

**Fen Bilimleri ve Matematik
Alanında Akademik
Araştırma ve Derlemeler**

Editör

Prof. Dr. Hüsniye Sağlıker

İmtiyaz Sahibi
Platanus Publishing®

Editör
Prof. Dr. Hüsniye Sağlıker

Kapak & Mizanpaj & Sosyal Medya
Platanus Yayın Grubu

Birinci Basım
Aralık, 2023

Yayımcı Sertifika No
45813

Matbaa Sertifika No
47381

ISBN
978-625-6517-52-3

©copyright
Bu kitabın yayım hakkı Platanus Publishing'e aittir.
Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin
alınmadan hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Adres: Natoyolu Cad. Fahri Korutürk Mah. 157/B,
06480, Mamak, Ankara, Türkiye.
Telefon: +90 312 390 1 118
web: www.platanuskitap.com
e-mail: platanuskitap@gmail.com



PLATANUS PUBLISHING®

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM 1..... 9

CLADONIA FOLIACEA LİKEN TÜRÜ KULLANILARAK AG-ZNO NANOKOMPOZİTLERİNİN YEŞİL SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL AJAN OLARAK KULLANIMI

İclal İNERCİ

Zekiye KOCAKAYA

BÖLÜM 2..... 23

DENİZ YAŞAMINI eDNA İLE İZLEMEK

Prof. Dr. Figen Esin KAYHAN

Dr. Öğr. Üyesi Harika Eylül ESMER DURUEL

Şeyma KIZILKAYA

Serra TEKLER

Nazlı Sevim GÖLÇÜK

BÖLÜM 3..... 37

META SINIFLANDIRMA ALGORİTMALARI WEKA İLE BİR UYGULAMA

Öğr. Gör. Dr. Burcu DURMUŞ

Prof. Dr. Öznur İŞÇİ GÜNERİ

Doç. Dr. Nevin Güler DİNCER

BÖLÜM 4..... 69

ATIK PLASTİKLERİN ÇEVREYE ETKİLERİ VE AVRUPA YEŞİL MUTABAKATI

Doç. Dr. Yusuf YILMAZ

BÖLÜM 5..... 83

Diglyphus Walker (Eulophidae:Hymenoptera) CİNSİ VE EKONOMİK ÖNEMİ

Lütfiye GENÇER

BÖLÜM 6..... 91

CHALCIDOIDEA VE TÜRKİYEDEKİ DURUMU

Lütfiye GENÇER

BÖLÜM 7.....103

TARIMSAL ALANLARDA FARMASÖTİK İLAÇ KİRLİLİĞİ

Doç. Dr. Armağan KAYA

BÖLÜM 8..... 113

KİTOSAN BAZLI KOMPOZİTLERİN ANTİMİKROBİYAL UYGULAMALARI

Doç. Dr. Ayfer YILDIRIM

Doç. Dr. Hilal ACAY

BÖLÜM 9..... 131

TOPRAKTAN

***Penicillium purpurogenum*'un İZOLASYONU, KLASİK VE MOLEKÜLER
TANIMLAMASI, PİGMENT ÜRETİMİNİN ARTIRILMASINA YÖNELİK
OPTİMİZASYONU**

SİNAN GÜNER

Prof.Dr. Tülin AŞKUN

Pınar GÜNER

BÖLÜM 10..... 161

**GEÇİŞ ŞARTLARI İÇEREN ÇOK-ARALIKLI STURM-LİOUVILLE
PROBLEMLERİNİN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ**

Prof. Dr. Kadriye AYDEMİR

Prof. Dr. Oktay Sh. MUKHTAROV

Dr. Öğretim Üyesi Merve YÜCEL

BÖLÜM 11..... 183

**VOLTERRA-FREDHOLM İNTEGRO-DİFERANSİYEL DENKLEMİN AYRIŞTIRILMIŞ
SERİ ÇÖZÜMÜ**

Derya ARSLAN

BÖLÜM 12..... 192

V NEWTONYEN OLMAYAN MODÜLÜS FONKSİYONU ÜZERİNE

Murat Erdem YILMAZ

Prof. Dr. Birsen SAĞIR

BÖLÜM 13..... 212

TEKİL HÜCRE PROTEOMİĞİ ÇALIŞMALARINDA ÖRNEK HAZIRLAMA

Doç. Dr. Can YILMAZ

Doç. Dr. Metin KONUŞ

BÖLÜM 14.....228

KUANTUM ÇOKLU CİSİM PROBLEMİNDE YAPAY SİNİR AĞLARI YÖNTEMİNİN KULLANIMI

Çağrı Kemal ERDAL

Prof. Dr. Ülfet ATAV

BÖLÜM 15.....248

BAKTERİYOFAJ TERAPİSİ

Prof. Dr. Sema AGÜLOĞLU FİNCAN

BÖLÜM 16.....258

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ KAMPÜSÜ LİKEN VE LİKENİKOL MANTAR FLORASI

İremşah ALPASLAN

Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA

BÖLÜM 17.....274

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *CLADONIA COCCIFERA* GRUP ÜYELERİ, DESKRİPSİYONLARI ve TEŞHİS ANAHTARI

Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA

BÖLÜM 18.....284

Xist RNA ve Xist RNA ETKİLEŞİMCİLERİ

Doç.Dr. Yeşim DAĞLIOĞLU

BÖLÜM 19.....310

***Cistus laurifolius* L. (Defne Yapraklı Laden) BİTKİSİNİN (MDA-MB231; Meme kanseri Epiteli), BAZI BİYOLOJİK VE FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Hasan Basri KARAYEL

BÖLÜM 20.....322

***Laurocerasus officinalis* M. ROEM TAKSONUNUN YAPRAK N (Azot) DİNAMİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Prof. Dr. Tuğba ÖZBUCAK

Dr. Gülaycan POLAT KESKİN

BÖLÜM 21 336

TOPRAK MİKROBİYAL FAALİYETİNE NANOTEKNOLOJİK YAKLAŞIMLAR

Doç. Dr. Nacide KIZILDAĞ ÖZDAL

Prof. Dr. Hüsnüye AKA SAĞLIKER

BÖLÜM 22 346

**DENEY HAYVANLARI ARAŞTIRMA MERKEZLERİNDE KİMYASAL TEHLİKELER
VE ALINACAK ÖNLEMLER**

Doç. Dr. Dilek SAĞIR

BÖLÜM 23 356

YARA İYİLEŞMESİNDE DOĞAL BİYOPOLİMERLER

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin YILDIZ

BÖLÜM 24 362

BİYOMEDİKAL UYGULAMALARDA POLİÜRETANLAR

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin YILDIZ

BÖLÜM 25 378

**BİNA YÖNLENDİRMESİNİN VE ÇATI ŞEKLİNİN ENERJİ TÜKETİM
PERFORMANSINA ETKİSİNİN REVİT SİMÜLASYON PROGRAMI İLE ANALİZİ**

Saeed MORSALI

Feriha YILDIRIM

BÖLÜM 26 396

**BİTKİ EKSTRAKTARI KULLANILARAK SENTEZLENEN ZnS
NANOPARÇACIKLARININ OPTİK SOĞURMA, OPTİK İŞİMA VE
FOTOKATALİTİK ÖZELLİKLERİ**

Doç. Dr. Füreya Elif ÖZTÜRKKAN

Prof. Dr. Mustafa YÜKSEK

BÖLÜM 27 428

SALMONELLA VE ENFEKSİYONLARI

Dr. Öğr. Üyesi. Nesrin ÇAKICI

BÖLÜM 28 440

GIDA KAYNAKLI VİRÜSLER

Dr. Öğr. Üyesi. Nesrin ÇAKICI

BÖLÜM 29.....458

TÜRKİYEDE'Kİ İŞ KAZALARINDA YSA MODELLEME ÖRNEĞİ

Şeyhmus AYDIN
Abdulkadir BİLGİN
Emine CAN

BÖLÜM 30.....478

BAKTERİYEL BİYOREMEDİASYON VE GÜNCEL ÇALIŞMALAR

Dr. Öğr. Üyesi Yeliz GENÇ BEKİROĞLU
Doç. Dr. Fadime ÖZDEMİR KOÇAK

BÖLÜM 31.....496

KÜTLE SPEKTROMETRESİ VE PROTEİNLER İÇİN UYGULAMALARI

Arş. Gör. Ceylan FİDAN BABAT

BÖLÜM 32.....530

**BİYOÇEŞİTLİLİK PERSPEKTİFİNDEN KIZILKOLTUK VE KARAKÜR (ŞAPHANE -
KÜTAHYA) KÖYLERİ VE ÇEVRESİNİN DAMARLI BİTKİLER FLORASI VE
ALANDAKİ BİTKİ FORMASYONLARINA GENEL BİR BAKIŞ**

Onur KOYUNCU

BÖLÜM 33.....558

BİYOAKTİF PEPTİDLERDE IN SILICO ANALİZLER

Öğr. Gör. Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Şeyda BERK

BÖLÜM 34.....572

EPIGENETİK VE KANSER

Dr. Öğr. Üyesi Şeyda BERK
Öğr. Gör. Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ

BÖLÜM 35.....586

**SU KALİTE İNDEKSİNİN İZLENMESİNDE ASİMETRİK KALİTE KONTROL
GRAFİKLERİ**

Dr. Öğr. Üy. Barış ERGÜL
Prof. Dr. Arzu ALTIN YAVUZ

BÖLÜM 36 598

TIBBİ VERİLERİN ÇOK DEĞİŞKENLİ LOJİSTİK REGRESYON ANALİZİ YARDIMI İLE İNCELENMESİ

Dr. Öğr. Üy. Barış ERGÜL
Prof. Dr. Arzu ALTIN YAVUZ

BÖLÜM 37 608

BASKİL VE AĞIN YÖRESİNDE YETİŞEN KIRMIZI ALIÇ (*Crataegus monogyna* L.) MEYVESİNİN BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Mustafa GÜLER
İnanç ÖZGEN
ÖKKEŞ YILMAZ

BÖLÜM 38 650

PS-İSTATİSTİKSEL MANİFOLDLARIN İNVARYANT ALTMANİFOLDLARI

Doç.Dr. Sema KAZAN

BÖLÜM 39 662

PIRİMİDİN ANTİMETABOLİTLERİ

Handenur ÖZGENÇ
Dr Öğr. Üyesi Gülay DİLEK

BÖLÜM 1

CLADONIA FOLIACEA LİKEN TÜRÜ KULLANILARAK AG-ZNO NANOKOMPOZİTLERİNİN YEŞİL SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL AJAN OLARAK KULLANIMI

İclal İNERCİ¹
Zekiye KOCAKAYA²

¹ Kayseri Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçıoğlu MYO, ORCID: 0009-0004-1749-2213

² Kayseri Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçıoğlu MYO, ORCID: 0000-0001-5248-0462

Giriş:

Nanoteknoloji, temel bilimlerden fizik, kimya, biyoloji gibi alanlarla birlikte malzeme bilimi gibi mühendislik temellileri ve tıbbi içeren disiplinler arası bir teknoloji olarak ortaya çıkmaktadır (Narayanan ve diğerleri, 2010). Farklı yöntemler metalik nanoyapıların çözelti ortamında sentezlenmesi için geliştirilmiştir ve bu metodların çoğunda amaç, elde edilen nano yapıların belirli bir büyüklüğe ve morfolojiye sahip olmasını sağlamaktır. Biyosentez terimi, biyolojide canlı organizmalardaki kimyasal süreçleri ifade etmek için kullanılan bir terimdir ve enerji kullanarak basit yapıdaki maddelerden daha karmaşık ürünlerin üretilmesine olanak tanır. Nanoteknoloji bağlamında ise, biyosentez, bitki özütleri, mikroorganizmalar (bakteri, mantar, maya, alg, virüs gibi), veya kimyasal bileşenler kullanarak nanotaneciklerin sentezlenmesini ifade eder.

Metal nanotaneciklerin geleneksel sentez yöntemleri, karmaşıklıkları, yüksek maliyetleri, toksik maddelerin kullanılmasının gerekliliği ve farmakolojik ile biyomedikal uygulamalara uygun olmamaları gibi bir dizi dezavantaj içermektedir. Bu sebeplerden dolayı, biyosentez yöntemi günümüzde geniş bir kabul görmüş ve sıklıkla kullanılan bir sentez yaklaşımı haline gelmiştir. Biyosentez, basitliği, ekonomikliği, toksik maddelerin kullanımına ihtiyaç duyulmaması ve farmakolojik ile biyomedikal uygulamalara uygunluğu gibi avantajları nedeniyle tercih edilmektedir. Bu sentez yöntemi, genellikle "yeşil kimya" olarak adlandırılır ve metalik nanopartiküllerin biyosentezinde, mantarlar, mayalar, bakteriler, bitki özütleri gibi biyoaktif maddeleri indirgeyici ajanlar olarak kullanır (Bar ve diğerleri, 2009; Philip ve diğerleri, 2010; Dubey ve diğerleri, 2010).

Likenler, eski çağlardan itibaren çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan doğal kaynaklar arasında yer alır. Mantar (Ascomycetes) ile yeşil alg veya mavi-yeşil alg arasındaki simbiyotik ilişkiden meydana gelen, yeryüzündeki en etkileyici organizmalardan biridir (Bates ve diğerleri, 2011; Selbmann ve diğerleri, 2010). Likenlerden izole edilen 1050'den fazla izole edilen sekonder metabolitin, yapılan çalışmalarla birlikte antibakteriyel, antiviral, anti-analjezik, antipiretik ve antiproliferatif aktiviteleri elirlenmiştir (Molnár & Farkas, 2010). Özellikle, likenlerin ikincil metabolitlerinin belirgin antimikrobiyal aktivitesi, araştırmacıların dikkatini çeken önemli biyoaktif madde kaynakları olarak öne çıkmaktadır (Mitscher ve diğerleri, 1987; Hostettman & Wolfender, 1997).

Geleneksel antimikrobiyal tedaviye terapötik bir alternatif olarak, doğal ürünler öne çıkmaktadır. Bakteriyel ve fungal enfeksiyon hastalıkları, küresel ölüm nedenleri arasında öne çıkmaya devam etmektedir (Bate ve ark., 2020).

Antibiyotikler, mikrobiyal enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve tedavisi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, antibiyotiğe dirençli patojen suşların ortaya çıkması, yeni antibiyotik ve ilaçların geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Artan antibiyotiğe dirençli mikroorganizma popülasyonu, likenlerin alternatif bir antimikrobiyal ilaç kaynağı olarak araştırılmasını teşvik etmiştir (Nishanth ve diğerleri, 2015; Timbreza ve diğerleri, 2017; Kilavuz ve diğerleri, 2020). Yapılan çeşitli çalışmalar, belirli liken türlerinin mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (Shukla ve diğerleri, 2010; Perry ve diğerleri, 1999; Mitrović ve diğerleri, 2011).

İlaça dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması ve hastalıkların tedavisindeki zorluklar, etkili alternatif antimikrobiyal ilaçlar geliştirmenin zorunluluğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, likenlerin doğal antimikrobiyal ajanlar olarak yeni tasarlanmış ilaçlar üretmekte alternatif bir kaynak olarak kullanılabilmesi öne sürülmüştür (Shukla ve diğerleri, 2010). Doğal ürünler, geleneksel antimikrobiyal tedaviye terapötik bir alternatif olarak önerilmektedir. Yapılan çalışmalar, bazı likenlerin antibiyotik aktiviteye sahip olduğunu gösterdiği için, liken türevi ürünlerin ve bunların antibiyotik özelliklerinin bilim dünyası için özel bir önem taşıdığını ortaya koymaktadır (Kosanić ve Ranković, 2015).

Gümüş, uzun yıllardır geniş spektrumlu antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliklere sahip bir antimikrobiyal madde olarak çeşitli alanlarda güvenle kullanılmaktadır. Bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal iyonlarının da antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, bakterilere, virüslere ve diğer ökaryotik mikroorganizmalara karşı en etkili etkinliğin gümüşte bulunduğu tespit edilmiştir (Duncan, 2011).

Antik dönemde, gümüş paraların su ve süt içerisine atılmasının oda sıcaklığında raf ömrünü uzattığı, gıda muhafazasında başarı elde etmek için gümüş kap ve araçların kullanıldığı gözlemlenmektedir. Ayrıca, Rus MIR uzay istasyonu ve NASA uzay mekiğinde kullanılan suların içinde gümüşün antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Silver, 2003). Gümüşün su dezenfeksiyonunda, yanık tedavisinde ve kronik ülserlerin tedavisinde kullanımının, milattan önce 1000'li yıllara kadar uzandığı bilinmektedir. Literatürde, 1800'lerde gümüşün göz damlası olarak kullanıldığı ancak daha sonra penisilin keşfiyle kullanımının azaldığı, ancak 1960'lı yıllarda %0,5'lik gümüş nitrat çözeltisinin yanık tedavisinde tekrar yaygın olarak kullanılmaya başlandığı belirtilmektedir (Rai ve diğerleri, 2009).

Yapılan araştırmalar, ZnO'nun diğer metal oksit nanopartiküller ile karşılaştırıldığında nispeten ucuz, biyouyumlu ve daha az toksik olduğunu göstermiştir (Aksoy ve ark., 2010; Shokri ve Javar, 2015). Bu özellikler, ZnO nanopartiküllerinin daha geniş uygulama potansiyeline sahip olmalarını desteklemektedir. Ayrıca, farmasötik olarak aktif moleküllerin çoğunluğu ile ZnO nanopartiküllerinin etkileşime girmediği de gösterilmiştir (Sahdev ve ark., 2013). Bu durum, ZnO nanopartiküllerinin ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanımının güvenilirliğini ve etkililiğini vurgulamaktadır.

Likenler, zengin biyoaktif bileşenlere sahip olmaları nedeniyle geniş kapsamlı bir şekilde araştırılmakta ve birçok patojene karşı biyoaktiviteleri bilinmektedir. Günümüzde, araştırmacılar, nanopartikül sentezi için likenleri kullanma ve bu nanopartiküllerin antimikrobiyal ajan olarak potansiyel kullanımını keşfetme olasılıklarını incelemektedirler (Rohit Rattan, 2021).

Gümüş, altın, titanyum, kadmiyum, demir, çinko ve bakır gibi metaller ile bunların oksit türevlerinden türetilen nanopartiküllerin bir dizi liken türü kullanılarak sentezlendiği literatürde belirtilmiştir. Liken temelli nanopartiküllerin birçoğunun, çeşitli bakteri ve mantar türlerine karşı antimikrobiyal biyoaktivite sergilediği rapor edilmiştir. Bu biyoaktivite, mikrobiyal membranları parçalama yeteneği, çeşitli hücrel bileşenlerin oksidasyonunu tetikleme yeteneği ve hidroksil radikallerinin oluşumunu destekleme yeteneği gibi mekanizmaları içermektedir (Rohit Rattan, 2021).

Belirli liken türlerinin, altın (Au)-NP'ler, gümüş (Ag)-NP'ler, demir oksit-NP'ler ve çinko oksit-NP'ler gibi metal oksit-NP'ler ile bimetalik alaşımlar gibi çeşitli nanomalzemeleri indirgenabilir bir aktiviteyle sentezleme yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir. Nanokompozitlerin, özellikle Au-Ag NP'lerin, hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere ve mantarlara karşı anlamlı antimikrobiyal aktiviteler sergilediği tespit edilmiştir (Hamida ve Abdelmeguid, 2021). Yürütölen araştırmalarda, liken ekstrelerinin bolluğu ve çevresel sürdürülebilirliği nedeniyle NP'ler için etkili bir indirgeme ve kapatma maddesi olarak kullanıldığı belirlenmiştir. Liken ekstraktlarından elde edilen sekonder metabolitlerin fonksiyonel gruplarının, NP'lerin agregasyonunu önlemede etkili olduğu ve bu sayede NP'lerin üretimini ve stabilizasyonunu sağladığı ifade edilmiştir. Bu bağlamda, liken temelli NP'lerin, antimikrobiyal, antidiyabetik ve antioksidan gibi terapötik ajanlar olarak hizmet edebilecek büyük bir potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir (Hamida ve Abdelmeguid, 2021).

