miktarının F değerleri birbirine oldukça yakındır. Bu da cevap değişkeni (q_t) için neredeyse eşit derecede etkilediği görülür. Bu durum şöyle açıklanabilir. Metil mavisinin kil yüzeyindeki aktif sitelere ulaşmasında itici güç konsantrasyon farkıdır [23]. Konsantrasyon ne kadar artarsa kile nüfus eden metil mavisini miktarı da o kadar fazla olur [24]. Ayrıca adsorbent miktarının azalması bu itici gücü daha da artıracaktır [25]. Ayrıca adsorbent miktarı arttıkça topraklanmalar ve birikmeler olabilir bu da metil mavisinin temas edeceği ara yüzeyleri azaltır. Bu sebeple adsorplanan MM miktarında azalma görülür [26]. Aşağıda Tablo 7’de MM bazı adsorbentler ile adsorpsiyonunda Taguchi metodunun kullanıldığı çalışmalar verilmiştir.

Tablo 7. Metil mavisini adsorpsiyonu ile ilgili yapılan bazı çalışmalar

Adsorbent	Parametreler ve Optimum şartlar	%Giderim	Refereans
Poli(vinil alkol)/Montmorillonite Nanokompozit Hidrojel	Ağırlıkça adsorbent yüzdesi :%4 Sıcaklık: 50°C pH:9 Konsantrasyon:10 mol/L	%94	[27]
Volkanik tüften sentezlenen silika kserojel	Temas süresi: 60 dk MM konsantrasyonu: 20 mg/L Adsorbent miktarı:0.0016 g mL ⁻¹ Sıcaklık:40°C pH:5	%96.18	[28]
Polietilen Nanofiber-Çok Karbon Kompozit	Tereftalat Duvarlı Nanotüp pH:8, Konsantrasyon: 20 mg/L Adsorbent miktarı: 0.008 g Temas süresi:120 dk	%94.78	[29]
Acacia talaşından elde edilen aktif karbon	Nilotica elde edilen Adsorbent miktarı:0.25g Konsantrasyonu:300 mg/L Sıcaklık: 40°C Temas süresi: 90 dk	%95.4	[30]
Kil (Kars bölgesinden elde edilen kil)	Sıcaklık: 20°C Adsorbent miktarı:0.12g, MM konsantrasyonu: 80 mg/L	%98.6	Bu çalışma

Tablo 7’de optimizasyon şartları incelendiğinde öncelikle giderim verimleri yüzdesel olarak birbirlerine yakındır. Metil mavinin yaklaşık olarak %95’i adsorplanmıştır. Ayrıca adsorbentlerin hazırlanması, sentezlenmesi kille karşılaştırıldığında maliyetli ve zaman alıcıdır. Ayrıca optimum sıcaklık seviyeleri karşılaştırıldığında 40 ve 50°C gibi yüksek sıcaklıklar görülmektedir. Dolayısıyla enerji maliyetini de artırmaktadır. Kil için ise sıcaklık 20°C’dir. Bu anlamda hem verim hem adsorbentin bulunabilirliği, hazırlanışı hem miktarı hem de harcanan enerji maliyeti açısından oldukça avantajlı bir durumdur.

Sonuç

Metil mavisinin ucuz bir adsorbent olan kil üzerine adsorpsiyonu için sıcaklık, boyar madde konsantrasyonu ve adsorbent miktarı parametreleri Taguchi metodu ile optimize edilmiştir. Ayrıca parametrelerin etkisini görebilmek için ANOVA analizi yapılmıştır. Bu durumda hem %Giderim hem q_t değerleri için sıcaklık etkisiz olarak görülmüştür. Bu sebeple sıcaklık için en düşük değer 20°C olarak seçilmiştir. %Giderim için en uygun parametre seviyeleri sıcaklığın birinci seviyesi 20°C, konsantrasyonun birinci seviyesi 80 mg/L ve adsorbent miktarının üçüncü seviyesi 0.12 g olarak bulunmuştur. Bu şartlarda yapılan doğrulama deneyinde metil mavisi boyar maddesinin %98.6'sı giderilmiştir. q_t değerleri için ise optimum seviyeler yine sıcaklığın birinci (20°C), konsantrasyonun üçüncü (160 mg/L) ve adsorbent miktarının birinci seviyesi (0.04 g) olarak belirlenmiştir. Bu şartlarda yapılan doğrulama deneyinde $q_t=87.33$ mg/g olarak bulunmuştur. ANOVA analizlerinde ise %Giderim için sıcaklık etkisiz, adsorbent miktarı en çok etkiyi daha sonra da metil mavisi konsantrasyonu etkili olduğu, q_t değerleri için ise sıcaklığın etkisiz ve adsorbent miktarı ve metil mavisi konsantrasyonunun yaklaşık aynı oranda adsorpsiyon üzerine etkili olduğu görülmüştür. Kars bölgesinde elde edilen bu kilin metil mavisi adsorpsiyonu değerlendirilmiş, adsorpsiyonda sıcaklık etkisinin az olması enerji ihtiyacını azaltmıştır. Bu nedenle metil mavisi adsorpsiyonunda adsorbent olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür -

Fon/Finansman bilgileri Herhangi bir kurum ve/veya kuruluş tarafından desteklenmemiştir.

Etik Kurul Onayı ve İzinler Çalışma, etik kurul izni ve herhangi bir özel izin gerektirmemektedir.

Çıkar çatışmaları/Çatışan çıkarlar Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Yazarların Katkısı Yazar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

Kaynaklar

- [1] Lacin, O., Haghghatnia, A., Demir, F., & Sevim, F. (2019). Adsorption characteristics and behaviors of natural red clay for removal of by28 from aqueous solutions. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, 3(2), 1037–1047. <https://doi.org/10.31142/ijtsrd21544>
- [2] Balçık Canbolat, Ç., & Özbey, B. (2021). Sulu çözeltilerden organik boyaların giderimi için sellüloz nanokristal katkılı aljinat adsorbanın geliştirilmesi ve boya giderim veriminin araştırılması. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 10(1), 300–308. <https://doi.org/10.29130/dubited.801179>
- [3] Manna, S., Roy, D., Saha, P., Gopakumar, D., & Thomas, S. (2017). Rapid methylene blue adsorption using modified lignocellulosic materials. *Process Safety and Environmental Protection*, 107, 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.03.008>
- [4] Sevim, F., Lacin, O., Ediz, E. F., & Demir, F. (2021). Adsorption capacity, isotherm, kinetic, and thermodynamic studies on adsorption behavior of malachite green onto natural red clay. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 40(1), e13471. <https://doi.org/10.1002/ep.13471>

- [5] Mouni, L., Belkhiri, L., Bollinger, J.-C., Bouzaza, A., Assadi, A., Tirri, A., & Remini, H. (2018). Removal of Methylene Blue from aqueous solutions by adsorption on Kaolin: Kinetic and equilibrium studies. *Applied Clay Science*, 153, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.11.034>
- [6] Namal, O. O., & Kalipci, E. (2019). Adsorption kinetics of methylene blue using alkali and microwave-modified apricot stones. *Separation Science and Technology*, 54(11), 1722–1738. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1541469>
- [7] Patra, B. R., Mukherjee, A., Nanda, S., & Dalai, A. K. (2021). Biochar production, activation and adsorptive applications: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(3), 2237–2259. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01165-9>
- [8] Solisio, C., & Aliakbarian, B. (2017). Methylene blue adsorption using chabazite: Kinetics and equilibrium modelling. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 95(9), 1760–1767. <https://doi.org/10.1002/cjce.22838>
- [9] Li, J., Cai, J., Zhong, L., Cheng, H., Wang, H., & Ma, Q. (2019). Adsorption of reactive red 136 onto chitosan/montmorillonite intercalated composite from aqueous solution. *Applied Clay Science*, 167, 9–22. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.10.003>
- [10] Zolgharnein, J., & Rastgordani, M. (2018). Optimization of simultaneous removal of binary mixture of indigo carmine and methyl orange dyes by cobalt hydroxide nano-particles through Taguchi method. *Journal of Molecular Liquids*, 262, 405–414. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.04.038>
- [11] Rezaei, H., Haghshenasfard, M., & Moheb, A. (2017). Optimization of dye adsorption using Fe₃O₄ nanoparticles encapsulated with alginate beads by Taguchi method. *Adsorption Science & Technology*, 35(1–2), 55–71. <https://doi.org/10.1177/0263617416667508>
- [12] Elizalde-González, M. P., & García-Díaz, L. E. (2010). Application of a Taguchi L16 orthogonal array for optimizing the removal of Acid Orange 8 using carbon with a low specific surface area. *Chemical Engineering Journal*, 163(1), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.07.040>
- [13] Patra, B. R., Nanda, S., Dalai, A. K., & Meda, V. (2021). Taguchi-based process optimization for activation of agro-food waste biochar and performance test for dye adsorption. *Chemosphere*, 285, 131531. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131531>
- [14] Kavcı, E. (2021). Adsorption of direct red 243 dye onto clay: kinetic study and isotherm analysis. *Desalination and Water Treatment*, 212, 452–461. <https://doi.org/10.5004/dwt.2021.26861>
- [15] Bilgin, A., & Ateş, E. (2021). Pb(II) Adsorption on Eastern Spruce Sawdust (Turkey) by applying Taguchi Method and adsorption isotherms. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(11), 470. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05410-x>
- [16] Moralı, U., Demiral, H., & Şensöz, S. (2018). Optimization of activated carbon production from sunflower seed extracted meal: Taguchi design of experiment approach and analysis of variance. *Journal of Cleaner Production*, 189, 602–611. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.04.084>
- [17] Yildiz, Y. Ş. (2008). Optimization of Bomaplex Red CR-L dye removal from aqueous solution by electrocoagulation using aluminum electrodes. *Journal of Hazardous Materials*, 153(1), 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.08.034>
- [18] Serencam, H., & Uçurum, M. (2019). Yeşil bayburt taşının adsorban olarak kullanılabilirliğinin istatistiksel deney tasarımı ile incelenmesi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 8(1), 352–361. <https://doi.org/10.28948/ngumuh.517139>

- [19] Karmakar, B., Dhawane, S. H., & Halder, G. (2018). Optimization of biodiesel production from castor oil by Taguchi design. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 2684–2695. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.04.019>
- [20] Santra, D., Joarder, R., & Sarkar, M. (2014). Taguchi design and equilibrium modeling for fluoride adsorption on cerium loaded cellulose nanocomposite bead. *Carbohydrate Polymers*, 111, 813–821. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.040>
- [21] Mahmoodi, N. M., Hayati, B., Arami, M., & Lan, C. (2011). Adsorption of textile dyes on Pine Cone from colored wastewater: Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies. *Desalination*, 268(1), 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.10.007>
- [22] Fernández-López, J. A., Angosto, J. M., Roca, M. J., & Doval Miñarro, M. (2019). Taguchi design-based enhancement of heavy metals bioremoval by agroindustrial waste biomass from artichoke. *Science of the Total Environment*, 653, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.343>
- [23] Rahmani, M., Kaykhani, M., & Sasani, M. (2018). Application of Taguchi L16 design method for comparative study of ability of 3A zeolite in removal of Rhodamine B and Malachite green from environmental water samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 188, 164–169. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.06.070>
- [24] Yusuff, A. S., Ajayi, O. A., & Popoola, L. T. (2021). Application of Taguchi design approach to parametric optimization of adsorption of crystal violet dye by activated carbon from poultry litter. *Scientific African*, 13, e00850. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00850>
- [25] Korake, S. R., & Jadhao, P. D. (2021). Investigation of Taguchi optimization, equilibrium isotherms, and kinetic modeling for cadmium adsorption onto deposited silt. *Heliyon*, 7(1), e05755. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05755>
- [26] Salleh, M. A. M., Mahmoud, D. K., Karim, W. A. W. A., & Idris, A. (2011). Cationic and anionic dye adsorption by agricultural solid wastes: A comprehensive review. *Desalination*, 280(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.07.019>
- [27] Roufegari-Nejhad, E., Sirousazar, M., Abbasi-Chiyaneh, V., & Kheiri, F. (2019). Removal of Methylene Blue from Aqueous Solutions Using Poly(vinyl alcohol)/Montmorillonite Nanocomposite Hydrogels: Taguchi Optimization. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(10), 2239–2249. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01514-y>
- [28] Guzel Kaya, G., Yilmaz, E., & Deveci, H. (2019). A novel silica xerogel synthesized from volcanic tuff as an adsorbent for high-efficient removal of methylene blue: parameter optimization using Taguchi experimental design. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(8), 2729–2737. <https://doi.org/10.1002/jctb.6089>
- [29] Essa, W. K., Yasin, S. A., Abdullah, A. H., Thalji, M. R., Saeed, I. A., Assiri, M. A., Ali, G. A. M. (2022). Taguchi L25 (54) Approach for Methylene Blue Removal by Polyethylene Terephthalate Nanofiber-Multi-Walled Carbon Nanotube Composite. *Water*, 14(8), 1242. <https://doi.org/10.3390/w14081242>
- [30] Gupta, T. B., & Lataye, D. H. (2018). Adsorption of indigo carmine and methylene blue dye: Taguchi's design of experiment to optimize removal efficiency. *Sādhanā*, 43(10), 170. <https://doi.org/10.1007/s12046-0>



The Effect of Temperature and Nutrient on Developmental Biology and Physiology of Stored-Product Species of Coleoptera

Evrım SÖNMEZ¹

How to cite: Sönmez, E. (2022). The Effect of Temperature and Nutrient on Developmental Biology and Physiology of Stored-Product Species of Coleoptera. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 81-101. <https://doi.org/10.33484/sinopfbid.1054223>

Review

Corresponding author

Evrım SÖNMEZ
esonmez@sinop.edu.tr

ORCID of the author

E.S: 0000-0002-5412-5728

Received:06.01.2022

Accepted:17.05.2022

Abstract

Insect pests of stored crops damage agricultural products in the fields or warehouses and cause crop loss. For this reason, it is of great importance to protect the products in warehouses after harvest. Many chemical control methods are being researched to prevent the damage they cause to the stored product. As the negative effects of these chemicals used in recent years on the environment and living things have been understood, different methods have been started to be developed. Because insects adapt to the environment very quickly, they develop more resistance to the chemicals used over time. For this reason, the biology and physiology of insects should be well known in the fight against insects. The better the biology and physiology of an insect are known, the more new methods can be developed in the integrated control methods of this insect. Insects are poikilothermic organisms. In other words, since they are organisms dependent on changes in environmental temperatures, temperature is very important in their development. Another factor affecting the biology and physiology of insects is nutrient. Temperature and food together can limit insect developmental stages. While high temperatures prolong the developmental stages, it can have the opposite effect in the adult period. Or insects feeding on poor quality nutrient can affect egg and adult size or cuticle development, as seen in some beetles. In this review study, the effects of temperature and nutrient on the biology and physiology of storage product pest Coleoptera were evaluated.

Keywords: Insects, carbohydrate, protein, lipid, food, storage pests, Coleoptera

Sıcaklık ve Besinin Coleoptera Takımına Bağlı Depolanmış Ürün Zararlısı Türlerin Gelişim Biyolojisi ve Fizyolojisine Etkisi

¹Sinop University, Education Faculty,
Science Teaching, Sinop, Turkey

Bu çalışma Creative Commons Attribution 4.0 International License ile lisanslanmıştır

Öz

Depolanmış ürün zararlısı böcekler, tarlalarda veya depolarda tarımsal ürünlere zarar vermekte ve ürün kaybına neden olmaktadır. Bu nedenle ürünlerin hasat edilmesinden sonra depolarda korunması büyük önem taşımaktadır. Depolanmış ürüne verdikleri zararı önlemek için bir çok kimyasal mücadele yöntemi araştırılmaktadır. Son yıllarda kullanılan bu kimyasalların çevreye ve canlılara olumsuz etkileri anlaşıldıkça farklı yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Böcekler çevreye çok hızlı adapte olmaları nedeniyle kullanılan kimyasallara zamanla daha çok direnç geliştirmektedirler. Bu nedenle böcekler ile yapılacak mücadelede böceklerin biyolojisi ve fizyolojisi iyi bilinmelidir. Bir

böceğin biyolojisi ve fizyolojisi ne kadar iyi bilinirse bu böceklerle yapılacak entegre mücadelede yeni yöntemler geliştirilebilir. Böcekler poikliotermik canlılardır. Yani çevre sıcaklıklarındaki değişikliklere bağımlı canlılar oldukları için sıcaklık, gelişimlerinde oldukça önemlidir. Böceklerin biyoloji ve fizyolojisini etkileyen diğer bir faktör ise besindir. Sıcaklık ve besin, birlikte böceğin gelişim aşamalarını sınırlayabilir. Yüksek sıcaklıklar gelişim aşamalarını uzatırken ergin dönemlerinde tam tersi etki yapabilir. Ya da kalitesiz besinlerle beslenen böcekler bazı kınkanatlılarda görüldüğü gibi yumurta ve ergin büyüklüğü veya kutikula gelişimini etkileyebilir. Bu derleme çalışmasında sıcaklığın ve besinin depo zararlısı kınkanatlıların biyolojisi ve fizyolojisi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Böcekler, karbohidrat, protein, lipid, besin, depolanmış ürün zararlıları, Coleoptera

Introduction

Grains are the leading agricultural products that contribute economically all over the world. Agricultural products are stored in warehouses or silos before being delivered to the final consumer. The preservation of agricultural products in warehouses is an economically very important problem. During the storage period, the stored products may be unprotected against many pests such as insects, microorganisms, mites and fungi. Most of the crops are destroyed due to these pests. Among these pests, insects are the ones that cause the most product loss. The reason for this, they pass the developmental stages such as larva and pupa inside the seed [1]. Insects cause damage such as loss of product weight, loss of shape, decrease in nutrient amount, decrease in germination power and contamination of seeds in plant seeds [2]. In developed countries, 5-10%, and in developing countries, approximately 30% are damaged in this way [3]. 145 species of stored product pests belong to the order Coleoptera. This is followed by the order Lepidoptera, Psocoptera and Hymenoptera [4, 5]. In Table 1, some stored product pest insect species of Coleoptera seen in the world and in our country are given.

Insects are poicliothermic organisms. Therefore, temperature is one of the most important environmental factors affecting their metabolism and physiology. Stored product pests generally prefer at an ambient temperature of 27-33 °C and a humidity of 65-70% r.h. They cause very high losses under specified optimum conditions [1]. Generally, insects are not active at storage temperature below +10 °C and humidity below 10-12%. Their metabolism slows down when the temperature drops below 25°C, they cannot be fed below 17°C and they usually die below 10°C [1, 6, 7].

Temperature and nutrition are important factors affecting insect physiology. Recently, there are so many studies that food can alter temperature-related fitness in insects. For example, food quality can alter the physiological and biochemical reactions necessary for insect fitness [8]. Understanding these complex relationships between temperature and nutrient may be important to understanding the nature of individual and population-based responses of insects to changing environmental temperatures under different nutrient conditions [8]. Carbohydrates, proteins and lipids are vital for all living organisms. Insects either obtain these substances they need for growth and development from their environment or

synthesize them through metabolic activities [9-11]. Insects can use these vital elements for growth, reproduction and development, as well as for pheromone synthesis etc. for communication purposes. Carbohydrates, one of these vital elements, serve as the primary energy source, while amino acids are found in the structure of enzymes that have a catalytic effect in cells. Lipids are a storage energy source. At the same time, they play a role in functions such as membrane permeability, egg production, pheromone synthesis [12-14].

Table 1. Some stored product pests from Coleoptera [5].