Cladonia cinsi, Cladoniaceae familyasında (Ascomycota ve Lecanorales) sınıflandırılır (Lumbsch ve diğerleri, 2010; Miadlikowska ve diğerleri, 2006).

Cins birçok ikincil metabolit içerir (Huovinen & Ahti, 1982). Daha önceki çalışmalarda bazı *Cladonia* türlerinin ekstraktlarının in vitro olarak güçlü antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Kosanić ve ark., 2014; Kosanić Kosanić ve ark., 2018; Mitrović ve ark., 2015). Bu çalışmada antimikrobiyal özelliği uyaraabilen liken bazlı gümüş-çinko oksit nanopartikül sentezlenerek antibakteriyel ve anti-fungal etkinlikleri üzerindeki etkisinin neler olduğu incelenmiştir.

Materyal ve metod:

Liken materyali

Hatay, Arsuz'dan 2022 yılı Nisan ayında toplanan liken örneğinin (*Cladonia foliace*) teşhisi yapılmış, çalışmada kullanılmak üzere tartılarak saklanmıştır.

Liken ekstraksiyonu

Toplanan liken örnekleri yıkanarak petri kutularına yerleştirilmiş ve 1 gün boyunca 60°C'de etüvde bekletilmiştir. Kurutulmuş liken örnekleri 5 gr tartılarak 80 ml distile suda 80 °C'de 1 saat tutulmuş daha sonra Whatman filtre kâğıdı ile süzölmüştür.

Ag-ZnO Np'lerin Biyosentezi

0.01 M 50 ml AgNO₃ ve 0.1 M 50 ml ZnNO₃ çözeltisine 25 ml liken özütü ilave edildi ve 80°C'de 4 saat karıştırıldı. Gümüş ve stronsiyum iyonları, liken özütü ile nanoparçacıklara indirgendi. Çözeltide gözlenen renk değişikliğinden sonra çözelti, 4000 rpm'de 30 dakika boyunca iki kez santrifüjlendi ve süpernatant, gece boyunca 60°C'de etüvde kurutuldu (Sorbiun ve ark., 2018). Toz halindeki partiküller, karakterizasyon çalışmaları için cam şişelerde saklandı.

Karakterizasyon çalışmaları

Morfolojik görüntüleme FE-SEM (Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu) ile fonksiyonel bileşenlerin varlığı FT-IR (Fourier-Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) ile belirlenmiştir. EDX (Enerji Dağılımı X-ışını Spektroskopisi) ile elementlerin varlığı ve XRD (X Işını Kırınım) analizi ile de kristal düzlem analizleri yapılmıştır. Karakterizasyon çalışmaları Erciyes Üniversitesi Teknoloji ve Araştırma Merkezi (ERU TAUM)'nde gerçekleştirilmiştir.

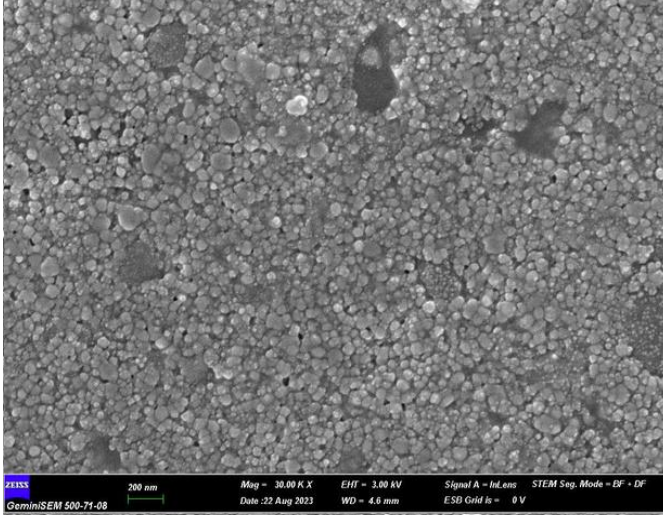
Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için agar disk diffüzyon testi uygulanmıştır. Test gösterge bakterileri olarak Gram negatif bakterilerden

(*Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048) ve Gram pozitif bakterilerden (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) ile 1 fungus (*Candida albicans* ATCC 10231) olmak üzere 5 mikroorganizma türü kullanılmıştır. Disk difüzyon yönteminde, test mikroorganizmasından elde edilen solüsyonun yayıldığı agar plâtelere yüzeyine belirli sayılarda antimikrobiyal madde içeren kağıt diskler yerleştirilir. Bu sayede diskteki antimikrobiyal madde besiyeri içerisine yayılır ve etkili olduğu düzeylerde bakterinin gelişmesine engel olur ve diskin çevresinde bakterilerin gelişemediği bir inhibisyon zonu meydana gelir. Çalışmada kullanılan numunelerden 20 µl'lik miktarları 6 mm çaplı boş steril disklerle (Oxoid, blank disc) emdirilmiştir. Pozitif kontrol olarak bakteriler için AMP: Ampicillin (10 µg/disk), fungus için NYS:nystatin (10 µg/disk), negatif kontrol olarak da ekstre içermeyen boş diskler kullanılmıştır. Mikroorganizmaların katı besiyerlerinde (plak kültür) üretilmiş 18-24 saatlik saf kültürlerinden öze ile alınan koloniler fosfat tamponlu tuz çözeltisi (Phosphate Buffered Saline=PBS) içerisinde süspanse edilmiştir. McFarland 0.5 standardı ile kıyaslanarak bulanıklık ayarlanmış ve 5 x10⁵ CFU/mL olacak şekilde solüsyonlar hazırlanmıştır. Bu solüsyonlardan 100 µl'lik miktar bakteriler için Muller Hinton Agar (Merck), fungus için Sabouroud Dextrose Agar (Merck) içeren petrilere yayma ekim yapılmıştır. Daha sonra numune emdirilen diskler petrilere birbirine olan mesafelerine dikkat edilecek şekilde yerleştirilmiştir. Bakteriler 37°C'de 18-24 saat, fungus ise 30°C'de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda oluşan inhibisyon zonlarının çaplarının ölçümü gerçekleştirilmiştir. Çalışma iki tekrar olacak şekilde yürütülmüş ve sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

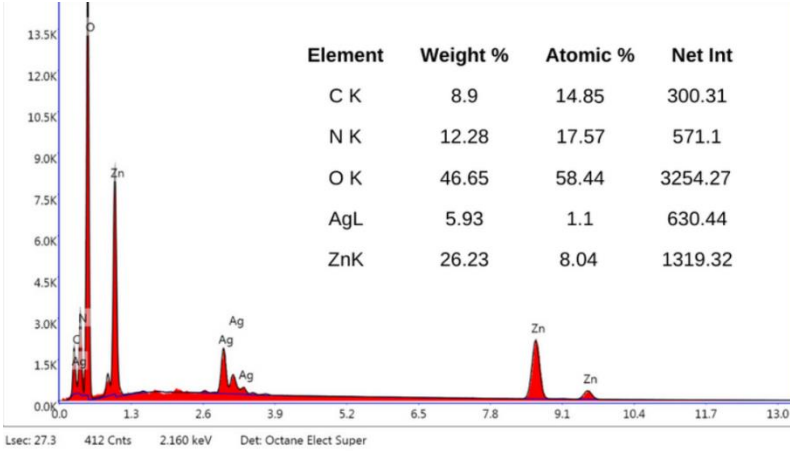
Bulgular ve Tartışma

FESEM, yüzeyleri yüksek çözünürlüklü olarak incelemek için kullanılan bir mikroskop türüdür. Bu analizde, liken temelli nanokompozit malzemelerin yüzey morfolojisi ve yapıları incelenmiştir. Elde edilen FESEM görüntülerinin ortalama parçacık boyutunun 100-200 nm aralığında olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).



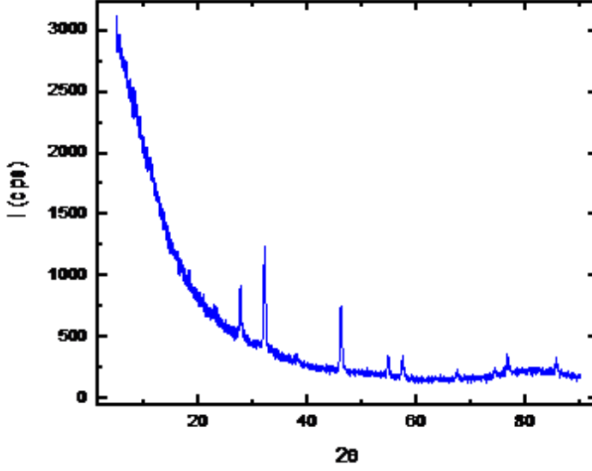
Şekil 1. FESEM mikrobu görüntüleri

Elementel Analiz (Edx), bir malzemenin bileşenlerinin kimyasal kompozisyonunu belirlemek için kullanılır. Bu analiz sonuçları, nanokompozitlerin bileşenlerinin doğru oranlarda olduğunu göstermektedir (Şekil 2).



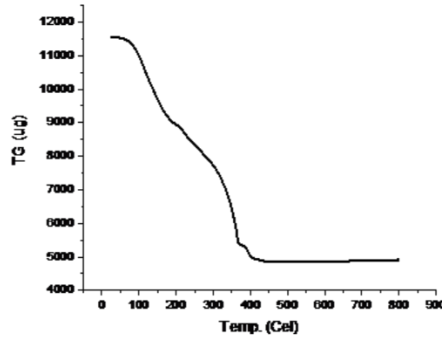
Şekil 2. Edx analizi

XRD (X-ışını Toz Kırınımı), malzemenin kristal yapısını ve fazlarını belirlemek için kullanılan bir tekniktir. Ölçümlerin yapıldığı cihazdaki sonuçlarla karşılaştırılarak Ag ve Zn nanoparçacıklarının varlığı tespit edilmiştir (Şekil 3).



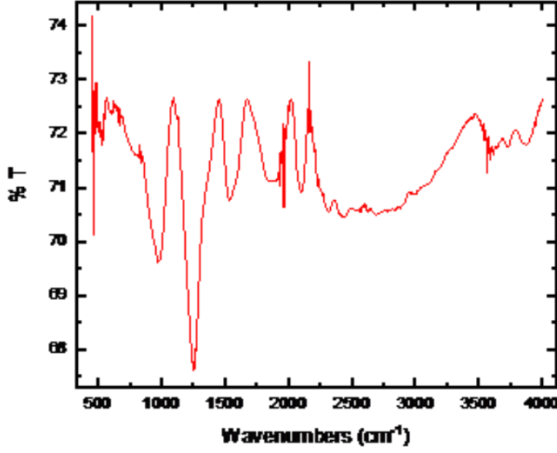
Şekil 3. XRD analizi

Termogravimetrik Analiz (TGA), malzemenin ısıl kararlılığını incelemek için kullanılır. Ag nanokompozitlerinin termal olarak çok daha geç ayrışmaya başladığı gözlemlenmiştir. Kompozitteki ayrışma sıcaklığı 400°C'ye kadar yükselmiştir (Şekil 4). Bu, kompozit malzemelerin daha yüksek termal kararlılığa sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. Termogravimetrik Analiz

FT-IR (Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi), malzemenin kimyasal yapısını belirlemek için kullanılır. Sonuçlar, sentezlenen Ag-Zn bazlı nanokompozitin belirli işlevsel gruplarını göstermektedir (Şekil 5). Özellikle belli dalga sayılarında absorpsiyon pikleri görülmüştür. Bu piklerde O-H gerilmeye karşılık geldiği görülmektedir. Bu durum, Ag-Zn nanoparçacıklarının sentezinde güçlü aromatik halka ve karboksilik asitlerin rol oynadığını göstermektedir.

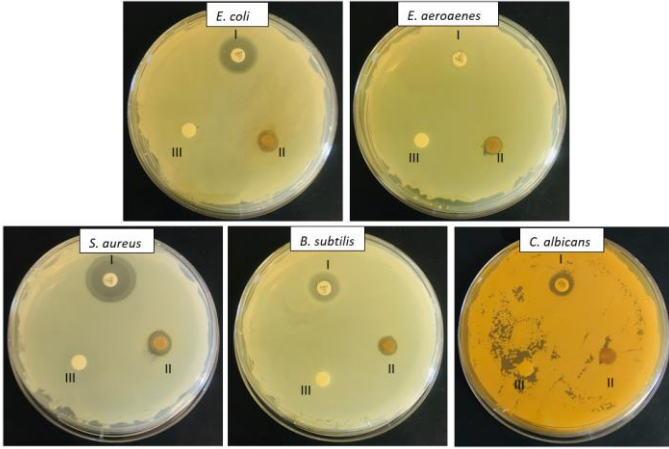


Şekil 5. FT-IR analizi

Çalışmamızda yer alan numunelerin test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri Tablo 1 ve Şekil 6'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre numunelerin test edilen bütün mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Test mikroorganizmalarına karşı *C. foliacea*'den green sentez ile elde edilen nanomalzeme yapılarının en yüksek antibakteriyel etki değeri 10.0 mm olurken en düşük antibakteriyel etkiyi değeri 7.1 mm olarak saptanmıştır. Mikroorganizmalar açısından en duyarlı suş *S.aureus*, en dirençli suş ise *E. aerogenes* olduğu belirlenmiştir. Antifungal etki *C. foliacea*'den green sentez ile elde edilen nanomalzeme yapılarında gözlemlenmiştir. Liken ekstralarının *C. albicans* bakterilerine karşı inhibisyon zonu 6.5 mm olarak belirlenmiştir. Pozitif kontrol en yüksek (12.0mm) antifungal aktiviteye sahipken negatif kontrolde herhangi bir etki görülmemiştir.

Tablo1. Liken ekstelerinin ve Green sentez nanomalzemelerin mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm). Bakteriler için pozitif kontrol: Ampisilin (Amp), mayalar için pozitif kontrol: Nystatin (Nys). Negatif kontrol: boş disk.

Mikro-organizm	İnhibisyon zonu		
	<i>Cladonia</i>	(-)Control	(+)Control
<i>E. coli</i> G (-)	8.3 mm	-	16.4 mm
<i>E. aerogenes</i> G (-)	7.1 mm	-	9.0 mm
<i>S. aureus</i> G (+)	10.0 mm	-	22.1 mm
<i>B.subtilis</i> G (+)	7.7 mm	-	14.0 mm
<i>C.albicans</i>	6.5 mm	-	12.0 mm



Şekil 6. Green sentezle *C. foliacea* ekstelerinden elde edilen nanomalzemelerin test edilen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi (I: Pozitif kontrol Amp/NS, II: Liken ekstre, III: Negatif kontrol)

Sonuç:

Çalışma, liken temelli nanokompozitlerin biyoaktif metabolitlerin kaynağı olarak kullanılmasının potansiyelini vurgulamaktadır. Ayrıca doğal ürünlerin, geleneksel antimikrobiyal tedavilere alternatif olarak kullanılabilirliğini önermektedir.

Elde edilen nanokompozitin antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiş olup, özellikle bakterilere karşı etkili olduğunu bulunmuştur.

Günümüzde sentetik nanomalzemeler, genellikle çevre dostu olmayan, maliyetli ve zorlu üretim koşullarına sahip oldukları için insan yaşamında önemli zorluklar yaratmaktadır. Bazı durumlarda, kimyasalların ve tehlikeli maddelerin yüzeylerine adsorpsiyonları nedeniyle uygulama alanları sınırlıdır. Bu sebeplerle araştırmacılar, geleneksel nanomateryal sentez yöntemlerini daha yeşil, ekonomik ve güvenli hale getirmek için çaba harcamaktadırlar.

Teşekkür: Bu çalışma Tübitak 2209A önlisans öğrenci projesi ile desteklenmiştir.

Kaynaklar:

- Aksoy, B., Atakan, N., Aksoy, H. M., Tezel, G. G., Renda, N., Özkara, H. A., & Önder, E. (2010). Effectiveness of topical zinc oxide application on hypertrophic scar development in rabbits. *Burns*, 36(7), 1027-1035.
- Bar, H., Bhui, D. K., Sahoo, G. P., Sarkar, P., De, S. P., & Misra, A. (2009). Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, 339(1-3), 134-139.
- Bate, P. N. N., Orock, A. E., Nyongbela, K. D., Babiaka, S. B., Kukwah, A., & Ngemenya, M. N. (2020). In vitro activity against multi-drug resistant bacteria and cytotoxicity of lichens collected from Mount Cameroon. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 614-619.
- Bates, S. T., Cropsey, G. W., Caporaso, J. G., Knight, R., & Fierer, N. (2011). Bacterial communities associated with the lichen symbiosis. *Applied and environmental microbiology*, 77(4), 1309-1314.
- Dubey, S. P., Lahtinen, M., & Sillanpää, M. (2010). Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochemistry*, 45(7), 1065-1071.
- Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of colloid and interface science*, 363(1), 1-24.

- Hamida, R. S., Ali, M. A., Abdelmeguid, N. E., Al-Zaban, M. I., Baz, L., & Bin-Meferij, M. M. (2021). Lichens—A potential source for nanoparticles fabrication: A review on nanoparticles biosynthesis and their prospective applications. *Journal of Fungi*, 7(4), 291.
- Hostettmann, K., & Wolfender, J. L. (1997). The search for biologically active secondary metabolites. *Pesticide science*, 51(4), 471-482.
- Huovinen, K., & Ahti, T. (1982, January). Biosequential patterns for the formation of depsides, depsidones and dibenzofurans in the genus *Cladonia* (lichen-forming ascomycetes). In *Annales Botanici Fennici* (pp. 225-234). Finnish Botanical Publishing Board.
- Kilavuz, E., Turac, E., İlk, S., & Sahmetlioglu, E. (2021). Electropolymerizations of two novel EDOT-BODIPY zinc oxide nanocomposites and evaluation of their in vitro antibacterial activities. *Polymers for Advanced Technologies*, 32(3), 1086-1100.
- Kosanić, M. A. R. I. J. A. N. A., Ristić, S. V. E. T. L. A. N. A., Stanojković, T. A. T. J. A. N. A., Manojlović, N. E. D. E. L. J. K. O., & Ranković, B. R. A. N. I. S. L. A. V. (2018). Extracts of five *Cladonia* lichens as sources of biologically active compounds. *Farmacia*, 66(4), 644-651.
- Kosanić, M., & Ranković, B. (2019). Lichen secondary metabolites as potential antibiotic agents. *Lichen secondary metabolites: bioactive properties and pharmaceutical potential*, 99-127.
- Kosanić, M., Ranković, B., Stanojković, T., Rančić, A., & Manojlović, N. (2014). *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 518-525.
- Lumbsch, H. T., & Huhndorf, S. M. (2010). Part One. Outline of Ascomycota-2009. Part Two. Notes on Ascomycete Systematics. Nos 4751-5113. *Fieldiana: life and earth sciences*, 1.
- Miadlikowska, J., Kauff, F., Hofstetter, V., Fraker, E., Grube, M., Hafellner, J., ... & Lutzoni, F. (2006). New insights into classification and evolution of the Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota) from phylogenetic analyses of three ribosomal RNA-and two protein-coding genes. *Mycologia*, 98(6), 1088-1103.
- Mitrovic, T. L., Stamenkovic, S. M., Cvetkovic, V. J., Radulovic, N. S., Mladenovic, M. Z., Stankovic, M. S., ... & Markovic, S. D. (2015). Contribution to the knowledge of the chemical composition and biological activity of the lichens *Cladonia foliacea* hud s.(wild.) and *Hypogymnia physodes* (l.). *Oxidation Communications*, 38(4A), 2016-2032.