Species	Family: Order	Main Host
<i>Sitophilus ganarius</i> (Linnaeus, 1758)	Curculionidae: Coleoptera	Grain
<i>Sitophilus oryzae</i> (Linnaeus, 1763)	Curculionidae: Coleoptera	Grain
<i>Sitophilus zeamais</i> (Motschulsky, 1855)	Curculionidae: Coleoptera	Grain
<i>Sitona crinitus</i> (Herbst, 1795)	Curculionidae: Coleoptera	Grain
<i>Tribolium confusum</i> (Jacquelin du Val, 1863)	Tenebrionidae: Coleoptera	Grain
<i>Tribolium castaneum</i> (Herbst, 1797)	Tenebrionidae: Coleoptera	Grain
<i>Tenebrio molitor</i> (Linnaeus, 1758)	Tenebrionidae: Coleoptera	Grain
<i>Latheticus oryzae</i> (Waterhouse, 1880)	Tenebrionidae: Coleoptera	Grain
<i>Tenebriodes mauritanicus</i> (Linnaeus, 1758)	Ostomatidae: Coleoptera	Grain
<i>Rhyzopertha dominica</i> (Fabricius, 1792)	Bostrychidae: Coleoptera	Grain
<i>Trogoderma granarium</i> (Everts, 1898)	Dermeestidae: Coleoptera	Grain
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> (Linnaeus, 1758).	Silvanidae: Coleoptera	Grain, dry fruit
<i>Cryptolestes ferrugineus</i> (Stephens, 1831)	Cucujidae: Coleoptera	Grain
<i>Carpophilus hemipterus</i> (Linnaeus, 1758)	Carpophilidae: Coleoptera	Dry fig
<i>Lasioderma serricorne</i> (Fabricius, 1792)	Anobiidae: Coleoptera	Tobacco
<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say, 1831)	Bruchidae: Coleoptera	Grain
<i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabricius, 1775)	Bruchidae: Coleoptera	Grain

Chemical control is the most common method used to control stored product pests. But, in recent years, researchers have been trying to find environmentally friendly alternative methods due to the damage caused by chemicals to the environment and human/mammal health, as well as the resistance of insects to these chemicals. However, it is necessary to know the ecology, biology and physiology of the pests very well in order to find alternative methods and to protect the products. In this review study, the effects of temperature and food on the biology and physiology of storage pests from Coleoptera were evaluated. Understanding the effect of temperature and nutrient on the physiology of insects and evaluating their responses to changing environmental temperatures can enlighten on our strategies to fighting these insects.

The Effect of Temperature and Nutrients on Developmental Biology and Physiology of Insects Belonging to the Order Coleoptera in Stored Products

"Three temperature zones are defined for living organisms". "The first is the Optimum Zone, where the development and reproduction takes place at the maximum level, and the second is the Suboptimum Zone, which is below or above the optimum zone where the living organism can complete its life cycle but its biological activities are lower [15]". "The third is the Letal Zone, which causes the death of the living organism and is above or below the temperature values in the suboptimum zone [15]."

Temperature, humidity and nutrients are effective factors in the development and growth of insects. Generally, low temperatures and humidity prolong the development period in insects. High temperatures can have the opposite effect, while reducing growth rate and fecundity and increasing adult size [16, 17]. Temperature and nutrient are linked through the metabolism and energy requirements of insects [8]. Qualitatively and quantitatively insufficient nutrients prolong the development period, decrease the growth rate, adult size, fecundity, and cause some anatomical disorders in adults [9, 18, 19]. All ectotherms can change their nutrient preferences depending on the changing ambient temperature. This may be related to their physiological conditions, developmental stages or phylogeny [8]. Rho and Lee [8] determined the nutrient preferences of *Tenebrio molitor* Linnaeus 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) at different temperatures, stated that insects chose protein and carbohydrate equally at 25 and 30 °C, but only carbohydrates at 35 °C. Hashem et al. [20] conducted a study with *Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus 1758 (Coleoptera: Sivanidae) at different temperatures (20, 25, 30 and 35 °C) and different nutrients (rice, sesame and date palm). Adult emergence was affected by nutrient, especially temperature, and the performance of insects was determined best in rice and worst in date. Hussain et al. [21] raised *O. surinamensis* adults with six different nutrients: wheat germ, whole wheat flour, rice flour, corn flour, basbousa flour and wheat flour. Mean development times were the longest in corn flour (55.33 days) and rice flour (41.33 days). The shortest time was determined in wheat germ (30.33 days). While the maximum adult emergence was recorded as 69% with wheat germ, this value is minimum (zero) for wheat flour and basbousa. The highest weight loss was determined in wheat germ and corn flour. The growth index was highest in wheat germ and lowest in rice flour. From the results of the chemical analysis, the carbohydrates, total protein, potassium and magnesium contents of the nutrients are directly related to the nutrient preferences of the insects. Mohammadzadeh and Izadi [22] fed *Trogoderma granarium* Everts 1898 (Coleoptera: Dermestidae) with 9 different nutrients (barley, corn, millet, rice, rye, sorghum, triticale, wheat, peanut and walnut) and tested its resistance to cold. Insects reared on triticale had the shortest development time, the highest fecundity and fertility. Survival rates ranged from 40% to 87%, with the lowest values observed in peanuts. The highest larval energy reserve and trehalose level were determined in triticale and the lowest in sorghum. The supercooling point (SCP) of larvae reared on triticale was found to be -20.6 °C, significantly lower than other diets. While the larvae reared with triticale, rye, walnut and peanut withstand -5 and -10°C for 24 h, the mortality rate

was 100% in the 20°C/24 h group. These results show that larval nutrient quality can affect the biological and physiological properties, supercooling and cold hardness points of *T. granarium*.

Many insect larvae species show a stable development at optimum temperature. However, changes in optimum temperatures affect the insect's metabolism, reproductive capacity, feeding habits accordingly its distribution [23]. Howe and Currie [23] investigated the effects of temperature on the growth rate, mortality and oviposition of six stored product pests [*Acanthoscelides obtectus* Say 1831, *Callosobruchus maculatus* Fabricius 1775, *C. chinensis* Linnaeus 1758, *C. analis* Fabricius 1775, *C. rhodesianus* Pic 1902 (Coleoptera: Bruchidae) and *Zabrotes subfasciatus* Boheman 1833 (Coleoptera: Chrysomelidae)] and determined the optimum temperatures for each species. They determined that egg hatching in all species was 80% between 17.5 - 30°C, 70% between 15 and 35°C, and no eggs were hatched at 40 °C. The optimum temperature for the fastest development of eggs and larvae was 30 °C, while the adult emergence was very little at 15 °C and none at 35 °C. In addition, the development period and weight of females were higher than males, the heaviest individuals were determined at the lowest temperatures, and the weights decreased with increasing temperature. Omar and Mahmoud [24] determined that egg, larva, pupa and adult cycle for *Callosobruchus chinensis* were inversely proportional to temperature (16, 24 and 32 °C). The longest time required to complete their life cycle at 16 °C as 76.8 days. The optimum temperature for egg, larval and pupal development was determined as 32 °C. Adult survival times were significantly reduced by increasing the temperature from 16°C to 32°C. Also, the data showed that females lived longer than males at all temperatures. It was concluded that temperature significantly affected the pre-oviposition, oviposition and post-oviposition times in *C. chinensis*.

Temperature influences insects in many ways [25-28]. For example, while low temperatures increase larval development time and adult longevity in insects, high temperatures can have the opposite effect [25, 27]. Insects can tolerate temperature changes within certain limits by changing their metabolic activities, regulating their body temperatures or changing their microhabitats, although it varies according to the species [29, 30]. It is known that metabolic activities vary according to age, sex, temperature and nutrient type [27, 31]. The effects of temperature (20, 25 ve 30 °C) on the resistance of five different bean genotypes (Arc.1S, Arc.1, Arc.2, Arc.4 ve Carioca Pitoco) to *A. obtectus* infestation were investigated. The resistance of Arc.1, Arc.4 and Carioca pitoco genotypes decreased with temperature and the invasion rate of *A. obtectus* increased. The most suitable temperature for storage and the highest bean genotype resistance were at 20 °C [32]. Kpoviessi et al. [33] analyzed vicilin, α-amylase inhibitor, phenols, tannin, carbohydrates, flavonoids and protein in the cowpea genotypes in a study they conducted with *C. maculatus* and 6 genotypes of cowpea seeds. The most resistant genotypes had the highest phenol, carbohydrate and tannin content, while the most susceptible genotypes had the opposite. It was emphasized that there was a relationship between the biochemical content of cowpea seeds and the resistance parameters. Abdel-Hady et al. [34] exposed *Tribolium castaneum* Herbst 1797

(Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* Linnaeus 1763 (Coleoptera: Curculionidae), to temperature shock (42 °C for 60, 80, 100 min; 45 °C for 40, 60, 80 min; 48 °C for 15, 30, 45 min; 51 °C for 5, 10, 15 min, 54 °C for 2, 4, 6 min). In both species, life cycle and survival rates were decreased, pupa and recovery time were prolonged, larval period was shortened, food intake was significantly affected and differences in growth rates were detected.

In the study conducted with *C. maculatus* and *C. subinnotatus* Pic 1902 (Coleoptera: Chrysomelidae) oviposition, development and survival rates of these species, which were exposed to three different temperatures (40, 45 and 50 °C) in different time periods (1, 2, 4 and 6 hours), were investigated [35]. It was determined that the number of eggs laid and adults in both species decreased inversely with temperature and exposure time. Mortality rate was highest at 50 °C and *C. maculatus* was more sensitive to high temperature than the other species. In addition, there was no development in eggs exposed to 50 °C for 4 and 6 hours [35].