- Mitrović, T., Stamenković, S., Cvetković, V., Tošić, S., Stanković, M., Radojević, I., ... & Marković, S. (2011). Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species. *International journal of molecular sciences*, 12(8), 5428-5448.
- Mitscher, L. A., Drake, S., Gollapudi, S. R., & Okwute, S. K. (1987). A modern look at folkloric use of anti-infective agents. *Journal of natural products*, 50(6), 1025-1040.
- Molnár, K., & Farkas, E. (2010). Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 65(3-4), 157-173.
- Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in colloid and interface science*, 156(1-2), 1-13.
- Nishanth, K. S., Sreerag, R. S., Deepa, I., Mohandas, C., & Nambisan, B. (2015). Protocetraric acid: an excellent broad spectrum compound from the lichen *Usnea albopunctata* against medically important microbes. *Natural product research*, 29(6), 574-577.
- Perry, N. B., Benn, M. H., Brennan, N. J., Burgess, E. J., Ellis, G., Galloway, D. J., ... & Tangney, R. S. (1999). Antimicrobial, antiviral and cytotoxic activity of New Zealand lichens. *The Lichenologist*, 31(6), 627-636.
- Philip, D. (2010). Green synthesis of gold and silver nanoparticles using *Hibiscus rosa sinensis*. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 42(5), 1417-1424.
- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, 27(1), 76-83.
- Rattan, R., Shukla, S., Sharma, B., & Bhat, M. (2021). A mini-review on lichen-based nanoparticles and their applications as antimicrobial agents. *Frontiers in Microbiology*, 12, 633090.
- Sahdev P, Podaralla S, Kaushik RS, Perumal O. 2013. Calcium phosphate nanoparticles for transcutaneous vaccine delivery. *J Biomed Nanotechnol*. 9(1):132-41.
- Selbmann, L., Zucconi, L., Ruisi, S., Grube, M., Cardinale, M., & Onofri, S. (2010). Culturable bacteria associated with Antarctic lichens: affiliation and psychrotolerance. *Polar biology*, 33, 71-83.
- Shokri, N., & Javar, H. A. (2015). Comparison of calcium phosphate and zinc oxide nanoparticles as dermal penetration enhancers for albumin. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 77(6), 694.

- Shukla, V., Joshi, G. P., & Rawat, M. S. M. (2010). Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. *Phytochemistry reviews*, 9, 303-314.
- Silver, S. (2003). Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS microbiology reviews*, 27(2-3), 341-353.
- Timbreza, L. P., Delos Reyes, J. L., Flores, C. H., Perez, R. J. L. A., Stockel, M. A., & Santiago, K. A. A. (2017). Antibacterial activities of the lichen *Ramalina* and *Usnea* collected from Mt. Banoi, Batangas and Dahilayan, Bukidnon, against multi-drug resistant (MDR) bacteria. *Austrian Journal of Mycology*, 26, 27-42.

BÖLÜM 2

DENİZ YAŞAMINI eDNA İLE İZLEMEK

Prof. Dr. Figen Esin KAYHAN¹

Dr. Öğr. Üyesi Harika Eylül ESMER DURUEL²

Şeyma KIZILKAYA³

Serra TEKLER⁴

Nazlı Sevim GÖLÇÜK⁵

¹ Marmara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hidrobiyoloji A.B.Dalı.
ORCID: 0000-0001-7754-1356

² Kahramanmaraş İstiklal Üniversitesi, Elbistan Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü.
ORCID: 0000-0002-0792-2062

³ Marmara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü ORCID: 0000-0001-8065-217X

⁴ Marmara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü ORCID: 0000-0002-8298-2612

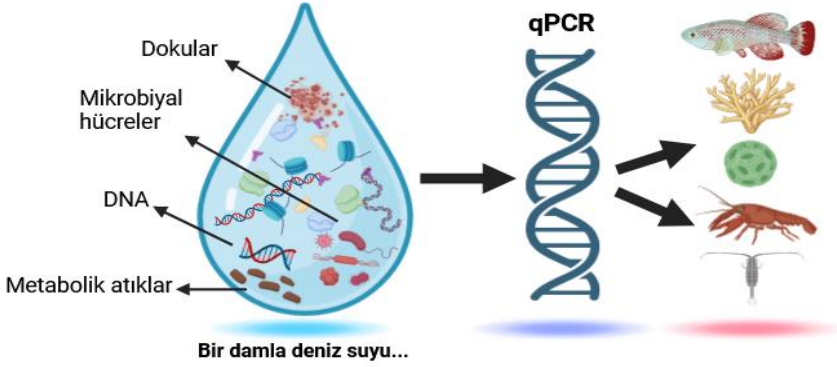
⁵ Marmara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü ORCID: 0000-0002-4397-517X

Su, toprak, hava, sediment, yağmur suyu veya kar gibi çevresel bir örnekten çıkartılan DNA'ya "eDNA" denir. "Çevresel DNA" veya "environmental DNA" olarak bilinen eDNA, son yıllarda araştırmacıların yakından izledikleri güncel ve yenilikçi bir yöntem haline gelmiştir. Sucul habitatlarda yer değiştiren türler arkalarında yumurta ve spermelerini, çeşitli vücut salgılarını, idrar ve deri döküntüleri gibi farklı biyolojik kalıntıları bırakırlar. eDNA yöntemi sayesinde bu hücrelere ait DNA'lar yakalanmakta ve analiz edildiğinde türün izlediği göç yolları bulunabilmektedir. İklim değişikliği ve denizlerin ısınması nedeniyle sucul ortamlarda omurgalı ve omurgasız pek çok tür buldukları bölgeden farklı yerlere göç etmektedir. Örneğin; eDNA tespitleri sayesinde henüz öncül olan bazı istilacı türler denizlerde yaygınlaşmadan önce belirlenmekte ve gelecek planlaması yapılabilmektedir. Bu nedenle istilacı, göçmen veya sayıları azalmakta olan sucul ve yarı sucul türlerin tespitinde eDNA yönteminin kullanılması güvenilir sonuçlar vermektedir (Shaw vd. 2017, Borrell vd. 2017; Bohmann vd. 2014). Sucul habitatlarda görülen bu tür değişimlerinin izlenmesi, eski ve yeni tür kayıtlarının karşılaştırılması tür stoklarının bilinmesi ve izlenmesi açısından önemlidir. Türe özgü eDNA izolasyon yöntemi aynı zamanda doğada hassas türlerin korunması amacıyla da kullanılmaktadır.

Deniz eDNA'sı nedir?

"Okyanuslar ve denizler içinde yaşayan türlerin genetik materyalleriyle dolu bir çorbadır" (Kelly vd., 2014). Deniz eDNA'sı, bir miktar deniz suyunun küçük gözenekli bir filtreden geçirilmesiyle toplanan herhangi bir ekstrakte edilebilir DNA olarak tanımlanabilir. Bilindiği gibi DNA (deoksiribonükleik asit) organizmaların tüm hücrelerinde bulunan ve yaşamsal biyolojik direktifler veren kalıtsal bir materyaldir (Chavez ve LaScala-Gruenewald, 2021; Chavez vd., 2021). Deniz suyunda bulunan bakteriler, arkeler, fitoplanktonlar gibi küçük organizmalar söz konusu olduğunda eDNA canlı hücrelerden kolaylıkla elde edilebilir. Zooplanktonlar, balıklar veya deniz memelileri gibi daha büyük organizmalarda ise dökülen dokular, deri ve pul döküntüsü, dışkı, metabolik sıvılar ve çözülmüş diğer moleküllerden DNA elde edilebilir (Pawlowski vd., 2020; Rodríguez-Ezpeleta vd., 2021). (Şekil.1). Merkezi ABD'de bulunan ve denizdeki yaşamın ekolojisi ve değişkenliğini incelemek için çevresel DNA'yı kullanan bazı büyük ölçekli projelerin olduğunu biliyoruz. Bunlardan biri olan Deniz Biyolojik Çeşitliliği Gözlem Ağı (Marine Biodiversity Observation Network) uluslararası projeler bağlamında denizlerde ve okyanus sularında tür çeşitliliğini belirlemek amacıyla çalışmalar yapmaktadır. Uluslararası bu

projelerde açık denizlerden eDNA elde etmek amacıyla yerinden örnek toplama işi gemilere bağlanan örnek toplama ekipmanları ile sağlanmaktadır.

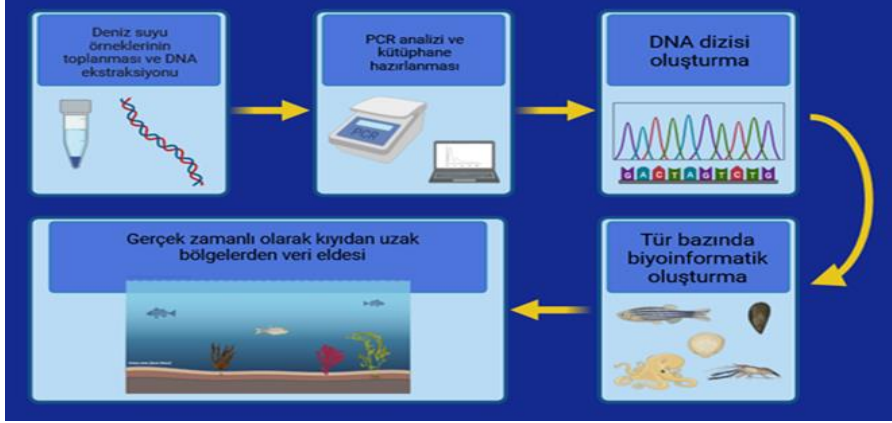


Şekil 1. Deniz suyunda asılı kalan deniz eDNA'sı canlı hücreler, metabolik atıklar, organizma parçaları, çeşitli dokular veya çözülmüş organik materyal içerir. Uygun primerler kullanılarak yapılan qPCR analizi ve metabarkodlama sayesinde biyolojik çeşitlilik ve tür teşhisi gerçekleştirilmektedir.

Su örnekleri CTD (iletkenlik, sıcaklık ve derinliğin kısaltması) şişelere otomatik olarak toplanır. Otomatik numune toplama, manuel olarak toplamaya kıyasla çok avantajlar sağlar. Gemi, bir okyanus akıntısı boyunca ve sabit bir izotermde sürekli olarak ilerlerken numuneler toplayabilir veya bir demirleme yerinde zaman serileri elde edebilir. Gemideki bir bilgisayar ile bağlantılı olarak alınan su örnekleri gerçek zamanlı olarak analiz edilir. Uzaktan kumandalı bir cihaz, cihazın çıkışı sırasında su şişelerinin seçici olarak kapatılmasını sağlar. Standart bir CTD şişesi ile su derinliğine bağlı olarak veri toplamak birkaç saatte tamamlanabilir. Yüzeyden yaklaşık 3000 metreye kadar inebilen cihaz, basınç, iletkenlik, sıcaklık, çözülmüş oksijen, klorofil ve eDNA elde edebilecekleri biyolojik parçacıkları toplar. Bu şekilde bilim insanları belirli yer ve zamanlarda su kolonunun fiziksel ve biyolojik özellikleri hakkında bilgi edinebilirler.

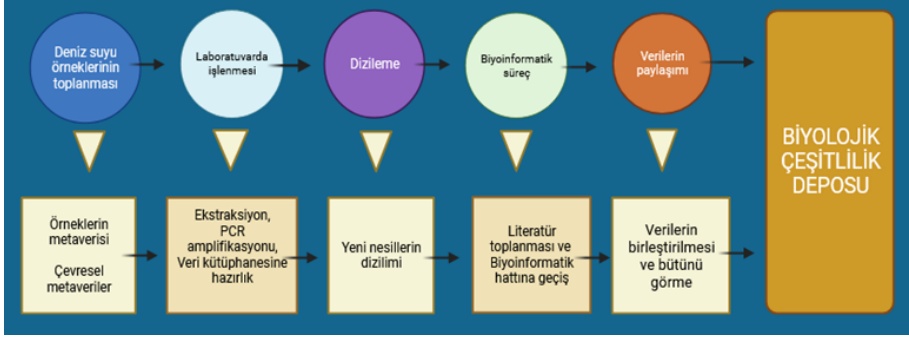
DNA yapısı tüm canlılarda aynı olmakla birlikte, baz çiftlerinin sıralamaları ve dizilişlerindeki değişiklikler organizmaların birbirlerinden farklı olmasına neden olur. eDNA ise organizma tarafından ortama salınan “mitokondriyal DNA”dır (Sahu vd., 2023; Seymour vd., 2020; Richards vd., 2022). Elbette ki, sucul ortamdaki fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçler eDNA'nın yapısını bozabilir (Sacco vd., 2021). Örneğin; mikrobiyal aktiviteler, tuzluluk, ısı ve UV radyasyonu gibi etkiler çevreye salınan DNA'nın yapısını bozar, sudaki akıntılar ise örneklerin yakalanmasını zorlaştırır. Yine de eDNA metabarkodlama sistemi, canlıya temas etmeden sadece ortama bıraktığı biyolojik ve genetik

materyallerinin elde edilmesi ile türün analizini mümkün kılan bir yöntemdir. eDNA kavramı, çevresel örneklerden izole edilen toplam DNA havuzunu ifade eder (Pawlowski vd.,2020). Yani, bu yöntemle ortamda bulunan biyoçeşitliliği belirlemek mümkündür.



Şekil 2. Çok uzak olmayan bir gelecekte, halihazırda insanlar tarafından yürütülen nispeten karmaşık eDNA işleme prosedürleri tamamen otomatik hale gelebilir. Okyanus ve denizlerde dolaşan gemiler bu konuda en kullanışlı araçlar. Bu otomasyon, denizdeki yaşamla ilgili bilgilerin toplanmasını okyanus ve denizlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik dinamiklerini izlemeye çok sayıda avantajlar sağlayacaktır.

eDNA yönteminde, eDNA'nın ekstraksiyonu amacıyla bir dizi PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) analizi gerekmektedir. Gerçek zamanlı PCR (qPCR) sayesinde bu analiz birkaç saat gibi çok daha kısa zamanda gerçekleştirilebilir (Rees vd., 2014). eDNA yönteminin avantajları arasında, örnekleme için az miktarda numunenin (su, sediment, çamur vs.) yeterli olması, maliyetin nispeten az olması, daha kısa zamanda sonuç alınması ve en önemlisi güvenilir ve kesin sonuçlar elde edilmesi sayılabilir (Kuwae vd., 2020; Martino vd., 2019).

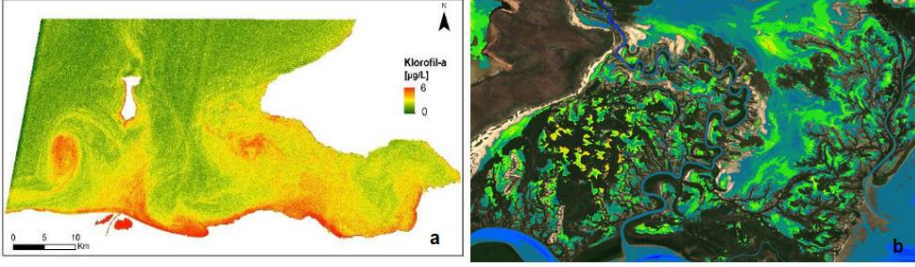


Şekil 3. Farklı laboratuvarlardan/ülkelerden gelen bilgilerin büyük ölçekli analiz için entegre edilebilmesi için meta verilerin, numune toplamadaki laboratuvarında işleme, biyoinformatiğe ve depolamaya kadar eDNA iş akışı boyunca titizlikle bir araya getirilmesi gerekir.

Deniz suyu eDNA araştırmalarında neler yapılabilir?

Son yıllarda denizlerdeki yaşamın ekolojisi ve değişkenliğini incelemek için çevresel DNA'nın kullanımı çeşitli çalışma ve projelerle artış göstermektedir. Nispeten yeni bir moleküler yöntem olmasıyla birlikte hızla büyüyen bir ivmeyle özellikle sucul ortamlardaki organizmaların varlığını ve zaman içindeki değişen dağılımını tespit etmede yaygın olarak kullanılmaktadır. eDNA analizleri, geleneksel gözlem yöntemlerine benzer, daha pratik, tamamlayıcı nitelikte ve kesin sonuçlar vermesi nedeniyle tercih edilmektedir. Dahası, teknoloji geliştirme ve yöntemlerin standardizasyonu yoluyla eDNA, küresel deniz biyolojik çeşitliliğinin çok daha iyi anlaşılmasına yol açabilir. Örneğin; uydu ve uzaktan algılama gibi yeni teknolojiler dünya süreçlerine ilişkin bilgilerimizin küresel boyutta değişmesine neden oldu.

Bu yeni teknolojiler, dünya ekosistemlerinin zamansal ve mekansal dinamiklerini farklı şekillerde yorumlamamıza neden oldu. Örneğin; deniz ortamlarında, okyanus sıcaklığı, deniz seviyesi ve deniz birincil verimliliğindeki değişikliklerin ayrıntıları, uydu uzaktan algılama teknolojisi sayesinde büyük ölçüde ilerlemiştir. Benzer şekilde eDNA analizlerinin de deniz ekosistemlerinin yapısı ve dinamikleri hakkında yeni bir bakış açısı sunduğunu görebiliriz. Örneğin; okyanus klorofilinin uzaydan tahmin edilebileceği düşüncesi ilk olarak yarım yüzyıl önce ortaya atılmıştı. Şüphesiz karşılanan tepkilerin ve deniz optiği topluluğunun uzun yıllar süren dikkatli çalışmasının ardından, küresel çapta rutin olarak güvenilir günlük okyanus yüzey klorofil bilgileri üretilebilmektedir. (Şekil 4 a,b).



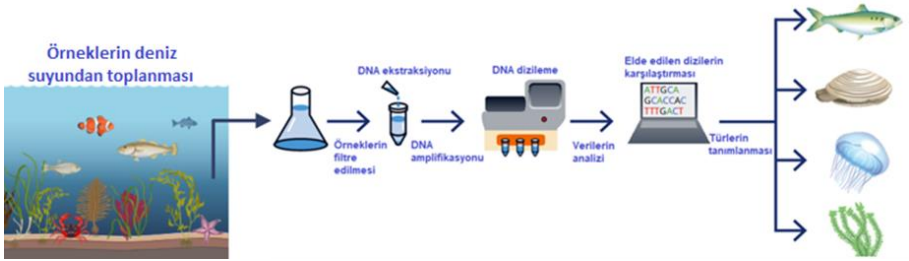
Şekil 4 a,b. Sentinel-2 Uydu görüntüsünde klorofil-a parametresinin mekânsal dağılımının gösterilmesi (Sunar ve ark. 2023; Kravitz & Matthews, 2020).

Sucul ekosistem için fitoplankton türleri ve zararlı alg patlamaları gibi birincil üretim organizmalarının biyokütlelerinde görülen artışlar ve azalmalar çok önemli parametrelerdir (Lugoli vd., 2012). Deniz ortamında askıda kalan DNA konsantrasyonu, yüzey sularındaki planktonik organizmaların konsantrasyonu ile ilişkilidir (Closek vd., 2019). Fitoplanktonun büyüüp çoğaldığı güneşli yüzeylerde toplam asılı DNA en yüksek orandadır. Fitoplankton topluluklarının geniş taksonomik çeşitliliği göz önüne alındığında, geleneksel morfolojik sınıflandırma yöntemleriyle tanımlama oldukça yavaş, zor ve masraflı olabilmektedir (Pérez-Burillo vd., 2021). Metabarkodlama yaklaşımı sayesinde ise hem mikroskobik yöntemlerle gözden kaçabilen küçük türleri hem de ortamda az miktarlarda bulunan türler tespit edilebilir (Seymour vd., 2020; Garcia-Vazquez vd., 2021). Ayrıca çeşitli deniz ortamlarında fitoplankton gruplarının dağılımını gözlemlemek için de uygulanmaktadır (Penna vd., 2017; Piredda vd., 2018; Pujari vd., 2021; Balkıs, 2004). Böylece eDNA metabar kodlaması, fitoplankton kompozisyonunun yanı sıra değişen çevre koşullarının etkileri hakkında da detaylı bilgi verilmesine olanak sağlamaktadır (Seymour vd., 2020; Djurhuus vd., 2020).

DNA Barkodlama Nedir?

DNA barkodlama (metabarkodlama), türlere özel DNA profillerini ortaya çıkartan, organizmalar tarafından çevreye yayılan genetik izlerin alınmasına dayanan ve su ortamları da dahil olmak üzere çeşitli ekosistemlerdeki türlerin keşfedilmesine ve tanımlanmasına yönelik yenilikçi bir yöntemdir. İçeriği bilinmeyen çevresel bir örnek içerisinde yer alan çok sayıda taksonu ön ayırım gerektirmeksizin “barkod” olarak adlandırdığımız bir ya da birkaç gen bölgesinin dizilenmesi ve analiz edilmesi yoluyla eş zamanlı tanımlamaya izin veren bir DNA barkodlama yaklaşımıdır (Pitz vd., 2020; Richards vd., 2022). DNA barkodlama, gıda veya üretim ortamından alınan herhangi bir numunede bulunan tüm türleri (ör: hayvanlar, bitkiler, allerjenler, mikroorganizmalar vs.) tespit

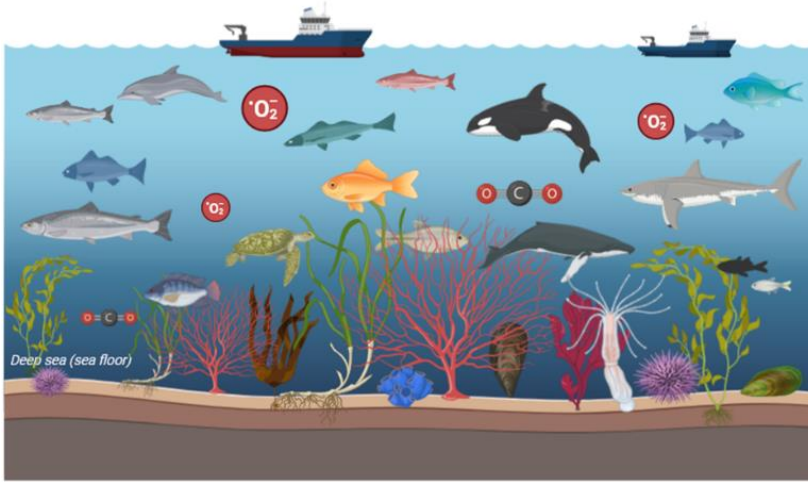
edebilen yenilikçi bir teknolojidir (Douglas vd., 2020; Ozbayram vd., 2022). Bu yöntemde herhangi bir organizmanın genomundaki DNA dizileme farklılıkları o türün tanımlanmasında ayırt edici biyolojik barkodlar olarak kullanılmaktadır. DNA dizileri, DNA barkod veri tabanındaki dizilerle karşılaştırılarak, türlerin kesin olarak tanımlanmasında adeta bir teşhis anahtarı oluşmaktadır. DNA barkodlama yönteminde; önce örneklerden DNA izolasyonu, daha sonra PCR sayesinde DNA'nın hedef bölgesinin çoğaltılması ve hedef bölgenin dizi analizinin yapılması aşamaları bulunmaktadır. En sonunda elde edilen DNA dizileri türlere özel barkodlar olarak veri bankalarında kayıtlı olarak yerini alır. DNA metabarkodlama günümüzde biyoteknoloji, hayvancılık, tarımsal ürünler ve gıda sahteciliğinden tutun da adli tıp, genetik çeşitlilik ve tür belirlemeye kadar pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Vuorio vd., 2020). eDNA analizleri için mevcut teknikler iki kategoriye ayrılabilir. Bunlar, doğrudan bir türü hedefleyenler (örneğin, belirli bir organizmanın genetik imzasını tespit etmek için kantitatif PCR veya gerçek zamanlı qPCR aracılığıyla olanlar) ve geniş takson gruplarını (örneğin bakteriler, fitoplankton, omurgasızlar, omurgalılar gibi) hedeflemek için metabar kodlamayı kullananlar olarak ayrılabilir. Metabar kodlamada bir genin kısa fakat oldukça değişken kısımları (200-400 baz çifti) hedeflenir. Değişken hedef bölge, primerler olarak adlandırılan kısa eDNA bölümlerinin bağlandığı ve PCR yoluyla değişken bölgenin kopyalanmasına izin veren iki bölge arasında yer alır. Ürünler daha sonra dizilemeye (sequencing) tabi tutulabilir. Dizilemenin ardından, biyoinformatik yazılım modülleri verilerin kalitesini kontrol etmek, benzersiz dizileri tanımlamak (amplikon dizi varyantları gibi) ve ardından genetik veritabanlarından elde edilen bilgileri kullanarak taksonomik gruplandırma için kullanılır (West vd., 2021; Yates vd., 2021; Zaiko vd., 2021). (Şekil 5).



Şekil 5. Deniz suyundan elde edilen eDNA'nın tür teşhisine kadar giden prosedürü.

Biyozleme neden önemlidir?

Biyozleme (Biyolojik izleme), ortamın son ekolojik durumunu tespit etmek, istilacı ve göçmen biyolojik çeşitliliği karakterize etmek ve çevresel kirlilik hakkında bilgi vermek için gerekli prosedürleri kapsar. Biyozleme sayesinde çeşitli olumsuz çevre senaryolarına karşı geleceğe dönük ekolojik modellemeler oluşturulabilir. Bu sayede türlerin korunması ve sürdürülebilir ekolojik yaşamları için bazı öngörüler geliştirilebilir. Ayrıca, nesli tehlike altında olan türlerin yakalanması, bazı etik kurallar ve izinler gerektirdiği için eDNA yöntemi sayesinde bu türlerin hakkında bilgi edinmek kolaylaşmaktadır. Dışkı, idrar, mukus, gametler, dökülen deri, saç, kan, epidermal hücreler ve detritus gibi atıklar, toprakta, organik çökeltilerde ve sudaki eDNA'nın kaynağıdır. eDNA'nın bozulma hızı; ultraviyole ve radyasyona maruz kalma, asitlik ve sıcaklık, mekanik kuvvetler, oksijenasyon gibi bir dizi çevresel ve biyolojik faktöre bağlı olarak değişir (Truelove vd., 2019; van der Loos vd., 2021; Vuorio vd., 2020).



Şekil 6. Çevresel DNA, sürekli değişen bir dünyada denizdeki yaşamı gözlemlemek için hızla önemli bir araç haline gelmektedir. Bölgesel değişiklikler sıklıkla büyük ölçekli küresel çevresel değişkenlik ve değişimden kaynaklanmaktadır. Deniz yaşamındaki değişikliklerin kapsamını ve yönünü anlamak, karar vericilere sağlıklı bir okyanusu korumak için gerekli bilgileri sağlayacaktır.

Sucul ekosistemlerde eDNA çevresel koşullara bağlı olarak bir gün ila 21 güne kadar hayatta kalabilmektedir (Jayasankar, 2017; Jensen vd., 2021). Son yıllarda ekolojik kökenli biyozleme araştırmalarında canlıların dökükleri DNA'larının tespiti, analizi ve karakterizasyonunu hedef alan çalışmalar ön plana çıkmaktadır (Garcia-Vazquez vd., 2021;).

eDNA Çalışmalarının Tarihi

“Çevresel DNA” terimi ilk olarak mikrobiyolojide (Ogram vd., 1987), öncelikle hedef mikroorganizmaları izole etmeden önce sadece az bir toprak çevresel örneğinden DNA toplama tekniğini tanımlamak için kullanılmıştır (Evans vd., 2019). Ancak araştırmacıların makro organizmaları değerlendirmek için eDNA'yı kullanmaya başlaması 2000'li yılların başına kadar mümkün olmamıştır. Sucul ortamda balık biyokütlesinin değerlendirilmesi ve eDNA tespit olasılığının belirlenebilmesi için “eDNA” teriminin pekiştirildiği yenilikçi çalışmalar ilk olarak 2012 yılı ve sonrasında gerçekleştirilmiştir (Takahara vd., 2012, Taberlet vd., 2012; Yoccoz vd., 2012, Miaud ve diğerleri, 2012). Bu nedenle 2012 yılı eDNA'nın kısa ama yoğun tarihinde bir mihenk taşı olarak kabul edilebilir. Takip eden on yılda ise, eDNA analizleri mercan resifleri ve derin deniz ortamları da dahil olmak üzere her tür su ve kara ekosisteminde geliştirildi, test edildi ve uygulandı (Beng ve Corlett, 2020, Sacco vd., 2022, Richards vd., 2022; McClenaghan vd., 2020). Hatta eDNA gelişmeleri bilim çevrelerinde “korumayı dönüştüren sessiz bir devrim” olarak tanımlandı ve son on yılda biyoizleme ve benzer tüm disiplinler için muazzam faydalar sağladı. Çevresel DNA biyoizlemesi, gezegenimizin karşı karşıya olduğu çok çeşitli antropojenik olan/olmayan stres faktörlerinin etkisini değerlendirmek için en temel prosedürlerden biri olma potansiyeline sahiptir. eDNA araştırmalarında güdülen bu yeni tarz “ekolojik anlayış yaklaşımı” yenilikçi bir ivmeye sahip görünmektedir.

Gelecekte kullanmak üzere eDNA veri tabanlı koleksiyon oluşturmak

eDNA analizinin diğer biyolojik gözlem yöntemlerine göre en büyük avantajlarından biri, aynı su örneğinden birçok farklı boyut ve sınıftaki organizmayı ayırt edebilme yeteneğidir. Ayrıca arşivlenmiş bir eDNA örneği gelecekte geliştirilmiş yöntemlerle de analiz edilebilecektir. Çevresel örneklerden elde edilen eDNA'nın korunması ve arşivlenmesi adeta bize "zamanda geriye gitme" olanağı sağlar (Weigand vd., 2019). Pek çok ortamın ve ekosistemin önemli ölçüde değiştiği, hızla farklılaşan dünyamız, gelecekteki kullanımları göz önünde bulundurarak örnekleri bugünden toplamak, birçok ekosistemin doğal durumlarını insan etkisinden ayırmamıza yardımcı olabilir.

Sonuç

Gezegenimizde güçlü küresel ve çevresel değişimlerin yaşandığı son yıllarda, biyolojik izlemenin bu değişiklikleri yeterli hassasiyet ve güvenilirlikle doğru bir şekilde yakalayabilmesi her zamankinden daha önemli bir hal almıştır. Gezegenimiz doğasının aldığı hasarlar açısından geriye dönüp baktığımızda,

hangi dersleri aldığımız ve gelecekte benzer hataların tekrarlanmaması en önemli ekolojik hedeflerimiz olmalıdır. Güncel “eDNA” sayesinde yeni temel metodolojileri geliştirmek kadar, türe ve taksonlara özgü protokoller geliştirmek gibi hususları tartışmak ve eksik bilgi boşluklarını belirlemek de önemlidir. Amaç, sucul ortamdaki biyolojik çeşitliliğin izlenmesine ilişkin en güvenilir ve kapsamlı eDNA kılavuzlarını ortaya koyabilmek olmalıdır. Denizlerin tür kompozisyonu, ticari ve ticari olmayan şekilde hasat edilen türlerin biyokütlesi ve bolluğu balıkçılıkta kaynak yönetimi için kritik öneme sahiptir. eDNA tekniği hiçbir ekosisteme veya tehdit altındaki türlere asla zarar vermez. Geleneksel balık stoğu değerlendirme yöntemleri büyük ölçüde görsel araştırmalar, troller, gırgır ağları ve doku biyopsileri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bunlar maliyetli, zaman alıcı, istilacı, çevreye zararlı ve yanlış tanımlamaya yatkın yöntemlerdir. Ekosistem değerlendirmesinin için daha verimli, hassas, müdahalesiz ve uygun maliyetli yöntemlerin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Bu yüzden de geleneksel araştırma yöntemlerini destekleyen eDNA kullanımına artan bir ilgi vardır. Çevresel DNA analizi son yıllarda yaygın olarak kabul görmeye başlamış ve tatlı su ve deniz balıkları gibi suda yaşayan makrofaunanın varlığının ve yokluğunun tespitinde kullanılmaktadır. eDNA tekniğinin biyolojik çeşitlilik araştırmaları ve su ekosistemlerinin korunması için yeni nesil bir araç olma potansiyeline sahip olduğu görülmektedir.

Kaynaklar

- Balkıs, N. (2004). List of phytoplankton of the Sea of Marmara. *J Black Sea/Mediterranean Environmental*, 10,123–141.
- Beng, K.C, and Corlett, R.T. (2020). Applications of environmental DNA (eDNA) in ecology and conservation: opportunities, challenges and prospects. *Biodiversity Conservation*, 29, 2089–2121. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-01980-0>.
- Bohmann, K., A. Evans, M.T.P. Gilbert, G.R. Carvalho, S. Creer, M. Knapp, D.W. Yu, and M. de Bruyn. (2014). Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, 29(6):358–367. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.04.003>.
- Chavez, F., K. Pitz, and D. LaScala-Gruenewald. (2021). 18S Monterey Bay Time Series: An eDNA data set from Monterey Bay, California, including years 2006, 2013–2016. United States Geological Survey. Occurrence data set. <https://doi.org/10.15468/84ntea>.
- Chavez, F.P., M. Min, K. Pitz, N. Truelove, J. Baker, D. LaScala-Gruenewald, M. Blum, K. Walz, C. Nye, A. Djurhuus, R.J. Miller, K.D. Goodwin, F.E. Muller-Karger, H.A. Ruhl, and C.A. Scholin. (2021). Observing life in the

- sea using environmental DNA. *Oceanography*, 34(2):102–119. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2021.218>.
- Closek, C.J., J.A. Santora, H.A. Starks, I.D. Schroeder, E.A. Andruszkiewicz, K.M. Sakuma, S.J. Bograd, E.L. Hazen, J.C. Field, and A.B. Boehm. (2019). Marine vertebrate biodiversity and distribution within the Central California Current using environmental DNA (eDNA) metabarcoding and ecosystem surveys. *Frontiers in Marine Science*, 6:732-742. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00732>.
- Djurhuus, A., C.J. Closek, R.P. Kelly, K.J. Pitz, R.P. Michisaki, H.A. Starks, K.R. Walz, E.A. Ndruskiewicz, E. Olesin, K. Hubbard, and others. (2020). Environmental DNA reveals seasonal shifts and potential interactions in a marine community. *Nature Communications* 11(1):254. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14105-1>.
- Douglas, K.E., Shea, P.J., & Porzecanski, A.L. (2020). What's in the Water? Using environmental DNA for Marine Monitoring and Planning. 10(1)29–48. <http://ncep.amnh.org/linc>
- Evans, N.T., Shirey, P.D., Wieringa, J.G., Mahon, A.R., and Lamberti, G.A. (2017). Comparative cost and effort of fish distribution detection via environmental DNA analysis and electrofishing. *Fisheries* 42(2), 90–99. <https://doi.org/10.1080/03632415.2017.1276329>.
- Garcia-Vazquez E, Georges O, Fernandez S, and Ardura A. (2021). eDNA metabarcoding of small plankton samples to detect fish larvae and their preys from Atlantic and Pacific waters. *Sci Rep*. 11:7224. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86731-z>
- Jayasankar, P. (2017). Environmental DNA (eDNA) metabarcoding-based estimation of marine stocks. CMFRI, Kochi, India. 317-319. <http://eprints.cmfri.org.in/id/eprint/12194>.
- Jensen, M.R., E.E. Sigsgaard, S. Liu, A. Manica, S.S. Bach, M.M. Hansen, P.R. Moller, and P.F. Thomsen. (2021). Genome-scale target capture of mitochondrial and nuclear environmental DNA from water samples. *Molecular Ecology Resources*. 21(3):690–702. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13293>.
- Kelly, R.P., J.A. Port, K.M. Yamahara, and L.B. Crowder. (2014). Using environmental DNA to census marine fishes in a large mesocosm. *PLoS One*. 9(1):e86175. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086175>.
- Kravitz, J & Matthews M. (2020). Chlorophyll-a for cyanobacteria blooms from Sentinel-2. *CyanoLakes*.