Generally, two types of behavior are observed in insects depending on the temperature change. First, as the temperature increases, the biological response of the insect increases and lasts until the death limit. Second, an increase in temperature increases the insect's biological response, but after a certain point this response decreases [36]. Johnson and Valero [37] found that when *C. maculatus* eggs, larvae, pupae and adults were exposed to -18 °C for time intervals (0, 80, 100 and 120 minutes), the highest tolerance to low temperature was in the egg stage and the lowest in adults. It had been reported that the mortality rates of *C. maculatus* and *A. obtectus* increased in direct proportion to the temperature, and *A. obtectus* had a higher tolerance to low temperature [38].

Changes in ambient temperature can alter the dispersal characteristics of insects and migratory routes, resulting in many pest control problems [36]. Stressful situations such as temperature changes or food shortages in the environment of insects play an important role in their physiological and biochemical reactions [16, 27, 28, 39]. When the temperature increase remains within certain limits, enzymatic activity affects positively [40]. However, extreme low or high temperatures directly affect their physiology and have a species-specific response to changing temperatures [25, 27, 28]. These responses may include migrating or changing the geographic location of insects to find places richer in nutrients, more normal temperatures, cannibalism, or early diapause. They regulate their metabolism with these reactions, and develop ecological adaptation by taking physiological and biochemical measures against stressful situations [41]. The amount of nutrients and temperatures that insects need during the larval, pupal and adult developmental stages may vary according to the species. In insects, nutrition [42], metabolism [30, 43], growth rate [28, 35, 43, 44], longevity [26, 45] and reproduction [43, 46] are affected by factors such as temperature and nutrients.

Chandrakantha et al. [42] conducted with different temperatures (20, 25, 30 ve 35 °C), different cowpea species (*Vigna unguiculata* (Linnaeus) Walp, *Phaseolus radiatus* (Linnaeus) R. Wilczek, *Dolichos lab lab* (Linnaeus) Sweet and *C. maculatus*. They determined as the temperature increased, the development

time of the adults was shortened and the oviposition decreased. The type of nutrient was effective in the development of larvae that spent their larval stage in cowpea seeds. Kistler [43] determined that mortality and metabolic rates, growth rates and fecundity of six Coleoptera species [*Stator generalis* Linnaeus 1758, *S. limbatus* Horn 1873, *S. pruininus* Horn 1873, *S. sordidus* Horn 1873 (Coleoptera: Bruchidae), *Mimosestes amicus* Horn 1873 and *Algarobius prosopis* LeConte 1858 (Coleoptera: Chrysomelidae)] increased with temperature (20-50 °C).

It has been reported that four different temperatures (25, 30, 35 and 40 °C) significantly affect development and oviposition in adults of *C. maculatus* and *C. subinnotatus* [46]. The number of eggs laid by *C. maculatus* adults increased in direct proportion to the temperature, and they laid the most eggs at 35 and 40 °C. *C. subinnotatus* adults laid the most eggs at 30 and 35 °C. Maximum egg development was at 30 °C, and the development time from egg to adult was twice as long at 25 °C [46]. Ferizli et al. [45] determined that *C. maculatus* larvae and eggs could not complete their development when exposed to -18 °C for 100 minutes or more, and they tolerate other time intervals (20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160 and 180 m, -18 °C).

Insects need a certain temperature as they move from one stage to another in their pre-adult developmental stages. Dupuis et al. [44] determined that the mortality rate of *A. obtectus* larvae, pupae and adults was 50% from the 6th day at 0 °C 1st and 2nd stage larvae live for 4 h at -10 °C, 6 h for larvae and pupae at other stages, and 16 h at -22 °C. Sönmez and Koç [47] determined that the longer the storage time at +4 °C, the longer the pupal time and the percentage of deformation of *T. molitor*. Similarly, Sönmez [48] found that the longer the storage time of larvae, the longer the pupal time and the higher the deformation percentage.

Carbohydrates

The types and amounts of basic nutrients needed by insects may vary depending on the species, developmental stages, and physiological conditions such as diapause or migration [49, 50]. Phytophage species belonging to Orthoptera, Coleoptera and Lepidoptera orders generally need equal amounts of protein, carbohydrates and amino acids, while grain pests or storage pests need more carbohydrates [51]. Legume seeds generally contain 20-25% protein, 1-2% fat and 37-50% carbohydrates [52].

Chippendale [53] investigated the effects of different nutrients (starch, dextrin, amylopectin, glycogen, amylose, cellulose, inulin, mono and disaccharides) on the longevity of *S. oryzae*. It was determined the survival rate and longevity of the group fed with polysaccharides were higher than the other group. Stillwell et al. [17] found that when *C. maculatus* larvae were raised in three different legume varieties (*Vigna radiate* (L.) Wilczek, *V. angularis* (Willd.) Ohwi & H. Ohashi, *V. unguiculata* (L.) Walp), the developmental period and the number of eggs laid by the adults varied according to the type of food used. In a study conducted with *S. oryzae* and *S. granarius*, it was determined that the total carbohydrate and lipid amounts in both species increased during the prepupa stage and then decreased [54]. It was

stated that the total protein amount increased linearly in the prepupal and adult stages and decreased in the pupal stage in *S. oryzae*, while it increased linearly in all developmental stages in the other species. Allali et al. [55] investigated the fecundities of females in *C. maculatus* reared on different hosts (*Phaseolus vulgaris* L., *Vigna unguiculata* (L.) Walp, *Cicer arietinum* L., *Vicia faba* L., *Pisum sativum* L.). They stated that the fecundity rates and emergence rates in *V. unguiculata*, *C. arietinum* and *P. vulgaris* were higher than other species not included in the nutrient spectrum. The seed surface and husk reduced the percentage of emergence from the seed and the development of surviving adults.

Nutrient is an important environmental factor in the survival of insects. The development, growth and reproduction of insects can be adversely affected and even die in nutrient deficiencies and long-term starvation conditions. However, insects can develop adaptations to nutrient stress, such as diapause, that help increase the amount of lipids or help maintain homeostasis and return the insect back to normal under suitable conditions [41]. Insects may enter diapause as larvae, pupae or adults in stressful situations such as a long winter. It was determined that there was not much difference between trehalose amounts of *Anthonomus grandis* Boheman 1843 (Coleoptera: Curculionidae) adults in diapause compared to non-diapause adults. Although the amount of trehalose was quite low in adults who were fasted for 12-20 hours, it was higher than those in diapause. Glycogen metabolic rate was found to be higher in non-diapause than diapause [56].

Carbohydrates are known to affect insect mortality rates, life cycle and reproductive activities [9, 53]. *A. grandis* fed with a diet containing 2.5% to 10% sucrose and 10% maltose, it was determined that the mortality rates of adults were lower in females fed 10% sucrose and males fed 10% maltose [57]. Glycogen, which is used as an energy reserve in insects, is usually stored in adipose tissue and flight muscles. The qualitative and quantitative composition of the insect's diet significantly affects the storage level of glycogen [58, 59]. When the blood sugar content of insects is low, glycogen is broken down, which raises the blood sugar level. All the sugars in their bodies are converted into glucose to provide ATP, an energy source and metabolic intermediate in living cells [41]. Sharma and Sharma [58] in their study with *C. maculatus* and *Z. subfasciatus*, found that *Z. subfasciatus* adults had more lipids, and that the glycogen amounts of the two species decreased depending on age. It was determined that when *Bruchidius uberatus* Fahraeus 1839 (Coleoptera: Bruchidae), a seed pest, was fed with different nutrients (1% sucrose, only water and control group), the group fed with 1% sucrose had a longer oviposition period than the other groups. The number of eggs laid, the number of hatched eggs, fecundity and longevity were found to be significantly higher [59]. In *Alphitobius diaperinus* Panzer 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), it has been stated that the number of eggs laid by females, development time, fecundity and egg size are affected by the type of nutrient used as a carbohydrate source (barley, maize, rice and white flour) [60].

The reason for high insect infestation in some nutrients may be due to the total carbohydrates, proteins, lipids and minerals contained in the nutrients. These basic nutrients contained in the food can affect the

larval development time, the number of eggs they lay, the rate of offspring and the longevity. El-Fouly et al. [61] studied the effects of eight different diets (standard insect rearing diet, wheat germ, oat grains, cumin seeds, maize, chamomile flowers, roselle flowers and fenugreek seeds) on the tobacco beetle *Lasioderma serricorne* Fabricius 1792 (Coleoptera: Ptinidae). The shortest larval period and the highest offspring rate were found in the standard insect rearing diet and wheat germ, while the shortest pupal period was found in the wheat germ. Stathers et al. [2] suggested that *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1855 (Coleoptera: Curculionidae) prefers to feed on the endosperm of maize, resulting in greater carbohydrate loss in seeds than protein. In contrast, *Prostephanus truncates* Horn 1878 (Coleoptera: Bostrichidae) depleted the germ and endosperm, causing an extreme reduction in the lipid, protein, iron and zinc grain content of maize. Insect infestation preferences vary with the content of infested nutrients, the type of grain, and the level of infestation.

Proteins

Insects can take the amino acids necessary for their growth and development directly from their food [62]. These amino acids are used in the synthesis of new proteins, enzymes, hormone receptors, neurotransmitters to be synthesized, as well as in activities such as morphogenesis, egg production and maturation of eggs [13, 51, 63]. Proteins and amino acids from food are also used to synthesize egg reserve nutrients materials. Insects fed on nutrients with insufficient protein content limit their reproduction, oviposition and egg hatching. In a study of *Bruchidius dorsalis* Fahraeus 1839 (Coleoptera: Bruchidae) females, it was found that when mated with well-fed males, they lay larger eggs than those mated with undernourished males [19]. With radioactive labeling studies, it has been determined that females in *A. obtectus* obtain the arginine and histidine amino acids they need for oocyte formation and development from the sperm after mating [64]. Velten et al. [65] stated that bean seeds rich in arseline amino acid affect the fecundity of *A. obtectus* females. It was determined that the development time of the larvae was significantly longer than those fed with arselin-free beans, the adults had lower body weights and lay fewer eggs. Yılmaz and Elmalı [66] found that different bean varieties affected the development and reproduction of *A. obtectus*. The larval developmental time, emergence time, longevity, adults weight, and larval mortality rate varied according to the bean variety. A relationship was determined between the duration of the larval period and the protein ratio.