- Kuwae, M., H. Tamai, H. Doi, M.K. Sakata, T. Minamoto, and Y. Suzuki. (2020). Sedimentary DNA tracks decadal-centennial changes in fish abundance. *Communications Biology*. 3(1):558. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01282-9>.
- Lugoli F, Garmendia M, and Lehtinen S. (2012). Application of a new multi-metric phytoplankton index to the assessment of ecological status in marine and transitional waters. *Ecol. Indic.* 23:338–355. <https://doi.org/10.1016/j.ecoli nd.2012.03.030>
- Martino, C., J.T. Morton, C.A. Marotz, L.R. Thompson, A. Tripathi, R. Knight, and K. Zengler. (2019). A novel sparse compositional technique reveals microbial perturbations. *MSystems*. 4(1):115-120. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00016-19>.
- McClenaghan, B., Z.G. Compson, and M. Hajibabaei. (2020). Validating metabarcoding-based biodiversity assessments with multi-species occupancy models: A case study using coastal marine eDNA. *PLoS ONE* 15(3):e0224119, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224119>.
- Ogram, A. (1987). The extraction and purification of microbial DNA from sediments. *Journal of Microbiological Methods*. 7, 57–66. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(87\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0167-7012(87)90025-X)
- Ozbayram EG, Akcaalan R, Isinibilir M, Albay M. (2022). Insights into the bacterial community structure of marine mucilage by metabarcoding. *Environ Sci Pollut Res* 29:53249–53258. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19626-9>
- Pawlowski, J., L. Apothéloz-Perret-Gentil, and F. Altermatt. (2020). Environmental DNA: What's behind the term? Clarifying the terminology and recommendations for its future use in biomonitoring. *Molecular Ecology*. 29(22):258-264. <https://doi.org/10.1111/mec.15643>.
- Penna A, Casabianca S, Guerra AF et al., (2017). Analysis of phytoplankton assemblage structure in the Mediterranean Sea based on high-throughput sequencing of partial 18S rRNA sequences. *Mar Genomics*. 36:49–55. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2017.06.001>
- Pérez-Burillo J, Trobajo R, Leira M et al., (2021). DNA metabarcoding reveals differences in distribution patterns and ecological preferences among genetic variants within some key freshwater diatom species. *Sci Total Environ*. 798:149029. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149029>
- Piredda R, Claverie JM, Decelle J et al., (2018). Diatom diversity through HTS-metabarcoding in coastal European seas. *Sci Rep*. 8:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36345-9>

- Pitz, K.J., J. Guo, S.B. Johnson, T.L. Campbell, H. Zhang, R.C. Vrijenhoek, F.P. Chavez, and J. Geller. (2020). Zooplankton biogeographic boundaries in the California Current System as determined from metabarcoding. *PLoS ONE*. 15(6):e0235159, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235159>.
- Pujari L, Wu C, Kan J et al., (2019). Diversity and spatial distribution of chromophytic phytoplankton in the bay of bengal revealed by RuBisCO Genes (rbcL). *Front Microbiol* 10:1-17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01501>
- Rees, H.C., Maddison, B.C., Middleditch, D.J., Patmore, J.R.M., and Gough, K.C. (2014). The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *J. Appl. Ecol.* 51 (5), 1450–1459. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12306>.
- Richards, Z.T., Stat, M., Heydenrych, M., and Di Battista, J.D. (2022). Environmental DNA for biodiversity monitoring of coral reefs. In: van Oppen, M.J.H., Aranda Lastra, M. (Eds.), *Coral Reef Conservation and Restoration in the Omics Age, Coral Reefs of the World*. Springer International Publishing, Cham. pp. 203–224 https://doi.org/10.1007/978-3-031-07055-6_13.
- Rodriguez-Ezpeleta, N., O. Morissette, C.W. Bean, S. Manu, P. Banerjee, A. Lacoursière-Roussel, K.C. Beng, S.E. Alter, F. Roger, L.E. Holman, and et al., (2021). Trade-offs between reducing complex terminology and producing accurate interpretations from environmental DNA: Comment on ‘Environmental DNA: What’s behind the term?’ *Molecular Ecology*. 30(19):4,601-605. <https://doi.org/10.1111/mec.15942>.
- Sacco, M. Blyth, A.J. Humphreys, S.J.B. Cooper, N.E. White, M. Campbell, M. Mousavi-Derazmahalleh, Q. Hua, D. Mazumder, C. Smith, C. Griebler, and K. Grice Rainfall. (2021b). As a trigger of ecological cascade effects in an Australian groundwater ecosystem *Scientific Reports*, 11, 1-15.
- Sahu, A., Kumar, N., Pal Singh C., and Singh, M. (2023). Environmental DNA (eDNA): Powerful technique for biodiversity conservation. *Journal for Nature Conservation*. 71 (2023) 126325.
- Seymour M, Edwards FK, Cosby BJ et al., (2020). Executing multi-taxa eDNA ecological assessment via traditional metrics and interactive networks. *Sci Total Environ*. 729:138801. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138801>
- Sunar, F.A., Dervişoğlu, A., ve Yağmur, N. (2023). Sentinel-2 Uydu Görüntüleri ile Klorofil-a Parametresi Tahmininde Güneş Parıltısının Etkisi. *Harita Dergisi*. 169:1-12.
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., and Rieseberg, L.H. (2012). Environmental DNA. *Mol. Ecol.* 21 (8), 1789–1793. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05542.x>.

- Takahara, T., Minamoto, T., Yamanaka, H., Doi, H., and Kawabata, Z. (2012). Estimation of fish biomass using environmental DNA. *PLoS One*. 7 (4), e35868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035868>.
- Truelove, N.K., E.A. Andruszkiewicz, and B.A. Block. (2019). A rapid environmental DNA method for detecting white sharks in the open ocean. *Methods in Ecology and Evolution*. 10(8):1,128–1,135, <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13201>.
- van der Loos, L.M., and R. Nijland. (2021). Biases in bulk: DNA metabarcoding of marine communities and the methodology involved. *Molecular Ecology*. 30(13):3,270–3,288, <https://doi.org/10.1111/mec.15592>.
- Vuorio K, Mäki A, Salmi P, et al., (2020). Consistency of targeted metatranscriptomics and morphological characterization of phytoplankton communities. *Front Microbiol*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00096>
- Weigand H, Beermann AJ, Čiampor F et al., (2019). DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: gapanalysis and recommendations for future work. *Science of Total Environmental*. 678:499–524. <https://doi.org/10.1016/j.scitoenv.2019.04.247>
- West, K., M.J. Travers, M. Stat, E.S. Harvey, Z.T. Richards, J.D. DiBattista, S.J. Newman, A. Harry, C.L. Skepper, M. Heydenrych, and M. Bunce. (2021). Large-scale eDNA metabarcoding survey reveals marine biogeographic break and transitions over tropical North-Western Australia. *Diversity and Distributions* 27(10):1,942–1,957, <https://doi.org/10.1111/ddi.13228>.
- Yates, M.C., D.M. Glaser, J.R. Post, M.E. Cristescu, D.J. Fraser, and A.M. Derry. (2021). The relationship between eDNA particle concentration and organism abundance in nature is strengthened by allometric scaling. *Molecular Ecology*. 30(13):3,068–3,082, <https://doi.org/10.1111/mec.15543>.
- Yoccoz, N. G., Brathen, K. A., Gielly, L., Haile, J., Edwards, M. E., Goslar, T., and Sonstebø, J. H. (2012). DNA from soil mirrors plant taxonomic and growth form diversity. *Molecular Ecology*. 21, 3647–3655. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05545.x>
- Zaiko, A., P. Greenfield, C. Abbott, U. von Ammon, J. Bilewitch, M. Bunce, M.E. Cristescu, A. Chariton, E. Dowle, J. Geller, and others. (2021). Towards reproducible metabarcoding data: Lessons from an international cross-laboratory experiment. *Molecular Ecology Resources*. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13485>.

BÖLÜM 3

META SINIFLANDIRMA ALGORİTMALARI WEKA İLE BİR UYGULAMA

***Öğr. Gör. Dr. Burcu DURMUŞ¹
Prof. Dr. Öznur İŞÇİ GÜNERİ²
Doç. Dr. Nevin Güler DİNCER³***

¹ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü
ORCID: 0000-0002-0298-0802

² Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü
ORCID: 0000-0003-3677-7121

³ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü
ORCID: 0000-0003-0361-1803

1.GİRİŞ

Günümüzde kurumların farklı kaynaklardan elde ettikleri ham verileri işleyerek bilgi üretmek önemli bir hale gelmiştir. Günümüz uzmanlarına göre en değerli kaynak olarak görülen bu verilerin işlenmesi, veri madenciliği ile mümkündür. Veri madenciliği ham verilerden gizli, önceden bilinmeyen ve fayda sağlayan bilgilerin çıkarılmasıdır. Veri madenciliği ile oluşturulan modeller gelecekteki bilgiler hakkında doğru tahminler oluşturmak için sağlam çıkarımlarda bulunabilir. Veri madenciliği çalışmaları için kullanılan farklı temellere dayanan kümeleme, sınıflandırma ve ilişkilendirme gibi pek çok yöntem bulunmaktadır. Makine öğrenimi algoritmaları, çeşitli veri türlerini analiz etmek ve işlemek için kullanılmaktadır. Bilişim alanında yapılan çalışmalar bu algoritmalar ile daha etkin ve verimli sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır.

Sınıflandırma analizi, veri madenciliği alanında çeşitli yüksek boyutlu veri kümelerinden bilgi çıkarmak için en sık kullanılan ve geniş uygulamaları olan bir tekniktir (Ruzgar, 2020). Bir veri setindeki her bir gözlemi önceden tanımlanmış sınıflara atamak için kullanılır. Sınıflandırmanın temel amacı veri için hedef sınıfı tahmin etmektir (Fan ve Bifet, 2012). Sınıflandırma modellerine için geliştirilmiş birçok yaklaşım bulunmaktadır (Witten ve Frank, 2005; Nápoles, Mosquera, Falcon, Grau, Bello ve Vanhoof, 2005). Bu yaklaşımlar; karar ağaçları, kural tabanlı öğrenme, fonksiyonel öğrenme, Bayesci öğrenme, meta öğrenme şeklinde sayılabilir.

Meta sınıflandırma, birden fazla sınıflandırıcının birleşimiyle yapılan analizleri ifade etmektedir. Böylece daha güçlü tahminler elde edileceği düşünülür (Hansen ve Salamon, 1990). Meta yöntemler Dasarathy ve Sheela (1979) tarafından yapılan bir çalışmaya dayanmaktadır. Çalışma, özellik uzayını çoklu sınıflandırıcı kullanarak bölme fikrine dayanır. Schapire ise 1990 yılındaki çalışmasında topluluk öğrenme yöntemlerinin sınıflandırma problemleri için daha güçlü olabileceğini göstermiştir. Sonraki yıllarda meta sınıflandırıcılar üzerine yapılan çalışmalar çeşitlilik kazanmıştır.

Chan ve Stolfo (1993) meta-öğrenmeyi, her biri bir dizi eğitim verisine uygulanan çoklu öğrenme algoritmalarının sonuçlarını birleştirmek için önermişlerdir. Elde ettikleri ön sonuçlar, belirli meta-öğrenme stratejisinin ve meta-öğrenme algoritmalarının diğerlerinden daha etkili olduğunu; çeşitli stratejilerde bir meta-öğrenici ve temel öğrenicilerin toplanmasıyla tutarlı bir şekilde iyileştirmelerin elde edilebileceğini göstermektedir.

Sohn (1999) veri özelliklerine göre çeşitli sınıflandırma algoritmalarını sıralamak için kullanılacak istatistiksel bir meta model geliştirmiştir. Çalışmasında bu istatistiksel meta-modelin performansının yüksek olduğunu göstermiştir. Meta-modelin doğruluğunu artırmak için bu çalışmada ele alınan veri özelliklerine ek olarak, çok değişkenli veri özelliklerini doğru şekilde tanımlayabilecek daha fazla ölçüm geliştirilmesi gerektiğini ve sınıflandırma algoritmalarının özellik seçimi doğruluğu açısından karşılaştırılmasının kapsamlı bir şekilde araştırılması gerektiğini vurgulamıştır.

Onan (2015) göğüs kanseri üzerine yaptıkları çalışmalarında, topluluk öğrenme algoritmalarının tekli sınıflandırıcılara göre daha başarılı olduğunu göstermişlerdir.

Devi ve Sundaram (2016), dosyaları sınıflandırmak için meta ve ağaç sınıflandırıcılarının performanslarını farklı performans faktörleri uygulayarak analiz etmişlerdir. Deneysel sonuçlardan meta sınıflandırıcının ağaç sınıflandırıcıdan daha verimli olduğunu göstermişlerdir.

Pasha ve Fatima (2017) Hint karaciğer hastası veri kümesini sınıflandırmak için meta öğrenme algoritmalarını analiz etmişlerdir. Veri setine Adaboost, logitboost, Bagging ve Grading meta öğrenme algoritmaları uygulanmıştır. Bu algoritmalar doğru sınıflandırma, yanlış sınıflandırma ve oluşturma süresi modeli temelinde karşılaştırılmıştır. Grading algoritması, hem en yüksek doğru sınıflandırma oranını ve minimum yanlış sınıflandırma oranını verdiği için hem de uygulama süresi daha az olduğu için bu meta öğrenme algoritmaları arasında en iyi algoritma olarak kaydedilmiştir.

Das ve Dash (2020) araba veri seti üzerindeki farklı sınıflandırma algoritmalarının performans analizi için Weka aracı ile yaptıkları çalışmada meta sınıflandırıcı kategorisinin diğer algoritmalara göre daha iyi sınıflandırılmış örnekleri verdiğini rapor etmişlerdir.

Bilgi ve tecrübeyi birleştirmek ve veri madenciliği konusunda uygulamalar yapmak için çeşitli programlara ihtiyaç duyulmaktadır. SPSS Clementine, Excel, SPSS, SAS, Angoss, KXEN, SQL Server, MATLAB ticari ve RapidMiner (YALE), WEKA, R, C4.5, Orange, KNIME açık kaynak olmak üzere birçok program geliştirilmiştir.

Bu çalışmada Weka programı kullanılarak bir uygulama yapılmıştır. Weka, Java veri madenciliği kütüphanesini temel alan ücretsiz açık kaynaklı veri madenciliği yazılımıdır. Weka, farklı veri madenciliği uygulamalarına yönelik çeşitli makine öğrenimi algoritmalarından oluşur. Weka, sınıflandırma,

kümeleme, ilişkilendirme, regresyon, ön işleme ve görselleştirme için çeşitli sınıflandırıcılar içerir. Çalışmada Weka aracının içerisinde ‘karar ağacı’ grubunda bulunan J48 algoritması temel sınıflandırıcı olarak ele alınmış ve ‘meta’ başlığı altında bulunan algoritmalar ile farklı veri setleri analiz edilmiştir.

Çalışmanın geri kalanı şu şekilde organize edilmiştir: 2. bölümde çalışmada kullanılan veri setlerine ilişkin bilgiler verilmiş ve sınıflandırma algoritmaları kısaca tartışılmıştır. 3. bölümde bulgular tartışılmıştır. 4. bölümde ise sonuçlar verilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. VERİ SETLERİ

Bu çalışmada farklı konu alanlarından toplam 20 veri seti kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan veri setleri ücretsiz olarak erişilebilen <https://archive-beta.ics.uci.edu/> internet adresinde bulunan UCI Machine Learning Respository veri tabanından alınmıştır. Tablo 1.’de veri setlerine ilişkin genel bilgiler yer almaktadır.

Tablo 1. Veri setlerine ilişkin bilgiler

veri seti	konu alanı	özellik türü	özellik sayısı	sınıf türü	sınıf sayısı	gözlem sayısı
adult	sosyal bilimler	8 kategorik 6 tamsayı	14	kategorik	2	48842
balance scale	sosyal bilimler	4 kategorik	4	kategorik	3	625
blood transfusion service center	işletme	4 nümerik	4	kategorik	2	748
breast cancer	yaşam bilimleri	8 kategorik 1 tamsayı	9	kategorik	2	286
car evaluation	diğer	6 kategorik	6	kategorik	4	1728
connect-4	oyun	42 kategorik	42	kategorik	3	67557
credit approval	işletme	9 kategorik 6 nümerik	15	kategorik	2	690
dermatology	yaşam bilimleri	33 kategorik 1 nümerik	34	kategorik	6	366
diabetes	yaşam bilimleri	7 nümerik 1 kategorik	8	kategorik	2	768
ecoli	yaşam bilimleri	7 nümerik	7	kategorik	8	336
haberman's survival	yaşam bilimleri	3 nümerik	3	kategorik	2	306

indian liver patient	yaşam bilimleri	4 tamsayı 5 nümerik 1 kategorik	10	kategorik	2	583
ionosphere	fizik	34 nümerik	34	kategorik	2	351
liver disorders	yaşam bilimleri	6 nümerik	6	kategorik	2	345
lymphography	yaşam bilimleri	18 kategorik	18	kategorik	4	148
post-operative patient	yaşam bilimleri	8 kategorik	8	kategorik	3	90
skin segmentation	bilgisayar bilimleri	3 nümerik	3	kategorik	2	245057
spambase	bilgisayar bilimleri	57 nümerik	57	kategorik	2	4601
tic-tac-toe endgame	oyun	9 kategorik	9	kategorik	2	958
user	bilgisayar bilimleri	5 nümerik	5	kategorik	4	258

2.2. META ALGORİTMALAR

Meta algoritmalar kısaca topluluk (ensemble) sınıflandırıcıları gibi birden fazla algoritmayı kullanan veya birleştiren algoritmalar olarak tanımlanabilir. Meta sınıflandırıcılar, daha sağlam tahminler yapmak için birden fazla sınıflandırıcıdan elde edilen kombinasyonların tahminlerini birleştirir. Bir meta sınıflandırıcı ile çözüm elde etmek temel olarak üç adımda gerçekleşir.

- Adım 1. Eğitim veri setinden birden fazla alt eğitim setleri oluşturulur.
- Adım 2. Her bir alt eğitim kümesi farklı sınıflandırıcı kombinasyonları yardımıyla üretilir.
- Adım 3. İkinci adımda elde edilen sonuçlar uygun teknik ile birleştirilir.

Sınıflandırıcıların kombinasyonu için çeşitli sınıflandırma yöntemleri önerilmiştir. Boosting, Bagging, Stacking en bilinen yöntemlerdir. Bu bölümün devamında Weka programında yer alan meta sınıflandırıcılar kısaca açıklanmıştır.

2.2.1. Bagging

Bagging yöntemi Breiman (1996) tarafından önerilmiştir. Bu yöntemde, bir tahmin edicinin birden çok versiyonu oluşturularak birleştirilmiş bir tahmin edici elde edilir (Tu, Shin ve Shin, 2009). Yöntem, mevcut eğitim setinin girdi olarak ele alınmasıyla başlar ve buradan yeni eğitim setleri oluşturularak temel sınıflandırıcı tekrar edilir ve eğitilir. Yeni eğitim setleri için eğitilen öğrenci, bir

test seti üzerinde denenir ve sonuçlar ortalama alınarak hesaplanır. Bagging’de temel amaç, yeni veri setleri üreterek farklılıkları belirlemek ve nihai sınıflandırma başarısını artırmaktır.

Bagging algoritmasının çalışma adımları:

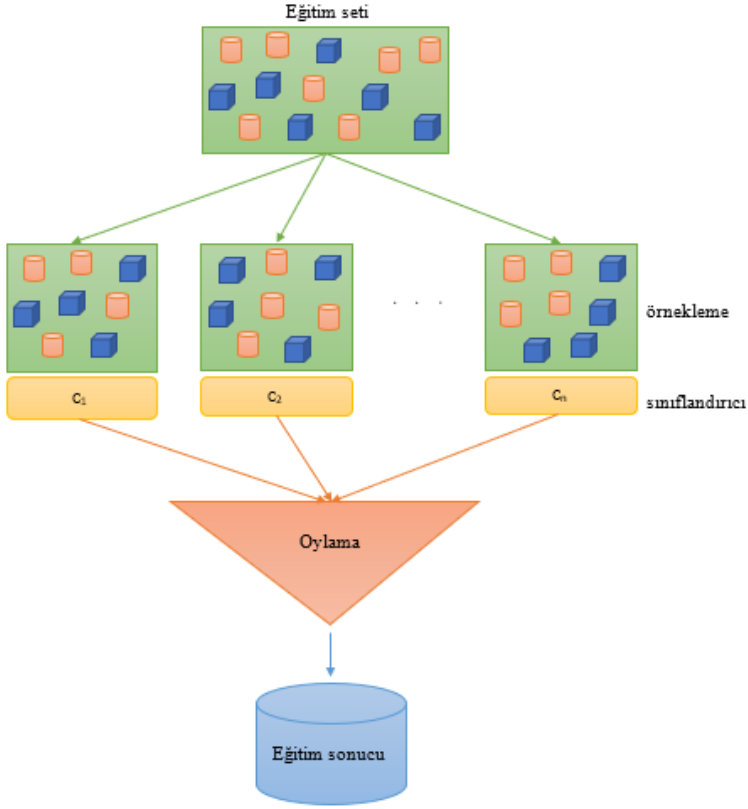
1. Eğitim setinden yaklaşık olarak %63,2’lik bir örneklem rastgele alınır. n işlem sayısı veya eleman sayısı olmak üzere; n sonsuza giderken e sayısının tersi elde edilir. Bu durumda mevcut eğitim kümesinden yaklaşık olarak %36 örneklem hiçbir zaman seçilmeyecektir.

$$(1 - \frac{1}{n})^n \approx e^{-1} = 0.368$$

Seçilmeyen bu örneklerin seçilmesini sağlamak için, eğitim setinden %63,2 kadar örnek $(1-0,368=0.632)$ rastgele seçilir ve yeni bir eğitim seti oluşturulur (Bulut, 2016a; Bauer ve Kohavi, 1999).

2. Alınan örneklerden bazıları çoğaltılır ve eğitim seti %100’e tamamlanır. Böylece birbirinden farklı eğitim setleri elde edilir.
3. Her bir eğitim seti aynı öğrenciye uygulanır.
4. Elde edilen sonuçlar ağırlıklı oylama yöntemiyle birleştirilir (Zhi, 2012).

Bagging’de temel öğrenci karar ağaçlarıdır. Karar ağaçlarını oluşturmak kolaydır ve kararlar hızlıdır. Karar ağacı için öncelikli olarak bir ağaç yapısı oluşturulur. Ağacın yaprakları üzerinde sınıflar yer alır. Gövdeden yapraklara giden düğümler ise karşılaştırmalardır. Ağaç yapısını oluşturmak için, veri setindeki her bir öznitelik için entropi değerleri hesaplanır. Temel öğrencilerin karar ağaçları olması zorunlu değildir, herhangi bir öğrenme algoritması seçilebilir.



Şekil 1. Bagging Algoritması Çalışma Prensipleri

2.2.2. AdaBoost

AdaBoost en çok kullanılan boosting algoritmalarından biridir. İlk olarak Freund ve Schapire (1997) tarafından önerilmiştir. AdaBoost ile daha önceki artırma algoritmalarının pratik zorluklarından birçoğu çözülmüştür (Freund ve Schapire, 1999). Bu nedenle tahmin hızının yüksek olması, az hafıza kullanması, kolay uygulanabilir olması gibi özelliklerden dolayı diğer boosting yöntemlerine göre daha fazla tercih edilmektedir. İlk boosting algoritması olarak sayılır ve bilgisayar dünyasının önemli ödüllerden biri olan Gödel ödülünü kazanmıştır (Güzel, 2020).

AdaBoost algoritmanın çalışma adımları, her bir öznelikten zayıf bir sınıflandırıcı oluşturulması ve bu zayıf sınıflandırıcılardan bir topluluk elde edilmesi mantığına dayanır. Zayıf sınıflandırıcıların karar sınırları her bir öznelik için negatif ve pozitif örneklerin ağırlıklı ortalaması alınarak bulunur. Hata oranı en düşük zayıf sınıflandırıcılar yardımıyla yeni bir güçlü sınıflandırıcı

meydana getirilir. Böylece, güçlü sınıflandırıcı içerisinde yer almayan zayıf sınıflandırıcılara ait öznitelikler silinmiş olur (Bulut, 2016b).

AdaBoost algoritmasının çalışma adımları:

1. Başlangıç olarak veri kümesindeki her bir gözleme eşit ağırlık verilir.

$$w(x_i, y_i) = \frac{1}{N}, i = 1, 2, \dots, n$$

2. Her özellik için bir karar kütüğü oluşturulur ve her ağacın Gini indeksi (Akar ve Güngör, 2012) hesaplanır. Gini indeksi en düşük olan ağaç, ilk kütük olarak modele alınır.

$$\sum \sum j \neq i \left(\frac{f(C_i, T)}{|T|} \right) \left(\frac{f(C_j, T)}{|T|} \right)$$

3. Önceki örneklem ağırlıklarını güncellemek için "Etki" hesaplanır. Burada toplam hata, yanlış sınıflandırılmış veri noktalarının tüm gözlem ağırlıklarının toplamını ifade eder.

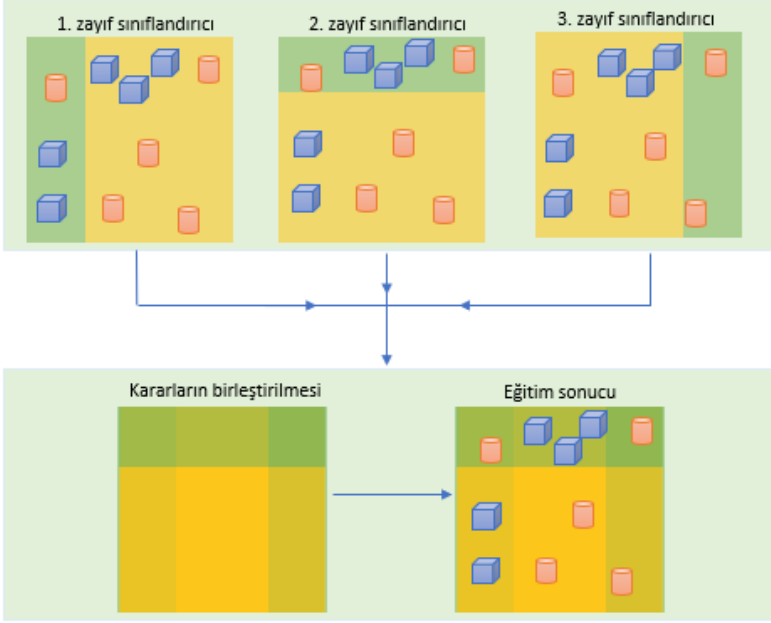
$$\frac{1}{2} \log \frac{1 - \text{Toplam Hata}}{\text{Toplam Hata}}$$

Toplam hata 0 ile 1 arasındadır. 0 güçlü kütüğü ve 1 kötü kütüğü gösterir.

4. Ağırlıklar güncellenir:

$$\text{Yeni örneklem ağırlığı} = \text{eski ağırlık} * e^{\pm \text{sayma miktarı}(\alpha)}$$

5. Düşük bir eğitim hatası elde edilene kadar bu adımlar tekrarlanır.

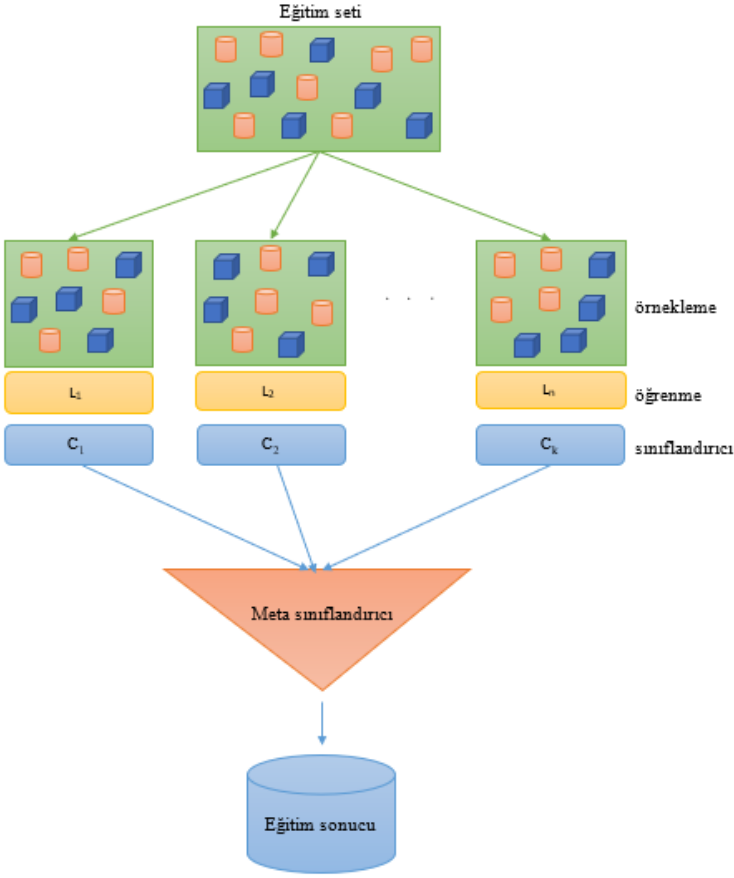


Şekil 3. AdaBoost Algoritması Çalışma Prensipleri

2.2.3. Stacking

Stacking algoritması, birden çok sınıflandırma modelini bir meta sınıflandırıcı aracılığıyla birleştirerek aynı eğitim seti ile eğitir ve birden fazla sınıflandırma modeli elde edilir. Stacking algoritmasında alt modellerin çıktıları girdi olarak alınır. Algoritma iyi bir tahmin için girdi tahminlerinin en iyi nasıl birleştireceğini öğrenmeye çalışır ve model sonunda elde ettiği çıktıyı meta sınıflandırıcıya girdi olarak gönderir. Elde edilen çıktı sınıf etiketi olarak belirlenir (Akram ve Taser, 2020).

Stacking algoritmasında, eğitim veri setinin n farklı alt kümesi oluşturulur. Buradaki alt kümelerde farklı sınıfların nispi oranının korunduğu değiştirmeli tabakalı örnekleme kullanılır. Her sınıflandırıcı için bir meta sınıflandırıcı, performansıyla orantılı bir ağırlık atanarak oluşturulur (Sikora ve Al-laymoun, 2014). Seçilecek meta sınıflandırıcı için herhangi bir kural bulunmamaktadır.



Şekil 3. Stacking Algoritması Çalışma Prensibi

2.2.4. AttributeSelectedClassifier

AttributeSelectedClassifier (ASC) yönteminde eğitim ve test verilerinin boyutu, sınıflandırma analizine başlanmadan önce öznelik seçimi ile azaltılır. Bunun için öncelikle temel eğitim setinin karşılaştırma yapılacak bir alt kümesi oluşturulur. Devamında yeni bir aday alt küme oluşturulur. Bu küme değerlendirme sonucunda daha iyi sonuçlar verirse, en iyi alt küme olarak seçilir. Bu adımlar sonlandırma koşulu sağlanıncaya kadar devam eder. Nitelik sayısı azalmış yeni alt küme ile önceden seçilmiş sınıflandırıcı yardımıyla sınıflandırma işlemi tamamlanır.

ASC yönteminin, diğer yöntemlerde olduğu gibi çeşitli parametreleri vardır. Bu parametrelerden 'evaluator' ve 'search' algoritmalarının seçimi, özellik seçimini doğrudan etkilemektedir. Evaluator, kullanılacak öznelik

değerlendiricisini ayarlar. CfsSubsetEval en yaygın kullanılan yöntemdir. Search ise arama yönteminin seçimidir. BestFirst en yaygın kullanılan arama algoritmasıdır. Her iki özellikte, sınıflandırıcı çağrılmadan önce öznitelik seçim aşamasında kullanılmaktadır.

2.2.5. CVParameterSelection

CVParameterSelection (cross-validation parameter selection-CVPS) yöntemi, herhangi bir sınıflandırıcı için çapraz doğrulama ile parametre seçimi gerçekleştirerek sınıflandırma yapar.

2.2.6. FilteredClassifier

FilteredClassifier (FC) yönteminde, eğitim verileri rastgele bir filtreden geçirilerek sınıflandırma işlemi yapılır. Hem sınıflandırıcının hem de filtrenin yapısı, yalnızca eğitim verilerine dayanır. Test verileri, yapıları değiştirilmeden filtre tarafından işlenir. Eşit olmayan örnek ağırlıkları veya öznitelik ağırlıkları varlığında filtre (veya sınıflandırıcı) bu durumla başa çıkamıyorsa, örnekler filtreye (veya sınıflandırıcıya) iletilmeden önce ağırlıklara göre değiştirilerek yeniden örneklenir.

2.2.7. RandomizableFilteredClassifier

RandomizableFilteredClassifier (RFC) yöntem, modeli rastgele bir filtreye daha spesifik olarak RandomProjection ve temel sınıflandırıcı olarak IBk ile başlatan FC algoritmasının basit bir çeşididir. Çalışma mantığı FC ile çok benzerdir. Rastgele bir filtreden geçirilen eğitim verileri, rastgele bir sınıflandırıcı ile sınıflandırılır. Hem sınıflandırıcı hem de filtrenin yapısı sadece eğitim verilerine dayanır. Test verileri, yapıları değiştirilmeden filtre tarafından işlenir (Hall, Frank, Holmes, Pfahringer, Reutemann ve Witten, 2009).

Algoritma çalışırken rastgeleleştirilebilir bir filtre kullanıldığında her bir temel sınıflandırıcı, aynı veriler üzerinde farklı rastgele sayıda tohum kullanılarak oluşturulur. Eğitim sonunda tahmin, alt temel sınıflandırıcılar tarafından oluşturulan tahminlerin ortalamasıdır (Alam, Ubaid, Sohail, Nadeem, Hussain ve Siddiqui, 2021; Katore ve Umale, 2015).

2.2.8. MultiClassClassifier

Bu yöntem, çok sınıflı verileri işlemek için bir meta sınıflandırıcıdır. MultiClassClassifier (MCC), ikiden fazla sınıf etiketine sahip olan sınıflandırmayı yerine getirir. Buna ek olarak bu sınıflandırıcı, artan doğruluk için hata düzeltme çıkış kodlarını uygulayabilir. Temel sınıflandırıcı örnek

ağırlıklarını işleyemiyorsa ve örnek ağırlıkları tek tip değilse, veriler temel sınıflandırıcıya iletilmeden önce ağırlıklara dayalı olarak değiştirilir.

Çok sınıflı sınıflandırma işleminde her örnek, Multinoulli olasılık dağılımı tahmin edilerek modellenir. Multinoulli dağılımı, kategorik sonucu olan bir olayı ele alan ayrı bir olasılık dağılımıdır. n sınıflı (1, 2, 3, ..., n) bir örneklemede n sınıflandırma için model, her sınıf etiketine ait bir örneğin olasılığını tahmin etmektedir. İkili sınıflandırma için tasarlanmış birçok algoritma, çok sınıflı problemler için uyarlanabilmekte ve kullanılabilir (Brownlee, 2020).

2.2.9. MultiScheme

MultiScheme (MS) eğitim verileri üzerinde çapraz doğrulamayı veya performansı kullanarak sınıflandırma yapan bir meta yöntemdir. Performans, yüzde doğru (sınıflandırma) veya ortalama kare hatasına (regresyon) göre ölçülür.

2.2.10 RandomSubSpace

RandomSubSpace (RSS) yöntemi ilk olarak Ho (1998) tarafından uygulanan bir algoritmadır. Bu yöntemde bir topluluk oluşturulur ve döngüler yinelenir. Her yinelemede girdi, özellik alanından birkaç özellik seçer ve özelliklerin bir alt kümesiyle sınıflandırıcı eğitilir. RSS algoritmasında bir öğrenci ve eğitim setinin farklı öznitelikleriyle oluşturulmuş yeni veri setleri oluşturulur. Yeni eğitim setleri, başlangıç eğitim setinin bazı boyutları silinerek türetilir. Örneğin, m özniteliği bulunan bir veri setinden rastgele n adet özniteliği bulunan ($n < m$) yeni veri setleri seçilir. Daha sonra belirlenen temel öğrenci, yeni oluşturulan eğitim setleri ile eğitilir. Öğrencinin test seti için kararı, yeni veri setleri ile elde edilen öğrencilerin verdikleri kararlar birleştirilerek hesaplanır (Ho, 1998; Koçali, 2019).

RSS, paralel öğrenme algoritmasıdır. Yöntemde her bir karar ağacının oluşturulması bağımsızdır. Bu modelin diğer tekniklerden farkı, bir varlık uzayı üzerinde farklı değişkenleri kullanmasıdır (Skurichina ve Duin 2002). RSS modelinin dezavantajlarından biri ise aşırı uydurma problemidir (Ho 1998).

RSS yöntemi için aşağıdaki adımlar takip edilir (Shin, 2020):

1. Rastgele seçilen m özelliği içeren n alt küme seçilir.
2. Her rastgele alt kümeyi kullanarak n zayıf öğrenci eğitilir.
3. Oy çokluğu ile kararlar verilir.

2.2.11. NestedDichotomies

NestedDichotomies (ND) yöntemi rastgele sınıf dengeli bir ağaç yapısı oluşturarak iki sınıflı sınıflandırıcılarla çok sınıflı veri kümelerini işlemek için önerilen bir meta sınıflandırıcıdır (Frank ve Kramer, 2004; Dong, Frank ve Kramer, 2005).

ND aşağıdaki özelliklere sahip bir ağaçtır (Frank ve Kramer, 2004):

- Her düğüm, boş olmayan bir sınıf kümesi ile ilişkilendirilmiştir.
- Kök düğüm tüm sınıfları içerirken, yaprak düğümler yalnızca bir sınıfı içerir.
- Ağaç ikilidir.
- Alt iki sınıf, üst düğümdeki sınıfların bir bölümüdür.
- Her bir düğüm, alt düğümlerdeki iki sınıf kümesi arasında ayırım yapan bir ikili sınıflandırıcıyı ilişkilendirir.

ND bir ağaç yapısıdır, ancak karar ağacı değildir. ND yönteminde düğümler, örnekleri bölmek için kullanılır. Karar ağaçlarında ise bir sınıflandırıcı vardır. Ayrıca sınıf yalnızca bir yaprağa atanırken, karar ağacında birkaç yaprak aynı sınıfı tahmin edebilir (Frank ve Kramer, 2004; Dong ve diğerleri, 2005).

2.2.12. UltraBoost

UltraBoost (UB), her aşamada farklı bir sınıflandırıcı kullanarak çalışan bir meta sınıflandırıcıdır. Pennsylvania Üniversitesi'ndeki Ultrason Araştırma Laboratuvarında geliştirildiği için UB olarak adlandırılmıştır. Yöntemin tipik kullanımı, her biri farklı bir sınıflandırıcıya sahip iki veya üç aşamayı yapılandırır. UB varsayılan olarak, saf Bayes ve lojistik regresyon kullanır (Venkatesh, Levenback, Sultan., Bouzghar ve Sehgal, 2015; Afaf, Cary, Sultan, Schultz, Conant, Venkatesh ve Sehgal, 2020).

2.2.11. Vote

Voting yönteminde aynı eğitim seti birden fazla sınıflandırma algoritması ile eğitilir ya da aynı veri seti tek bir algoritma ile farklı parametre değerleri kullanılarak eğitilir. Böylece farklı sınıflandırma modelleri oluşturularak elde edilen çıktılar oylama mekanizması yardımıyla birleştirilir ve nihai çıktı elde edilir (Kittler, Hatem, Duin ve Matas, 1998; Kuncheva, 2004).

2.2.12. WeightedInstancesHandlerWrapper

Bu algoritma, ağırlıklandırma eğitim örnekleri için sarmalayıcı yaklaşımı kullanır (Karagiannopoulos, Anyfantis, Kotsiantis ve Pintelas, 2007). WeightedInstancesHandlerWrapper (WIHW), bir parametreyi ayarlamak için veriler üzerinde bir sınıflandırıcı olarak uygulanır. Algoritma uygulanırken varsayılan olarak, örnek ağırlıkları kontrol edilir ve eğitim veri seti, temel sınıflandırıcıya çaprazlanır. Temel sınıflandırıcı weka.core'u uygulamıyorsa, algoritma ağırlıklarla yeniden örnekleme yapar. Varsayılan bir seçenek olarak, temel sınıflandırıcı ağırlıkları çalıştırabiliyorsa eğitim verilerini kullanır, ancak ağırlıklarla birlikte yeniden örnekleme yaklaşımlarını da uygulayabilir (Kargar, Safari ve Khosravi, 2021).

2.2.13. MultiBoostAB

MultiBoosting (MB) yöntemi, karar komitelerinin oluşturulmasında oldukça başarılı olan AdaBoost tekniğinin bir uzantısıdır. MB, AdaBoost'u sallamayla (wagging) birleştirmek olarak tanımlanabilir. Bu yöntemle hem AdaBoost'un yüksek önyargısı hem de varyans azaltımı, sallamanın üstün varyans azaltma özelliğinden yararlanılarak aşılabilir. Bu yöntem paralel yürütmeye uygun olması nedeniyle AdaBoost'a göre daha fazla avantaj sunar (Geoffrey, 2000).