Essential amino acids needed by insects vary according to insect species [51]. The amount of amino acids contained in insects can also vary according to different life stages, sex of the insects and physiological conditions at that time [62, 67]. *C. maculatus* has 20 amino acids in males, 14 in females and eggs, 13 in larvae and 17 in pupae. Alanine, proline, methionine, leucine, threonine and valine in males, alanine, cystine, proline, leucine and valine in females, alanine, proline and leucine in eggs, proline, leucine and valine in larvae, and proline, leucine, phenylalanine and valine in pupae were found. Isoleucine not detected at any developmental stage [67]. Duarte et al. [68] determined that

different amino acids were dominant in different developmental stages of *T. castaneum* (larva: valine, pupa: lysine, adult: histidine). They found larvae contained greater amounts of phosphorus, potassium, sulfur and zinc. Some amino acids are needed more in morphogenesis. Although each amino acid varies according to the species, it is used for the formation of different parts of the body. For example, in general, alanine and glycine play an important role in optimal growth, tyrosine in cuticle strength, and tryptophan in the synthesis of pigments [69, 70]. Andersen et al. [69] found that glycine in the adult cuticle of *T. molitor*, and alanine in the larval and pupal cuticle are the dominant amino acids. Dorsal abdomen was rich in apolar amino acids.

Insect species that do not feed in the adult stage or have a short life cycle, meet the necessary energy from the reserves they store in the egg or larval stage. On the other hand, since these energy reserves are not sufficient in species with a long adult life cycle, they usually meet the carbohydrates, proteins and lipids necessary for their vital activities from plant sap, nectar, pollen or host hemolymph [71]. Nectar feeding is common in some species of belonging to Diptera, Lepidoptera, Hymenoptera, and some Coleoptera orders [71, 72]. In some species in Coleoptera order which are storage pests, the energy they provide from the host in the egg or larval stages is very important since the adults are not usually fed. Although they are fed with carbohydrate-rich content, biochemical activities turn them into the substances they need. They must obtain essential amino acids or fatty acids from their hosts.

Changing environmental temperatures effect the amount and types of proteins and amino acids that insects contain. It was determined that *A. diaperinus* females raised at 28 °C had lower amounts of proline, asparagine and serine amino acids, and higher amounts of tyrosine and lysine than males. The total amount of amino acids was found to be higher in the group exposed to 10 °C than in the group exposed to 28 °C [63]. The amount of trehalose, proline, glutamic acid and lysine of *S. oryzae* and *Crystolestes ferrugineus* Stephens 1831 (Coleoptera: Laemophloeidae) was higher in cold hardness (between -10 and -20 °C), and tyrosine was lower [73]. Masoumi et al. [74] fed *C. maculatus* larvae with cowpea seeds treated with proline and trehalose (10, 20, and 40 mmol). They identified potential cryoprotectants effective in supercooling (-18.2 C) and cold hardness (24 h at 0, -5.0, -7.5, -10.0, and -12.5 °C). Feeding cowpea seeds treated with proline and trehalose at the larval stage did not affect their amount in adults. *C. maculatus* was not resistant to sub-zero temperatures. Sönmez and Gülel [75] stated that the total carbohydrate, lipid and protein contents of *A. obtectus* adults at 30 °C were higher than those at 20 °C.

Lipids

Most insects need lipids for sexual maturity and egg production [14, 76]. Insects can take lipids through nutrients or synthesize them from proteins and carbohydrates stored in the body through metabolic relationships. Therefore, their amount of carbohydrate and protein content affects the amount of lipids and fatty acids. Lipids consist of fatty acids and have important functions in living organisms [77-79].

They function as a storage and transport form of metabolic fuel in the body's energy production [14]. They are used as a primary energy source during periods of diapause or prolonged migration. Lipids and fatty acids form the structure of cell membranes and the cuticle. Fatty acids are used in the synthesis of pheromones, eicosanoids, waxes and fatty acid-derived hormones [14, 80]. It has been determined by many researchers that the amount and type of fatty acids in insects vary depending on the species, age, sex, developmental stage, tissue, nutrition, physiological conditions and environmental factors [31, 78, 81-83]. Among these environmental factors, temperature is the leading factor affecting their amount of lipids and fatty acids content [77]. It was determined that the total lipid amounts and percentages of *T. molitor* larvae kept in the cold (+4 °C) for 5, 10 and 15 days were higher than the control group, and a decreasing trend was observed kept for 20 days [84]. Sönmez et al. [85] in a study with *A. obtectus*, found that the fatty acid types contained in adult insects remained constant, but their amounts changed depending on age and sex. *A. obtectus* grown at three different temperatures (15, 20 and 30 °C) decreased the total lipid percentage and the total fatty acid increased depending on the temperature increase and sex [86]. Nietupski et al. [87] investigated the effects of surface lipids of different bean varieties on the growth, mortality and oviposition rates of *A. obtectus*. They stated that the rate of oviposition, the rate of dead larvae in the seed and the rate of adults vary according to bean varieties. When bean surface lipids were analyzed, they found wax esters, fatty acids, fatty acid esters, long chain primary alcohols, aldehydes, ketones, squalene and sterols.

In insects, the lipid content is generally higher in the larval stages than in the pupa and adult stages. Triacylglycerols form about 80% of the lipid content, and phospholipids 20% [88, 89]. Insects have high amounts of Omega-3, oleic, linoleic, linolenic acid, and palmitic acid [90-92]. On the other hand, they contain less saturated fatty acids. It has been determined that holometabol insects contain more lipids than proteins in larval stages compared to adults. Similarly, it has been observed in hemimetabol insects. This reason for this larvae store the energy necessary for pupal phase and metabolic activities [91]. Duarte et al. [68] larvae and pupae of *T. castaneum* contained high amounts of SFA (heptadecanoic and stearic acid) and PUFA (α -linolenic and linolenic acids), whereas MUFA was found in very small amounts on the contrary. The highest amount of hypogeic, palmitoleic and oleic acids were detected in adults.

Although the fatty acid types of insects are similar, the dominant fatty acids can be different according to the species. For example, palmitic and oleic acid were determined as dominant fatty acids in *S. oryzae* and *S. Zeamais* [93], oleic and palmitic acid in *C. maculatus* [94], *Dermestes maculatus* De Geer 1774 (Coleoptera: Dermestidae) [95] and *A. grandis* [96], and oleic, palmitic and linoleic acid in *Rhyzopertha dominica* Fabricius 1792 (Coleoptera: Bostrichidae) [97]. Although the number of dominant fatty acids in different species within the same order varies, the fact that oleic and palmitic acids are dominant in all studied species indicates an evolutionary relationship in fatty acid metabolism in insects. Golebiowski et al. [98] found that oleic, linolenic, palmitic, linoleic and stearic acids are present in the

cuticle of *A. obtectus*. Oleic and linolenic acid are dominant fatty acids. In studies with *T. molitor*, it was stated that palmitic and stearic acid in the ovaries of females, palmitic, oleic and linoleic acids in adipose tissue [99], palmitic acid in the cuticle [100] were dominant fatty acids. It is known that some of the energy substances needed in the adult stage of insects are met from the nutrient reserves stored in the egg or larval stage [70]. The energy content of newly matured *C. analis* adults was much higher due to the lipids stored in the larval stages and decreased with age [101]. Kurecka et al. [102] found that pupae of *A. diaperinus* contained significantly more protein while larvae more lipid. Females in insects contain higher amounts of lipids for egg production than males. They use most of the lipids for egg reserve nutrition during oogenesis [1, 76, 103]. Thus, they may have higher total lipid percentages than males, although it varies by species. Ximenes et al. [104] with radioactive labeling studies, found fatty acids were used in egg production in *C. maculatus* females, Nwanze et al. [94] found females contain more total lipids and triglycerides than males. It was determined that the total fatty acid amount in *A. grandis* adults was very low in the first four days of adult life and then increased with age [96], while the amount of lipids in the ovaries of *T. molitor* females increased during the first three days of adult life and then decreased [99]. It has been suggested that changes in fatty acid type and amount depending on age, sex and physiological conditions result from the synthesis of eicosanoids or hormones necessary for reproduction and egg laying. Lipids synthesized in adipose tissue during oogenesis are sent to the ovaries to be used in embryogenesis and stored there [14, 80]. It has been shown that oleic acid plays an important role in egg laying in females by detecting that the amount of oleic acid in the ovaries of *T. molitor* females increases during the sexual maturity period [99]. Changes in the amount of oleic acid may be due to the excessive use of oleic acid as a reserve nutrient in the egg in oogenesis or the synthesis of linoleic acid from oleic acid, as suggested by Renobales et al. [105] and Blomquist et al. [106]. Cohen and Levinson [107] suggested that lauric acid increases egg production in *D. maculatus*. Lambremont et al. [108] found that while the amount of monounsaturated fatty acids decreased during reproductive activities in *A. grandis*, the amount of polyunsaturated fatty acids increased.

Fatty acids are used for many different purposes in insects. Palmitoleic acid is used in the synthesis of pheromones in many insects [109, 110]. Meinwald and Eisner [111] and Smith and Gula [112] suggested that caprylic acid is used in defensive secretions in some insects. Cuticular lipids are used for gathering and communication activities in females of some species [98].

Linoleic and linolenic acids and their long-chain metabolites are precursors of eicosanoids, which play an important role in insect physiology. Eicosanoids affect reproduction, cellular immunity and thermoregulation [79, 109, 113]. Insects can convert 18 C polyunsaturated fatty acids to 20 C polyunsaturated fatty acids biochemically [79]. Since eicosanoids, which play an important role in insects, can be synthesized from different fatty acids, these fatty acids can be found in small amounts in insects. Studies have shown that the fatty acids from which eicosanoids are synthesized play an

important role as hormones, pheromones and defensive secretions in the immune mechanism and reproduction of insects [81].