3. UYGULAMA

Meta sınıflandırma algoritmalarının performans sonuçlarının karşılaştırılması amacıyla yapılan analizlerde Weka 3.8.5. programında 'classifiers' klasörü altında yer alan 'meta' sınıflandırıcılar ele alınmıştır. Alt sınıflandırıcı olarak J48 algoritması seçilmiştir. Her bir veri seti için model performanslarını gösteren performans metrikleri karmaşıklık matrisleri dikkate alınarak hesaplanmış ve Tablo 2-21'de sunulmuştur.

Tablo 2. 'adult' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	85.2861	0.847	0.853	0.849
AdaBoostM1	82.8692	0.826	0.829	0.827
Stacking	85.6972	0.852	0.857	0.852
ASC	85.2762	0.847	0.853	0.843
CVPS	85.7370	0.852	0.857	0.853
FC	86.1282	0.856	0.861	0.856
RFC	85.5256	0.827	0.835	0.826
MCC	85.7370	0.852	0.857	0.853
MS	85.7370	0.852	0.857	0.853
RSS	84.9115	0.845	0.849	0.837
ND	85.7370	0.852	0.857	0.853
UB	75.1078	-	0.751	-
Vote	85.7370	0.852	0.857	0.853
WIHW	85.7370	0.852	0.857	0.853
MB-AB	84.6761	0.842	0.847	0.844

Tablo 3. 'balance scale' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	73.7600	0.682	0.738	0.708
AdaBoostM1	76.4800	0.749	0.765	0.757
Stacking	61.7600	-	0.618	-
ASC	64.4800	-	0.645	-
CVPS	64.4800	-	0.645	-
FC	64.4800	-	0.645	-
RFC	70.0800	0.664	0.701	0.682
MCC	63.6800	0.590	0.637	0.612
MS	64.4800	-	0.645	-
RSS	75.2000	-	0.752	-
ND	63.8400	-	0.638	-
UB	57.1200	-	0.571	-
Vote	64.4800	-	0.645	-
WIHW	64.4800	-	0.645	-
MB-AB	76.8000	0.724	0.768	0.745

Tablo 4. 'blood transfusion service center' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	78.3422	0.761	0.783	0.765
AdaBoostM1	76.0695	0.737	0.761	0.744
Stacking	76.2032	-	0.762	-
ASC	75.4011	0.662	0.754	0.669
CVPS	77.8075	0.764	0.778	0.769
FC	76.2032	-	0.762	-
RFC	77.1390	0.740	0.771	0.742
MCC	77.8075	0.764	0.778	0.769
MS	77.8075	0.764	0.778	0.769
RSS	75.5348	0.614	0.755	0.658
ND	77.8075	0.764	0.778	0.769
UB	76.2032	-	0.762	-
Vote	77.8075	0.764	0.778	0.769
WIHW	77.8075	0.764	0.778	0.769
MB-AB	77.2727	0.748	0.773	0.753

Tablo 5. 'breast-cancer' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	71.6783	0.687	0.717	0.683
AdaBoostM1	67.4825	0.669	0.675	0.672
Stacking	72.0280	0.693	0.720	0.662
ASC	73.0769	0.707	0.731	0.691
CVPS	74.4755	0.733	0.745	0.702
FC	74.4755	0.733	0.745	0.702
RFC	68.1818	0.662	0.682	0.669
MCC	74.4755	0.733	0.745	0.702
MS	74.4755	0.733	0.745	0.702
RSS	72.0280	0.691	0.720	0.675
ND	74.4755	0.733	0.745	0.702
UB	74.8252	0.751	0.748	0.696
Vote	74.4755	0.733	0.745	0.702
WIHW	74.4755	0.733	0.745	0.702
MB-AB	72.0280	0.697	0.720	0.698

Tablo 6. 'car' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	93.1134	0.933	0.931	0.932
AdaBoostM1	96.1227	0.962	0.961	0.961
Stacking	92.0139	0.921	0.920	0.920
ASC	92.3611	0.924	0.924	0.924
CVPS	92.3611	0.924	0.924	0.924
FC	92.3611	0.924	0.924	0.924
RFC	79.8611	0.795	0.799	0.797
MCC	92.0139	0.922	0.920	0.916
MS	92.3611	0.924	0.924	0.924
RSS	70.0231	-	0.700	-
ND	91.4931	0.919	0.915	0.908
UB	70.0231	-	0.700	-
Vote	92.3611	0.924	0.924	0.924
WIHW	92.3611	0.924	0.924	0.924
MB-AB	94.6181	0.948	0.946	0.946

Tablo 7. 'connect-4' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	82.6576	0.808	0.827	0.813
AdaBoostM1	82.7375	0.817	0.827	0.821
Stacking	80.9169	0.787	0.809	0.792
ASC	70.4427	0.663	0.704	0.654
CVPS	80.9701	0.791	0.810	0.797
FC	80.9701	0.791	0.810	0.797
RFC	63.6766	0.585	0.637	0.602
MCC	80.5823	0.772	0.806	0.779
MS	80.9701	0.791	0.810	0.797
RSS	73.3049	0.745	0.723	0.651
ND	80.1161	0.779	0.801	0.785
UB	65.8303	-	0.658	-
Vote	80.9701	0.791	0.810	0.797
WIHW	80.9701	0.791	0.810	0.797
MB-AB	83.1979	0.816	0.832	0.821

Tablo 8. ‘credit approval’ veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	86.8300	0.869	0.868	0.868
AdaBoostM1	85.9112	0.859	0.859	0.859
Stacking	84.9923	0.856	0.850	0.850
ASC	85.2986	0.855	0.853	0.853
CVPS	85.2986	0.853	0.853	0.853
FC	85.7580	0.858	0.858	0.858
RFC	71.2098	0.714	0.712	0.707
MCC	85.2986	0.853	0.853	0.853
MS	85.2986	0.853	0.853	0.853
RSS	85.9112	0.859	0.859	0.859
ND	85.2986	0.853	0.853	0.853
UB	86.3706	0.875	0.864	0.864
Vote	85.2986	0.853	0.853	0.853
WIHW	85.2986	0.853	0.853	0.853
MB-AB	84.6861	0.847	0.847	0.847

Tablo 9. ‘dermatology’ veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	96.1749	0.962	0.962	0.962
AdaBoostM1	95.6284	0.956	0.956	0.956
Stacking	93.9891	0.940	0.940	0.939
ASC	93.9891	0.941	0.940	0.940
CVPS	93.9891	0.940	0.940	0.940
FC	93.9891	0.940	0.940	0.940
RFC	52.4590	0.525	0.525	0.524
MCC	91.5301	0.921	0.915	0.916
MS	93.9891	0.940	0.940	0.940
RSS	94.2623	0.942	0.943	0.942
ND	93.1694	0.936	0.932	0.931
UB	88.5246	0.908	0.885	0.872
Vote	93.9891	0.940	0.940	0.940
WIHW	93.9891	0.940	0.940	0.940
MB-AB	97.5410	0.976	0.975	0.975

Tablo 10. 'diabetes' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	73.4375	0.728	0.734	0.730
AdaBoostM1	70.7031	0.705	0.707	0.706
Stacking	71.3542	0.712	0.714	0.713
ASC	75.0000	0.743	0.750	0.742
CVPS	71.0938	0.708	0.711	0.709
FC	74.0885	0.736	0.741	0.738
RFC	69.5313	0.686	0.695	0.689
MCC	71.0938	0.708	0.711	0.709
MS	71.0938	0.708	0.711	0.709
RSS	73.8281	0.732	0.738	0.719
ND	71.0938	0.708	0.711	0.709
UB	65.1042	-	0.651	-
Vote	71.0938	0.708	0.711	0.709
WIHW	71.0938	0.708	0.711	0.709
MB-AB	73.3073	0.727	0.733	0.729

Tablo 11. 'ecoli' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	84.2262	-	0.842	-
AdaBoostM1	81.2500	0.813	0.813	0.813
Stacking	83.0357	-	0.830	-
ASC	84.2262	-	0.842	-
CVPS	84.2262	-	0.842	-
FC	81.5476	-	0.815	-
RFC	82.1429	-	0.821	-
MCC	82.7381	-	0.827	-
MS	84.2262	-	0.842	-
RSS	84.5238	-	0.845	-
ND	80.0595	-	0.801	-
UB	78.869	-	0.789	-
Vote	84.2262	-	0.842	-
WIHW	84.2262	-	0.842	-
MB-AB	85.4167	-	0.854	-

Tablo 12. 'haberman's survival' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	75.8170	0.732	0.758	0.726
AdaBoostM1	72.5490	0.715	0.725	0.719
Stacking	72.2222	0.638	0.722	0.642
ASC	72.5490	0.656	0.725	0.753
CVPS	71.8954	0.690	0.719	0.698
FC	72.5490	0.656	0.725	0.753
RFC	71.8954	0.667	0.719	0.673
MCC	71.8954	0.690	0.719	0.698
MS	71.8954	0.690	0.719	0.698
RSS	73.5294	-	0.735	-
ND	71.8954	0.690	0.719	0.698
UB	73.5294	-	0.735	-
Vote	71.8954	0.690	0.719	0.698
WIHW	71.8954	0.690	0.719	0.698
MB-AB	71.8954	0.690	0.719	0.687

Tablo 13. 'indian liver patient' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	68.9537	0.669	0.690	0.676
AdaBoostM1	69.4683	0.689	0.695	0.692
Stacking	71.3551	-	0.714	-
ASC	69.1252	0.613	0.691	0.620
CVPS	68.6106	0.667	0.686	0.674
FC	67.9245	0.583	0.679	0.604
RFC	69.1252	0.656	0.691	0.665
MCC	68.6106	0.667	0.686	0.674
MS	68.6106	0.667	0.686	0.674
RSS	70.3259	0.580	0.703	0.598
ND	68.6106	0.667	0.686	0.674
UB	71.3551	-	0.714	-
Vote	68.6106	0.667	0.686	0.674
WIHW	68.6106	0.667	0.686	0.674
MB-AB	68.8113	0.688	0.698	0.692

Tablo 14. 'ionosphere' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	93.1624	0.932	0.932	0.931
AdaBoostM1	93.1624	0.932	0.932	0.931
Stacking	91.1681	0.912	0.912	0.911
ASC	89.7436	0.897	0.897	0.897
CVPS	91.4530	0.915	0.915	0.913
FC	91.1681	0.912	0.912	0.911
RFC	83.7607	0.836	0.838	0.836
MCC	91.4530	0.915	0.915	0.913
MS	91.4530	0.915	0.915	0.913
RSS	94.3020	0.946	0.943	0.942
ND	91.4530	0.915	0.915	0.913
UB	87.4644	0.888	0.875	0.868
Vote	91.4530	0.915	0.915	0.913
WIHW	91.4530	0.915	0.915	0.913
MB-AB	92.3077	0.925	0.923	0.922

Tablo 15. 'liver disorders' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	69.2754	0.693	0.693	0.693
AdaBoostM1	71.5942	0.714	0.716	0.714
Stacking	63.7681	0.631	0.638	0.622
ASC	61.1594	0.607	0.612	0.608
CVPS	68.6957	0.683	0.687	0.680
FC	56.2319	0.535	0.562	0.522
RFC	68.1159	0.678	0.681	0.672
MCC	68.6957	0.683	0.687	0.680
MS	68.6957	0.683	0.687	0.680
RSS	65.7971	0.662	0.658	0.630
ND	68.6957	0.683	0.687	0.680
UB	57.9710	-	0.580	-
Vote	68.6957	0.683	0.687	0.680
WIHW	68.6957	0.683	0.687	0.680
MB-AB	71.0145	0.708	0.710	0.708

Tablo 16. 'lymphography' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	78.3784	0.786	0.784	0.784
AdaBoostM1	78.3784	0.783	0.784	0.783
Stacking	75.0000	-	0.750	-
ASC	78.3784	0.793	0.784	0.787
CVPS	76.3514	0.776	0.764	0.763
FC	76.3514	0.776	0.764	0.763
RFC	68.2432	0.681	0.682	0.679
MCC	77.0270	-	0.770	-
MS	76.3514	0.776	0.764	0.763
RSS	78.3784	-	0.784	-
ND	78.3784	-	0.784	-
UB	73.6486	-	0.736	-
Vote	76.3514	0.776	0.764	0.763
WIHW	76.3514	0.776	0.764	0.763
MB-AB	81.0811	0.815	0.811	0.811

Tablo 17. 'post-operative patient' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	70.1149	-	0.701	-
AdaBoostM1	62.0690	-	0.621	-
Stacking	71.2644	-	0.713	-
ASC	68.9655	-	0.690	-
CVPS	68.9655	-	0.690	-
FC	68.9655	-	0.690	-
RFC	67.8161	-	0.678	-
MCC	68.9655	-	0.690	-
MS	68.9655	-	0.690	-
RSS	70.1149	-	0.701	-
ND	68.9655	-	0.690	-
UB	70.1149	-	0.701	-
Vote	68.9655	-	0.690	-
WIHW	68.9655	-	0.690	-
MB-AB	64.3678	-	0.644	-

Tablo 18. 'skin segmentation' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	99.9416	0.999	0.999	0.999
AdaBoostM1	99.9510	1.000	1.000	1.000
Stacking	99.9294	0.999	0.999	0.999
ASC	88.7324	0.886	0.887	0.886
CVPS	99.9310	0.999	0.999	0.999
FC	99.6025	0.996	0.996	0.996
RFC	99.6401	0.996	0.996	0.996
MCC	99.9310	0.999	0.999	0.999
MS	99.9310	0.999	0.999	0.999
RSS	99.5793	0.996	0.996	0.996
ND	99.9310	0.999	0.999	0.999
UB	88.2382	0.889	0.882	0.885
Vote	99.9310	0.999	0.999	0.999
WIHW	99.9310	0.999	0.999	0.999
MB-AB	99.9486	0.999	0.999	0.999

Tablo 19. 'spambase' veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	94.1752	0.942	0.942	0.942
AdaBoostM1	95.1532	0.951	0.952	0.952
Stacking	92.9146	0.929	0.929	0.929
ASC	92.5251	0.925	0.925	0.925
CVPS	92.9798	0.930	0.930	0.930
FC	92.8494	0.928	0.928	0.928
RFC	85.6118	0.856	0.856	0.856
MCC	92.9798	0.930	0.930	0.930
MS	92.9798	0.930	0.930	0.930
RSS	94.3273	0.943	0.943	0.943
ND	92.9798	0.930	0.930	0.930
UB	82.5038	0.837	0.825	0.825
Vote	92.9798	0.930	0.930	0.930
WIHW	92.9798	0.930	0.930	0.930
MB-AB	95.0880	0.951	0.951	0.951

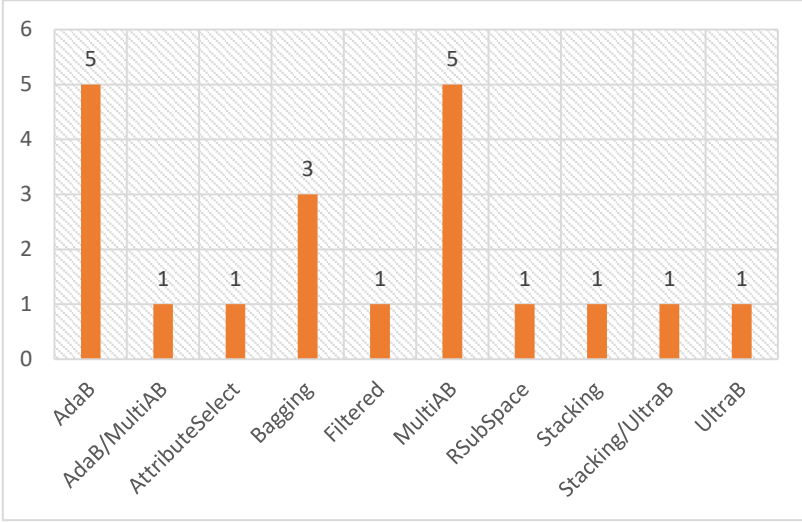
Tablo 20. ‘tic-tac-toe endgame’ veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	93.5282	0.938	0.935	0.934
AdaBoostM1	96.3466	0.963	0.963	0.963
Stacking	86.4301	0.866	0.864	0.860
ASC	78.0793	0.780	0.781	0.768
CVPS	85.0731	0.849	0.851	0.850
FC	85.0731	0.849	0.851	0.850
RFC	69.7286	0.696	0.697	0.696
MCC	85.0731	0.849	0.851	0.850
MS	85.0731	0.849	0.851	0.850
RSS	77.5574	0.817	0.776	0.742
ND	85.0731	0.849	0.851	0.850
UB	65.3445	-	0.653	-
Vote	85.0731	0.849	0.851	0.850
WIHW	85.0731	0.849	0.851	0.850
MB-AB	93.6326	0.936	0.936	0.936

Tablo 21. ‘user knowledge modeling’ veri seti için sınıflandırma sonuçları

	doğruluk (%)	kesinlik	duyarlılık	F-ölçütü
Bagging	94.9612	0.951	0.950	0.949
AdaBoostM1	95.7364	0.958	0.957	0.957
Stacking	93.4109	0.935	0.934	0.934
ASC	88.7597	0.891	0.888	0.888
CVPS	93.4109	0.935	0.934	0.934
FC	84.8837	0.858	0.849	0.851
RFC	68.9922	0.692	0.690	0.690
MCC	92.2481	0.923	0.922	0.921
MS	93.4109	0.935	0.934	0.934
RSS	84.8837	0.860	0.849	0.848
ND	91.0853	0.913	0.911	0.910
UB	89.5349	0.903	0.895	0.897
Vote	93.4109	0.935	0.934	0.934
WIHW	93.4109	0.935	0.934	0.934
MB-AB	95.7364	0.958	0.957	0.957

Sonuçlara göre, ele alınan yöntemler ile doğruluk değeri bakımından %70’ın üzerinde başarı elde edildiği görülmektedir. En iyi sonucu veren algoritmaların frekans sıklıkları Şekil 4. ile verilmiştir. Buna göre; AdaBoost ve MB-AB algoritmaları ile toplamda 11 veri setinde en iyi doğruluk sonucu elde edilmiştir. 3 veri seti ile Bagging yöntemi, Boosting yöntemlerinin arkasından gelmektedir.



Şekil 4. Algoritmaların frekans değerleri

Çalışmada kullanılan veri setleri, belirli oranlarda sınıflar arası dengesizlik problemi göstermektedir. Tablo 22’de verilere ilişkin dengesizlik oranları ve doğruluk değeri sonuçları verilmiştir. Doğruluk değeri için, Tablo 2-22’de elde edilen en yüksek performansa ait algoritma sonucu göz önünde bulundurulmuştur.

Tablo incelendiğinde dengesizlik oranının %70’in üzerinde olduğu durumlarda ‘post-operative patient’ veri seti dışındaki diğer 8 veri seti için Boosting yöntemler (AdaBoost, MB-AB) ile en iyi doğruluk sonucu elde edilmektedir.

Buna ek olarak 11 veri setinde, gözlemler sadece nümerik ya da sadece kategorikse en iyi sonucu yine Boosting yöntemler (AdaBoost, MB-AB) vermiştir.