Conclusion

In this review study, the physiological effects of temperature and nutrient storage pests are emphasized. In general, carbohydrate, protein and lipid requirements and the effects of these substances on the physiology of insects were evaluated. At the same time, it was evaluated how the temperature affects the protein, carbohydrate and lipid contents of these storage pests. Understanding the physiological and biological relationships in the fight against storage pests will contribute to integrated control methods.

Acknowledgments A part of this study was presented at the 14th International Conference of Strategic Research on Scientific Studies and Education and the 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences.

Funding/Financial Disclosure The author has no received any financial support for the research, authorship, or publication of this study.

Ethics Committee Approval and Permissions -

Conflict of Interests The author has no conflicts of interest to declare that are relevant to the content of this article.

Authors Contribution Article is single authored.

References

- [1] Ziegler, R., & Antwerpen, R. V. (2006). Lipid uptake by insect oocytes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36, 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2006.01.014>
- [2] Stathers, T. E., Arnold, S. E. J., Rumney, C. J., & Hopson, C. (2020). Measuring the nutritional cost of insect infestation of stored maize and cowpea. *Food Security*, 12, 285-308. <https://doi.org/10.1007/s12571-019-00997-w>
- [3] Ertürk, Ş., & Koçak E. (2017). Depolanmış hububatta zararlı böceklerle mücadelede moleküler yöntemlerin kullanım olanakları. *Academia Journal of Engineering and Applied Sciences, ICAE - IWCB 2017 Special Issue*, 78-87.
- [4] Schöller, M., & Prozell, S. (2014). Stored-product insects and their natural enemies in Germany: a species-inventory. *Integrated Protection of Stored Products*, 98, 27-34.
- [5] Zengin, E., & Karaca, İ. (2019). Determination of pest and natural enemies species and their distributions on stored wheat in Uşak Province. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(3), 738-742. <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.530218>
- [6] Öztürk, T., Kibar, H., & Esen, B. (2008). Silo flow profiles for grainy agricultural products and encountering problems in silos. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 61-67.
- [7] Kibar H., & Öztürk, T. (2010 May 27-29). *The causes of product losses emerging during storage and the solution suggestions* [Conferans presentation]. I. Ulusal Sulama ve Tarımsal Yapılar

Sempozyumu, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, Turkey. https://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=14161&tipi=2&sube=28

[8] Rho., M. S., & Lee, K. P. (2017). Temperature-driven plasticity in nutrient use and preference in an ectotherm. *Oecologia*, 185, 401–413. <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3959-4>

[9] Tomic-Carruthers, N. (2007). Development of a meridic diet for *Hylobius transversovittatus* (Coleoptera: Curculionidae) and the role of carbohydrates in feeding, growth, and survival of larvae. *Journal of Economic Entomology*, 100, 1062-1070. [https://doi.org/10.1603/0022-0493\(2007\)100\[1062:DOAMDF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2007)100[1062:DOAMDF]2.0.CO;2)

[10] Huck, D. T., Klein, M. S., & Meuti, M. E. (2021). Determining the effects of nutrition on the reproductive physiology of male mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*, 129, Article 104191. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104191>

[11] Öztürk, R. (2021). Ferula halophila ekstraktının *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın protein miktarı ve katalaz aktivitesi üzerine etkileri. *S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 47(1), 35-46. <https://doi.org/10.35238/sufefd.866619>

[12] Morgan, D. E. (2004). *Biosynthesis in insects*. The Royal Society of Chemistry, 200p., Cambridge, UK.

[13] Klowden, M. J. (2007). *Physiological Systems in Insects*, 688, Academic Press Elsevier, USA.

[14] Arrese, E. L., & Soulages, J. L. (2010). Insect fat body: energy, metabolism and regulation. *Annual Review Entomology*, 55, 207-225. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085356>

[15] Fields, P. G. (1992). The control of stored – product insects and mites with extreme temperatures. *Journal of Stored Product Research*, 28(2), 89-112. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(92\)90018-L](https://doi.org/10.1016/0022-474X(92)90018-L)

[16] Chen, L., Onagbola, E. O., & Fadamiro, H. Y. (2005). Effects of temperature, sugar availability, gender, mating and size on the longevity of phorid fly *Pseudacteon tricuspis*. *Environmental Entomology*, 34(2), 246-255. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(92\)90018-L](https://doi.org/10.1016/0022-474X(92)90018-L)

[17] Stillwell, R. C., Wallin, W. G., Hitchcock, L. J., & Fox, C. W. (2007). Phenotypic plasticity in a complex world: interactive effects of food and temperature on fitness components of a seed beetle. *Oecologia*, 153, 309-321. <https://doi.org/10.1007/s00442-007-0748-5>

[18] Moczek, A. P. (1998). Horn polyphenism in the beetle *Onthophagus taurus*: larval diet quality and plasticity in parental investment determine adult body size and male horn morphology. *Behavioral Ecology*, 9(6), 636-641. <https://doi.org/10.1093/beheco/9.6.636>

[19] Takakura, K. (2004). Variation in egg size within and among generation of the bean weevil, *Bruchidius dorsalis* (Coleoptera: Bruchidae): effects of host plant quality and paternal nutritional investment. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(2), 346-352. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2004\)097\[0346:VIESWA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2004)097[0346:VIESWA]2.0.CO;2)

[20] Hashem, A. S., Guedes, R. N. C., & Awadalla, H. S. (2021). Feeding substrate and temperature interplay determining infestations and losses by the sawtoothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis*). *Journal of Stored Products Research*, 94, Article 101887, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101887>

[21] Hussain, H. H. B., Zinhoum, R. A., & Kassem, E. M. K. (2020). Suitability of different types of food stuffs for mass rearing of rice moth, *Corcyra cephalonica* (stainton) and saw-toothed grain beetle,

Oryzaephilus surinamensis (L.) under laboratory conditions. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 98(2), 288-301. <https://doi.org/10.21608/EJAR.2020.120322>

[22] Mohammadzadeh, M., & Izadi, H. (2018). Different diets affecting biology, physiology and cold tolerance of *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research*, 76, 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.12.008>

[23] Howe, R. W., & Currie, J. E. (1964). Some laboratory observations on the rates of development, mortality and oviposition of several species of bruchidae breeding in stored pulses. *Bulletin Entomological Research*, 55, 437-477.

[24] Omar, Y. M., & Mahmoud, M. A. (2020). Effects of three constant temperature ranges to control *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae): a serious pest of pulses in Egypt. *International Journal of Tropical Insect Science*, 40, 1013-1020. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00159-y>

[25] Rathee, M., & Ram, P. (2018). Impact of cold storage on the performance of entomophagous insects: an overview. *Phytoparasitica*, 46(6), 4-32. <https://doi.org/10.1007/s12600-018-0683-5>

[26] Sasmita, H. I., Tu, W., Bong, L., & Neoh, K. (2019). Effects of larval diets and temperature regimes on life history traits, energy reserves and temperature tolerance of male *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): optimizing rearing techniques for the sterile insect programmes. *Vectors*, 12, 2-16. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3830-z>

[27] Scaccini, D., Vanishvili, L., Tirello, P., Walton, V. M., Duso, C., & Pozzebon, A. (2019). Lethal and sub-lethal effects of low-temperature exposures on *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) adults before and after overwintering. *Scientific Reports*, 10, 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72120-5>

[28] Mirzaeva, D. A., Khujamshukurov, N. A., Zokirov, B., Soxibov, B. O., & Kuchkarova, D. Kh. (2020). Influence of temperature and humidity on the development of *Tenebrio molitor* L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(4), 3544-3559. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.422>

[29] Gilbert, N., & Raworth, D. A. (1996). Insects and temperature – A general theory. *The Canadian Entomologist*, 128, 1-13. <https://doi.org/10.4039/Ent1281-1>

[30] Chown, S. L., & Nicolson, S. W. (2004). *Insect Physiological Ecology*, Oxford University Press Inc., 243p, New York.

[31] Jajić, I., Popović, A., Urošević, M. I., Krstović, S., Petrović, M., Guljaš, D., & Samardžić, M. (2020). Fatty and amino acid profile of mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.) *Biotechnology in Animal Husbandry*, 36(2), 167-180. <https://doi.org/10.2298/BAH2002167J>

[32] Baldin, E. L. L., & Lara, E. F. M. (2004). Effect of storage temperature and bean genotypes on the resistance to *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Neotropical Entomology*, 33(3), 365-369. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000300015>

[33] Kpoviessi, A. D., Agbahoungba, S., Agoyi, E. E., Nuwamanya, E., Assogbadjo, A. E., Chougourou, D. C., & Adoukonou-Sagbadja, H. (2021). Primary and secondary metabolite compounds in cowpea seeds resistant to the cowpea bruchid [*Callosobruchus maculatus* (F.)] in postharvest storage. *Journal of Stored Products Research*, 93, Article 101858, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101858>

- [34] Abdel-Hady, A. A. A., Ramadan, M. M., Lü, J., & Hashem, A. S. (2021). High-temperature shock consequences on the red flour beetle (*Tribolium castaneum*) and the rice weevil (*Sitophilus oryzae*). *Journal of Thermal Biology*, 100, Article 103062. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.103062>
- [35] Lale, N. E. S., & Vidal, S. (2003a). Simulation studies on the effects of solar heat on egg-laying, development and survival of *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Callosobruchus subinnotatus* (Pic) in stored bambara groundnut *Vigna subterranea* (L.) Verdcourt. *Journal of Stored Products Research*, 39(5), 447-458. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00034-0](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00034-0)
- [36] Akbulut, S. (2000). Küresel ısınmanın böcek populasyonları üzerine muhtemel etkileri. *Çevre Koruma Dergisi*, 9(36), 25-27.
- [37] Johnson, J. A., & Valero, K. A. (2003). Use of commercial freezers to control cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), in Organic Garbanzo Beans. *Journal of Economical Entomology*, 96(6), 1952-1957. <https://doi.org/10.1093/jee/96.6.1952>
- [38] Prasantha, B. D. R., Reichmuth, C., & Büttner, C. (2002, July 22-26). *Effect of temperature and relative humidity on diatomaceous earth treated Callosobruchus maculatus* (F.) and *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) [Conference presentation]. Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection. York, UK. <http://spiru.cgahr.ksu.edu/proj/iwcspp/iwcspp8.html>
- [39] Errico, S., Dimatteo, S., Moliterni, S., & Baldacchino, F. (2021). Effects of long-lasting cold storage on *Tenebrio molitor* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Insects as Food and Feed*, 3, 1-6. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0162>
- [40] Somero, N. G. (1995). Protein and temperature. *Annual Review of Physiology*, 57, 43-68. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.57.030195.000355>
- [41] Zhang, D. W., Xiao, Z. J., Zeng, B. P., Li, K., & Tang Y. L. (2019). Insect behavior and physiological adaptation mechanisms under starvation stress. *Frontiers in Physiology*, 10, 163, 1-8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00163>
- [42] Chandrakantha, J., Muthukrishnan, J., & Mathavan, S. (1987). Effect of temperature and host seed species on the fecundity of *Callosobruchus maculatus* (F.). *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Animal Science)*, 96(3), 221-227.
- [43] Kistler, R. A. (1982). Effects of temperature on six species of seed beetles (Coleoptera: Bruchidae): an ecological perspective. *Annals of the Entomological Society of America*, 75(3), 266-271. <https://doi.org/10.1093/aesa/75.3.266>
- [44] Dupuis, A. S., Fuzeau, B., & Fleurat-Lessard, F. (2006, October 15-18). *Feasibility of french beans disinfestation based on freezing intolerance of post-embryonic stages of Acanthoscelides obtectus* (Say)(Col.:Bruchidae) [Conference presentation]. 9. International Working Conference on Stored Product Protection. Sao Paulo, Brasil. <https://silo.tips/download/the-royal-palm-plaza-hotel-resort-campinas-sao-paulo-brazil>
- [45] Ferizli, A. G., Emekçi, M., Tutuncu, S., & Navarro, S. (2004). Utilization of freezing temperatures to control *Callosobruchus maculatus* Fabr. (Coleoptera: Bruchidae). *Integrated Protection of Stored Products*, 27(9), 213-217. <file:///C:/Users/casper/Downloads/Ferizli2004FreezingCmaculatusIOBC.pdf>
- [46] Lale, N. E. S., & Vidal, S. (2003b). Effect of constant temperature and humidity on oviposition and development of *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Callosobruchus subinnotatus* (Pic) on bambara

groundnut, *Vigna subterranea* (L.) Verdcourt. *Journal of Stored Product Research*, 39(5), 459-470. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00028-5](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00028-5)

[47] Sönmez, E., & Koç, Y. (2019). Effects of cold exposure on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupal period, proportion of adult emergence, weight and deformation percentage. *Entomologica Fennica*, 30(1), 43-48. <https://doi.org/10.33338/ef.79905>

[48] Sönmez, E. (2021a). Effects of cold storage on the developmental biology of *Tenebrio molitor* L., 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) at different larval stages. *Turkish Journal of Entomology*, 45(2), 259-268. <http://dx.doi.org/10.16970/entoted.855011>

[49] Banjo, A. D., Lawal, O. A., & Songonuga, E. A. (2006). The nutritional value of fourteen species of edible insects in Southwestern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 5(3), 298-301. <https://doi.org/10.5897/AJB05.250>

[50] Firidin, B., Yanar, O., & Yılmaz, H. (2013). Herbivor böceklerin besin dengeleme mekanizmaları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2), 103-105.

[51] Genç, H. (2006). General principles of insect nutritional ecology. *Trakya University Journal of Science*, 7(1), 53-57.

[52] Pekşen, E., & Artık, C. (2005). Antibesinsel maddeler ve yemelik tane baklagillerin besleyici değerleri. *Journal of Faculty of Agriculture*, 20(2), 110-120.

[53] Chippendale, G. M. (1972). Dietary carbohydrates: role in survival of the adult rice weevil, *Sitophilus oryzae*. *Journal of Insect Physiology*, 18(5), 949-957. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(72\)90032-7](https://doi.org/10.1016/0022-1910(72)90032-7)

[54] Singh, N. B., & Sinha, R. N. (1977). Carbohydrate, lipid and protein in the developmental stages of *Sitophilus oryzae* and *S. granarius* (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 70(1), 107-111. <https://doi.org/10.1093/aesa/70.1.107>

[55] Allali, A., Rezouki, S., Bouchelta, Y., Louaste, B., Nechad, I., Eloutassi, N., & Fadli, M. (2020). Effect of host seed species and seed coat on the biological parameters of *Callosobruchus maculatus*. *International Journal of Entomology Research*, 5(4), 40-43.

[56] Nettles, W. C., Parro, B., Sharbaugh, C., & Mangum, C. L. (1972). Trehalose and other carbohydrates in diapausing and starving boll weevils. *Annual of the Entomological Society of America*, 65(3), 554-558. <https://doi.org/10.1093/aesa/65.3.554>

[57] Haynes, J. (1985). Sterile boll weevils (Coleoptera: Curculionidae) fed 10% sugar diets: effect on longevity, mating, and flight. *Journal of Economic Entomology*, 78(4), 783-786.

[58] Sharma, S. P., & Sharma, G. (1980). Age-related glycogen changes in bruchids, mechanisms of ageing and development. *Mechanisms of Ageing and Development*, 13(4), 397-400. [https://doi.org/10.1016/0047-6374\(80\)90082-2](https://doi.org/10.1016/0047-6374(80)90082-2)

[59] El Atta, H. A. (2000). Effect of diet and seed pretreatment on the biology of *Bruchidius uberatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Silva Fennica*, 34(4), 431-435. <https://doi.org/10.14214/sf.624>

[60] Hosen, M., Khan, A. R., & Hossain, M. (2004). Growth and development of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) on cereal flours. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(9), 1505-1508. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.1505.1508>

- [61] El-Fouly, S. H., Kelany, I. M., Omara, S. M., Hassanein, S. S. M., Gharib M. S., & Seleem, G. Sh. (2021). Biological studies on the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (F.) on different botanical foods. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 48(1), 65-78.
- [62] Oonincx, D. G. A. B., & Finke M. D. (2020). Nutritional value of insects and ways to manipulate their composition. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7(5), 639-659. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0050>
- [63] Renault, D., Bouchereau, A., Delettre, Y. R., Hervant, F., & Vernon, P. (2006). Changes in free amino acids in *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) during thermal and food stress. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 143, 279-285. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.11.012>
- [64] Huignard, J. (1983). Transfer and fate of male secretions deposited in the spermatophore of females of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Insect Physiology*, 29(1), 55-59. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(83\)90106-3](https://doi.org/10.1016/0022-1910(83)90106-3)
- [65] Velten, G., Rott, A. S., Cardona, C., & Dorn, S. (2007). The inhibitory effect of the natural seed storage protein arcelin on the development of *Acanthoscelides obtectus*. *Journal Stored Product Research*, 43, 550-557. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.03.005>
- [66] Yılmaz, A., & Elmalı, M. (2002). Değişik fasulye çeşitlerinde fasulye tohum böceği [*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae)]'nin gelişme ve çoğalması. *Bitki Koruma Bülteni*, 42(1-4), 35-52.
- [67] Bhardwaj, A. C., & Pooja, R. (2005). Amino acid pattern during developing stages and in young pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Entomological Research*, 29(4), 289-291.
- [68] Duarte, S., Limão, J., Barros, G., Bandarra, N. M., Roseiro, L.C., Gonçalves, H., Martins, L. L., Mourato, M. P., & Carvalho, M. O. (2021). Nutritional and chemical composition of different life stages of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, 93, Article 101826, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101826>
- [69] Andersen, S. O., Chase, A. M., & Willis, J. H. (1973). The amino-acids composition of cuticles from *Tenebrio molitor* with special reference to the action of juvenile hormone. *Insect Biochemistry*, 3(10), 171-180.
- [70] Behmer, S. T. (2006). Insect Dietary Needs: Plants as Food for Insects. In: *Encyclopedia of Plant and Crop Science* (Ed. R. M. Goodman), Marcel Dekker Publishers, New York, NY.
- [71] Wackers, F. L., Romeis, J., & Rijn, P. (2007). Nectar and pollen feeding by insect herbivores and implications for multitrophic interactions. *Annuals Review Entomology*, 52, 301-323. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091352>
- [72] Nicolson, S. W. (1998). The importance of osmosis in nectar secretion and its consumption by insects. *American Zoologist*, 38, 418-425. <https://doi.org/10.1093/icb/38.3.418>
- [73] Fields, P. G., Fleurat-Lessard, F., Lavenseau, L., Febvay, G., Peypelut, L., & Bonnot, G. (1998). The effect of cold acclimation and deacclimation on cold tolerance, trehalose and free amino acid levels in *Sitophilus granarius* and *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera). *Journal of Insect Physiology*, 44, 955-965. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(98\)00055-9](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(98)00055-9)

- [74] Masoumi, Z., Noghabi, S. S., & Izadi, H. (2021). Trehalose and proline failed to enhance cold tolerance of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Col.: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 93, Article 101853, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101853>
- [75] Sönmez, E., & Gülel, A. (2008). Effects of different temperatures on the total carbohydrate, lipid and protein amounts of the bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Pakistan Journal of Biological Science*, 11(14), 1803-1808. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.1803.1808>
- [76] Aguilar, J. Gd. S. (2021). An overview of lipids from insects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, Article 101967, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101967>
- [77] Sinclair, B. J., & Marshall, K. E. (2018). The many roles of fats in overwintering insects. *Journal of Experimental Biology*, 7(221), 1-9. <https://doi.org/10.1242/jeb.161836>
- [78] Mlček, J., Adámková, A., Adámek, M., Borkovcová, M., Bednářová, M., & Knížková, I. (2019). Fat from Tenebrionidae bugs – sterols content, fatty acid profiles, and cardiovascular risk indexes. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(3), 247-254. <https://doi.org/10.31883/pjfn/109666>
- [79] Volov, M., Cohen, N., Bodner, L., Dubiner, S., Hefetz, A., Bouchebti, S., & Levin, E. (2021). The effect of climate and diet on body lipid composition in the oriental hornet (*Vespa orientalis*). *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 1-10. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.755331>
- [80] Canavoso, L. E., Jouni, Z. E., Karnas, K. J., Pennington, J. E., & Wells, M. A. (2001). Fat metabolism in insects. *Annual Review Nutrition*, 21, 23-46. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.21.1.23>
- [81] Ogg, C. L., & Stanley-Samuelson, D. W. (1992). Phospholipid and triacylglycerol fatty acid compositions of the major life stages and selected tissues of the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 101(3), 345-351. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(92\)90011-F](https://doi.org/10.1016/0305-0491(92)90011-F)
- [82] Howard, R. W., & Stanley-Samuelson, D. W. (1996). Fatty acid composition of fat body and malpighian tubules of the *Tenebrionid Beetle, Zophobas atratus*: significance in eicosanoid-mediated physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 115B(4), 429-437. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(96\)00161-7](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(96)00161-7)
- [83] Dreassi, E., Cito, A., Zanfini, A., Materozzi, L., Botta, M., & Francardi, V. (2017). Dietary fatty acids influence the growth and fatty acid composition of the yellow mealworm *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Lipids*, 52(3), 285-294. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4220-3>
- [84] Sönmez, E. (2021b). The effect of different cold storage period on total lipid amount of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(3), 449-455. <https://doi.org/10.35229/jaes.970307>
- [85] Sönmez, E., Güvenç, D., & Gülel, A. (2016a). The changes in the types and amounts of fatty acids of adult *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) in terms of age and sex. *International Journal of Fauna and Biological Sciences*, 3(4), 90-96.
- [86] Sönmez, E. (2016b). The effects of three different temperatures on the total lipid and total fatty acid amounts of *Acanthoscelides obtectus* Say, 1931 (Coleoptera: Bruchidae) adults. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 3(5), 97-102.
- [87] Nietupski, M., Szafranek, B., Ciepiewska, D., Synak, E., Fornat, L., & Szafranek, J. (2005). Correlation between bean seed surface lipids and *Acanthoscelides obtectus* Say development. *Journal of Plant Protection Research*, 45(2), 125-132.

- [88] Castro, R. J. S., Ohara, A., Aguilar, J. G. D. S. & Domingues, M. A. F. (2018). Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: processes for obtaining, consumption and future challenges. *Trend Food Science Technology*, 76, 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.006>
- [89] Erdoğan, B., Görür, A., Peksever, D., Sümer, O. & El, S. N. (2021). Sürdürülebilir protein kaynağı olarak yenilebilir böceklerin besleyici özellikleri ve tüketici kabulü. *GIDA*, 46(5), 1105-1116. <https://doi.org/10.15237/gida.GD21074>
- [90] Tzompa-Sosa, D. A., Yi, L.Y., Van Valenberg, H. J. F., Van Boekel, M. A. J. S. & Lakemond, C. M. M. (2014). Insect lipid profile: aqueous versus organic solventbased extraction methods. *Food Research International*, 62, 1087-1094. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.052>
- [91] Dossey, A. T., Tatum, J. T., & Mc Gill, W. L. (2016). Modern Insect - Based Food Industry: Current Status, Insect Processing Technology, and Recommendations Moving Forward. In: Dossey, A. T., Morales – Ramos, J. A., Rojas, M. G. (Eds.), *Insects as Sustainable Food Ingredients*. Academic Press, pp . 113-152, San Diego.
- [92] Paul, A., Frederich, M., Megido, R. C., Alabi, T., Malik, P., Uyttenbroeck, R., Francis, F., Blecker, C., Haubruge, E., Lognau, G. & Danthine, S. (2017). Insect fatty acids: a comparison of lipids from three orthopterans and *Tenebrio molitor* L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(2), 337-340. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.02.001>
- [93] Yadava, R. P. S., Musgrave, A. J., & Rattray, J. B. M. (1973). Fatty acid composition of different lipid classes in two symbiotic weevils, *Sitophilus oryzae* l. and *Sitophilus zeamais* (mots.) (Coleoptera: Curculionidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 46(4), 839-845. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(73\)90127-2](https://doi.org/10.1016/0305-0491(73)90127-2)
- [94] Nwanze, K. F., Maskarinec, J. K., & Hopkins, T. L. (1976). Lipid composition of the normal and flight forms of adult cowpea weevils, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Physiology*, 22(6), 897-899. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(76\)90262-6](https://doi.org/10.1016/0022-1910(76)90262-6)
- [95] Cohen, E. (1974). Fatty acid synthesis by the hide beetle *Dermestes maculatus* (Dermestidae: Coleoptera). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 17, 433-438.
- [96] Guerra, A. A., & Robacker, D. C. (1989). Effects of sex, age and diet on the triacylglycerol fatty acid composition of subtropical boll weevils, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 796-799.
- [97] Perez-Mendoza, J., Dover, B. A., Hagstrum, D. W., & Hopkins, T. L. (1999). Effect of crowding, food deprivation and diet on flight initiation and lipid reserves of the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91, 317-326.
- [98] Golebiowski, M., Malinski, E., Nawrot, J., & Stepnowski, P. (2008). Identification and characterization of surface lipid components of the dried-bean beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Product Research*, 44, 386-388. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.02.010>
- [99] Khebbab, M. E. H., Delachambre, J., & Soltani, N. (1997). Lipid metabolism during the sexual maturation of the mealworm (*Tenebrio molitor*): effect of ingested diflubenzuron. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 58, 209-217. <https://doi.org/10.1006/pest.1997.2296>
- [100] Bursell, E., & Clements, A. N. (1967). The cuticular lipids of the larva of *Tenebrio molitor* L.(Coleoptera). *Journal of Insect Physiology*, 13(11), 1671-1678. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(67\)90162-X](https://doi.org/10.1016/0022-1910(67)90162-X)

- [101] Wigthman, J. A. (1978). The ecology of *Callosobruchus analis* (Coleoptera: Bruchidae) energetics and energy reserves of the adults. *Journal of Animal Ecology*, 47, 131-142. <https://doi.org/10.2307/3927>
- [102] Kurečka, M., Kulma, M., Petříčková, D., Plachý, V., & Kouřimská, L. (2021). Larvae and pupae of *Alphitobius diaperinus* as promising protein alternatives. *European Food Research and Technology*, 247, 2527-2532. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03807-w>
- [103] Downer, R. G. H., & Matthews, J. R. (1976). Patterns of lipid distribution and utilisation in insects. *American Zoologist*, 16, 733-745. <https://doi.org/10.1093/icb/16.4.733>
- [104] Ximenes, A. A., Oliveria, G. A., Bittencourt-Cunha, P., Tomokyo, M., Leite, D. B., Folly, E., Golodne, D. M., & Atella, G. C. (2008). Purification, partial characterization and role in lipid transport to developing oocytes of a novel lipophorin from the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41, 18-25. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006005000191>
- [105] Renobales, M., Cripps, C., Stanley-Samuels, D. W., Jurenka, R. A., & Blomquist, G. J. (1987). Biosynthesis of linoleic acid in insects. *Trends Biochemistry Science*, 12, 364-366. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(87\)90167-8](https://doi.org/10.1016/0968-0004(87)90167-8)
- [106] Blomquist, G. J., Borgeson, C. E., & Vundla, M. (1991). Polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in insects. *Insect Biochemistry*, 21(1), 99-106. [https://doi.org/10.1016/0020-1790\(91\)90069-Q](https://doi.org/10.1016/0020-1790(91)90069-Q)
- [107] Cohen, E., & Levinson, Z. H. (1972). The effect of fatty acids on reproductive of the hide beetle *Dermestes maculatus* (Dermestidae: Coleoptera). *Life Sciences*, 11(6), 293-299. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(72\)90082-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(72)90082-3)
- [108] Lambremont, E. N., Blum, M. S., & Schrader, R. M. (1964). Storage and fatty acid composition of triglycerides during adult diapause of the boll weevil. *Annals of the Entomological Society of America*, 57(5), 526-532. <https://doi.org/10.1093/aesa/57.5.526>
- [109] Stanley-Samuels, D. W., Jurenka, R. A., Cripps, C., Blomquist, G. J., & Renobales, M. (1988). Fatty acids in insects: composition, metabolism and biological significance. *Archives Insect Biochemistry and Physiology*, 9, 1-33. <https://doi.org/10.1002/arch.940090102>
- [110] Tillman, J. A., Seybold, S. J., Jurenka, R. A., & Blomquist, G. J. (1999). Insect pheromones an overview of biosynthesis and endocrine regulation. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29, 481-514. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(99\)00016-8](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(99)00016-8)
- [111] Meinwald, Y. C., & Eisner, T. (1964). Defence mechanism of arthropods, XIV. caprylic acid: an accessory component of the secretion of *Eleodes longicollis*. *Annals of the Entomological Society of America*, 57(4), 513-514.
- [112] Smith, R. J., & Grula, E. A. (1982). Toxic components on the larval surface of the corn earworm (*Heliothis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrates Pathology*, 39(1), 15-22. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(82\)90153-7](https://doi.org/10.1016/0022-2011(82)90153-7)
- [113] Stanley, D. (2006). Prostaglandins and other eicosanoids in insects: biological significance. *Annual Review Entomology*, 51, 25-44. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151021>