Tablo 22. Dengesizlik oranı, doğruluk oranı ve özellik türü sonuçlarının karşılaştırılması

veri seti	doğruluk oranı (%)	algoritma	özellik türü	↓ dengesizlik oranı (%)
ecoli	85.4167	MB-AB	7 nümerik	98.6014
post-operative patient	71.2644	Stacking	8 kategorik	98.3871
lymphography	81.0811	MB-AB	18 kategorik	97.5309
car evaluation	96.1227	AdaBoostM1	6 kategorik	94.6281
connect-4	83.1979	MB-AB	42 kategorik	85.4991
balance scale	76.8	MB-AB	4 kategorik	82.9861
dermatology	97.541	MB-AB	33 kategorik 1 nümerik	82.1429
skin segmentation	99.951	AdaBoostM1	3 nümerik	73.8107
user knowledge modeling	95.7364	AdaBoostM1/ MB-AB	5 nümerik	72.7273
blood transfusion service center	78.3422	Bagging	4 nümerik	68.7719
adult	86.1282	FC	8 kategorik 6 tamsayı	66.858
haberman's survival	75.817	Bagging	3 nümerik	64
indian liver patient	71.3551	Stacking/UB	4 tamsayı 5 nümerik 1 kategorik	59.8558
breast-cancer	74.8252	UB	8 kategorik 1 tamsayı	57.7114
tic-tac-toe endgame	96.3466	AdaBoostM1	9 kategorik	46.9649
diabetes	75	ASC	7 nümerik 1 kategorik	46.4
ionosphere	94.302	RSS	34 nümerik	44
spambase	95.1532	AdaBoostM1	57 nümerik	34.9713
liver disorders	71.5942	AdaBoostM1	6 nümerik	27.5
credit approval	86.83	Bagging	9 kategorik 6 nümerik	17.0868

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Sınıflandırma, veri madenciliği alanındaki en önemli ve oldukça faydalı analizlerden biridir. Gizli örüntüleri bularak model oluşturmak, büyük veri havuzlarından elde edilen faydalı bilgilerin ortaya çıkarılmasını sağlar. Bu çalışmada birden fazla sınıflandırıcının birleşimini esas alan meta sınıflandırıcılar ele alınmıştır. Meta sınıflandırma sayesinde birden fazla tekil sınıflandırıcı kombinasyonu kullanılmaktadır. Literatürde farklı meta sınıflandırıcılar vardır. Bu çalışmada Bagging, AdaBoostM1, Stacking, ASC, CVPS, FC, RFC, MCC, MS, RSS, ND, UB, Vote, WIHW ve MB-AB meta sınıflandırıcıları farklı konu alanlarından rastgele seçilmiş 20 veri kümesi üzerine uygulanmıştır. Veri kümelerinin modellenmesinde geniş uygulanabilirliği göz önüne alındığında, tüm modeller için ortak temel sınıflandırıcı olarak J48 algoritması kullanılmıştır. Doğruluk, kesinlik, duyarlılık ve F-ölçütü olmak üzere dört performans metriği ile değerlendirme yapılmıştır. Deneysel analiz sonuçlarını elde etmek için Weka aracı kullanılmıştır.

Deney sonuçları, en yüksek doğruluğun 5 veri setinde AdaBoostM1, 5 veri setinde MB-AB, 3 veri setinde Bagging ve birer veri setinde AdaBoostM1 ve MB-AB, ASC, FC, RSS, Stacking, UB, Stacking ve UB algoritmaları ile sağlandığını göstermiştir. Özel olarak, MB-AB algoritmasının AdaBoost algoritmasının bir uzantısı olduğu göz önüne alındığında 20 veri setinden 11’inde AdaBoost algoritmasının en yüksek doğruluğu verdiği söylenebilir.

Çalışmada kullanılan veri setlerinin farklı sınıf dengesizliği seviyelerine sahip olduğu göze çarpmaktadır. Dengesiz bir veri kümesi için uygun yöntemin seçilmesinde rehberlik sağlaması amacıyla, meta sınıflandırıcıların performansları dengesizlik oranı ve en iyi doğruluk değerine sahip algoritma kapsamında karşılaştırılmıştır. Burada, dengesizlik oranı %70’in üzerinde kalan 9 veri kümesinden 5’inde MB-AB, 2’sinde AdaBoostM1, 1’inde MB-AB ve AdaBoostM1 ve 1’inde Stacking algoritması en yüksek doğruluk değerine sahiptir. Bahsi geçen MB-AB algoritmasının AdaBoost algoritmasının bir uzantısı olduğu göz önüne alındığında sınıflar arası dengesizlik ($\geq\%70$) söz konusu olduğunda 9 veri kümesinden 8’inde AdaBoost algoritmasının en yüksek başarımları gösterdiği görülmüştür.

Özetle bu çalışmada, verileri sınıflandırmak ve karşılaştırmak için meta sınıflandırıcılar tartışılmıştır. Meta sınıflandırıcılarla çalışmak için tekil sınıflandırıcılar hakkında bilgi sahibi olmak gereklidir. Çünkü tekil sınıflandırıcılar meta sınıflandırıcıları doğrudan etkilemektedir. Meta sınıflandırıcıların dezavantajları tekil sınıflandırıcıların dezavantajlarından

kaynaklanmaktadır. Bu nedenle doğru temel sınıflandırıcıyı seçmek önem arz etmektedir. Bu çalışmada geniş uygulanabilirliği ve başarılı sonuçlar verdiği literatürde kanıtlanan J48 algoritması kullanılmıştır. Gelecek araştırmalarda, meta sınıflandırıcıları geliştirmek amacıyla farklı bir temel sınıflandırıcı seçilerek bu çalışma yeniden ele alınabilir. Matlab, R gibi farklı araçlar veya python gibi diller kullanılarak sonuçlar karşılaştırılabilir. Çalışmada kullanılan algoritmalara ilişkin parametreler değiştirilerek çalışma tekrarlanabilir ya da seçilen veri setleri için diğer veri madenciliği teknikleri kullanılarak çalışma genişletilebilir.

KAYNAKLAR

1. FREUND, Y. ve SCHAPIRE, R.E. (1997), A Decision-Theoretic Generalization of Online Learning and n Application to Boosting, *Journal of Computer and System Sciences*, 55(1), 119-139.
2. BULUT, F. (2016b), Determining Heart Attack Risk Ration Through AdaBoost / AdaBoost ile Kalp Krizi Risk Tespiti, *Celal Bayar University Journal of Science*, 12(3), 459-472.
3. BULUT, F. (2016a), *Heart Attack Risk Detection Using Bagging Classifier*, 24th Signal Processing and Communication Application Conference, 2013-2016.
4. GÜZEL, K. (2020), *Boosting Nedir? Adım Adım AdaBoost Algoritması*, medium.com.
5. AKAR, Ö. ve GÜNGÖR, O. (2012), Rastgele Orman Algoritması Kullanılarak Çok Bantlı Görüntülerin Sınıflandırılması, *Jeodezi ve Jeoinformasyon Dergisi*, 106, 139-146.
6. FREUND, Y. ve SCHAPIRE, R.E. (1999), A Short Introduction to Boosting, *Journal of Japanese Society for Artificial Intelligence*, 14(5), 771-780.
7. BREIMAN, L. (1996), Bagging Predictors, *Machine Learning*, 24, 123-140.
8. BAUER, E. ve KOHAVI, R. (1999), An Empirical Comparison of Voting Classification Algorithms: Bagging, Boosting, and Variants, *Machine Learning*, 36, 105-139.
9. ZHI, H.Z. (2012), *Ensemble Methods: Foundations and Algorithms*, CRC Press.
10. TU, M.C., SHIN D. ve SHIN, D. (2009), *A Comparative Study of Medical Data Classification Methods Based on Decision Tree and Bagging Algorithms*, Eighth IEEE International Conference on Dependable, Autonomic and Secure Computing, 183-187.

11. AKRAM, V.K. ve TASER, P.Y. (2020), Telsiz Duyarga Ağlarda Bizans Saldırılarının Topluluk Öğrenme-tabanlı Tespiti, *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 22(66), 905-918.
12. SIKORA, R. ve AL-LAYMOUN, O.H. (2014), A Modified Stacking Ensemble Machine Learning Algorithm Using Genetic Algorithms, *Journal of International Technology and Information Management*, 23(1).
13. ALAM, M.T., UBAID, S., SOHAIL, S.S., NADEEM, M., HUSSAIN, S. ve SIDDIQUI, J. (2021), Comparative Analysis of Machine Learning Based Filtering Techniques Using MovieLens Dataset, *Procedia Computer Science*, 194, 210-217.
14. HALL, M., FRANK, E., HOLMES, G., PFAHRINGER, B., REUTEMANN, P. ve WITTEN, I. (2009), The Weka Data Mining Software: An Update, *Special Interest Group on Knowledge Discovery in Data Explorations Newsletter*, 11(1): 10-18.
15. KATORE, L.S. ve UMALE, J.S. (2015), Comparative Study of Recommendation Algorithms and Systems Using WEKA, *International Journal of Computer Applications*, 110(3).
16. BROWNLEE, J. (2020), *4 Types of Classification Tasks in Machine Learning*, Machine Learning Mastery.
17. SHIN, J. (2020), Random Subspace Ensemble Learning for Functional Near-Infrared Spectroscopy Brain-Computer Interfaces, *Frontiers in Human Neuroscience*, 14, 1-9.
18. HO, T.K. (1998), The Random Subspace Method for Constructing Decision, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 20(8), 832-844.
19. KOÇALI, M. (2019), *Türkiye’de İklimin Enerji Piyasasına Olan Etkileri ve Bu Etkilerin Tahmin Edilebilirliği*, Yüksek Lisans Tezi, Türk Hava Kurumu Üniversitesi.
20. SKURICHINA, M. ve DUIN, R.P.W. (2002), Bagging, Boosting and the Random Subspace Methodfor Linear Classifiers, *Pattern Analysis & Applications*, 5, 121-135.
21. DONG, L., FRANK, E. ve KRAMER, S. (2005), *Ensembles of Balanced Nested Dichotomies for Multi-Class Problems*, 9th European Conference on Principles and Practice of Knowledge Discovery in Databases, 84-95.
22. FRANK, E. ve KRAMER, S. (2004), Ensembles of Nested Dichotomies for Multi-Class Problems, *Twenty-first International Conference on Machine Learning*.

23. AFAF, A.M., CARY, T.W., SULTAN, L.R., SCHULTZ, S.M., CONANT, E.F., VENKATESH, S.S. ve SEHGAL, C.M. (2020), Color Doppler Ultrasound Improves Machine Learning Diagnosis of Breast Cancer, *Diagnostics*, 10(9), 631.
24. VENKATESH, S.S., LEVENBACK, B.J., SULTAN, L.R., BOUZGHAR, G. ve SEHGAL, C.M. (2015), Going beyond a First Reader: A Machine Learning Methodology for Optimizing Cost and Performance in Breast Ultrasound Diagnosis, *Ultrasound in Medicine and Biology*, 41(12), 3148-3162.
25. KUNCHEVA, L.I. (2004), *Combining Pattern Classifiers: Methods and Algorithms*, John Wiley and Sons, Inc.
26. KITTLER, J., HATEF, M., DUIN, R.P.W. ve MATAS, J. (1998), On Combining Classifiers, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 20(3), 226-239.
27. GEOFFREY, I.W. (2000), MultiBoosting: A Technique for Combining Boosting and Wagging, *Machine Learning*, 40(2).
28. <https://archive-beta.ics.uci.edu/> Erişim Tarihi: 01.02.2022.
29. KARAGIANNPOULOS, M., ANYFANTIS, D., KOTSIANTIS, S., PINTELAS, P.A. (2007), *Wrapper for Reweighting Training Instances for Handling Imbalanced Data Sets*, Artificial Intelligence and Innovations, Boston, MA, Springer.
30. KARGAR, K., SAFARI, M.J.S. ve KHOSRAVI, K. (2021), Weighted Instances Handler Wrapper and Rotation Forest-Based Hybrid Algorithms for Sediment Transport Modeling, *Journal of Hydrology*, 598, 1-12.
31. RUZGAR, N.S. (2020), Classification of Stock Market Price Change by Data Mining, *The Journal of American Academy of Business*, 25(2), 1-9.
32. FAN, W. ve BIFET, A. (2012), Mining Big Data: Current Status, and Forecast to the Future, *Special Interest Group on Knowledge Discovery in Data Explorations*, 14(2), 1-5.
33. WITTEN, I.H. ve FRANK, E. (2005), *Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques*, San Francisco, CA, USA: Morgan Kaufmann Publishers Inc.
34. NÁPOLES, G., MOSQUERA, C., FALCON, R., GRAU, I., BELLO, R. ve VANHOOF, K. (2018), Fuzzy-Rough Cognitive Networks, *Neural Networks*, 97, 19-27.
35. DEVI, T.S. ve SUNDARAM, K.M. (2016), A Comparative Analysis of Meta and Tree Classification Algorithms Using Weka, *International Research Journal of Engineering and Technology*, 3(11).

36. DAS M. ve DASH, R. (2020), *Performance Analysis of Classification Techniques for Car Data Set Analysis*, International Conference on Communication and Signal Processing, Chennai, India, 0549-0553.
37. PASHA, M. ve FATIMA, M. (2017), Comparative Analysis of Meta Learning Algorithms for Liver Disease Detection, *Journal of Software*, 12(12), 923-933
38. CHAN, P.K. ve STOLFO, S.J. (1993), *Experiments on Multistrategy Learning by Meta-Learning*, Proceedings of The Second International Conference on Information and Knowledge Management, ACM Press.
39. SOHN, S.Y. (1999), Meta Analysis of Classification Algorithms for Pattern Recognition, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 21(11), 1137-1144.
40. HANSEN, L.K. ve SALAMON, P. (1990), Neural Network Ensembles, *Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 12(10), 993-1001.
41. DASARATHY, B.V. ve SHEELA, B.V. (1979), A Composite Classifier System Design: Concepts and Methodology, *Proceedings of The IEEE*, 67(5), 708-713.
42. SCHAPIRE, R.E. (1990), The Strength of Weak Learnability, *Machine Learning*, 5(2), 197-227.
43. ONAN, A. (2015) On The Performance of Ensemble Learning for Automated Diagnosis of Breast Cancer, *Artificial Intelligence Perspectives and Applications*, 119-29.

BÖLÜM 4

ATIK PLASTİKLERİN ÇEVREYE ETKİLERİ VE AVRUPA YEŞİL MUTABAKATI

Doç. Dr. Yusuf YILMAZ¹

¹Gaziantep Üniversitesi, ORCID: 0000-0003-4363-0427

1. ATIK PLASTİK

Plastik atıklar hem ekosistemler hem de insan sağlığı için tehdit oluşturan önemli bir küresel çevre sorunudur. Artan nüfus ve plastik ürünlere olan talep nedeniyle plastik atık üretimi gün geçtikçe artmaktadır (Adebayo, 2023). 2016 yılında 19 ila 23 milyon metrik ton plastik atığın su ekosistemlerine girdiği tahmin edilmekte ve bu, üretilen küresel plastik atığın %11'ini oluşturmaktadır. Küresel plastik ekonomisini dönüştürmeye yönelik önemli çabalar olmazsa, yıllık plastik atık emisyonları 2030 yılına kadar yılda 53 milyon metrik ton'a ulaşabileceği öngörülmektedir (Borrelle vd, 2020).

Plastik kirliliği dünya çapında hem deniz hem de tatlı su ekosistemlerini etkilemektedir. Plastik, emisyonlarını azaltmak için çok düzeyli azaltma stratejileri gerektiren, evrensel bir tehdit olarak görülmektedir. Bu stratejiler arasında plastik atıkların azaltılması, atık yönetimi ve çevresel geri kazanım yer almaktadır. Ancak bu stratejilerin plastik emisyonlarını etkili bir şekilde nasıl azalttığına dair niceliksel bir değerlendirme eksikliği mevcuttur. Emisyon azaltma hedeflerine ulaşmak için plastik kirliliğini azaltma çabalarının olağanüstü ve dönüştürücü olması gerekmektedir (Borrelle vd, 2020).

Plastik atıkların yönetimi, başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere birçok ülkenin karşılaştığı bir zorluktur. Yüksek GSYH'ye sahip gelişmiş ülkeler, atık yönetim sistemleri kurmuş olmalarına rağmen plastik ihracatının önemli bir kısmına katkıda bulunmaktadır. Gelişmiş ülkelerde atık yönetimine yönelik işleme ücretleri, gelişmekte olan ülkelere kıyasla nispeten yüksektir ve bu da düşük kaliteli ve kirlenmiş plastik atıkların ithalatına yol açmaktadır (Chen vd, 2021). Bu durum, plastik atık sorununu çözmek için uygun atık yönetim sistemlerine ve uluslararası işbirliğine olan ihtiyacın nedenli gerekli olduğunu göstermektedir.

Örneğin Malezya'da plastik atık yönetimi, dünyanın en büyük plastik atık ithalatçılarından biri olması nedeniyle acil bir konu olarak görülmektedir. Ülke, atık yönetiminde, özellikle de plastik atıklarla mücadelede zorluklarla karşı karşıya kalmıştır. Plastik atıkların yanlış yönetimi hem ekosistem hem de insan sağlığı için tehdit oluşturmaktadır. Malezya'nın mercan resifleri de dahil olmak üzere biyolojik çeşitlilik sıcak noktası, plastik atık kirliliği nedeniyle risk altında olduğu rapor edilmiştir. Malezya'da plastik atık yönetimini ele alma çabaları kapsamlı stratejiler ve çözümler gerektirmektedir (Chen vd, 2021).

Diğer taraftan COVID-19 salgınının plastik kirliliği ve atık yönetimi üzerinde de etkisi olduğu bilinmektedir. Pandemi, araştırma odağında önemli bir değişiklik ve gelişmekte olan ülkelerdeki yayınların artmasıyla birlikte plastik kirliliği araştırmalarını yeniden şekillendirmiştir. Pandemi aynı zamanda plastiklerin sağlık ortamlarındaki rolünü ve pandemi sonrası senaryoda plastiklerin kullanımlarının yeniden düşünülmesi ihtiyacını da gün yüzüne çıkarmıştır. Salgının atık yönetimi üzerindeki etkisinin küresel olarak değerlendirilmesi oldukça önem arz etmektedir (Zhang vd, 2022).

Geri dönüşüm, plastik atıkların en aza indirilmesine yönelik küresel çabaların önemli bir yönü olarak kabul edilmektedir. Plastik geri dönüşümü, geri kazanılan plastik artıkların veya atıkların kullanılabilir ürünlere dönüştürülmesini içeren bir kavram olarak tanımlanmaktadır. Ancak çoğu plastiğin biyolojik olarak parçalanamayan yapısından dolayı plastik geri dönüşümünde zorluklar yaşanmaktadır. Etkin atık yönetimi, atık emisyonlarının azaltılması ve geri dönüşüm, çevreye giren plastik atık miktarının en aza indirilmesi için oldukça önemli bir kavram olarak karşımıza çıkmaktadır (Adebayo, 2023).

Farklı ülkeler plastik atıklarla mücadele etmek için çeşitli stratejiler uygulamaya koymuştur. Örneğin Vietnam, denizlerdeki plastik atıklarını 2030 yılına kadar %75 oranında azaltmayı taahhüt etmiştir. Ancak Vietnam'da denize salınan plastik atıkların gerçek miktarı hâlâ belirsiz ve bu da doğru tahminlere ve izlemeye duyulan ihtiyacı ortaya koymaktadır (Giang, 2022). Diğer bir örnek ülke olan Tayland plastik atıkların üretimini, tüketimini ve atık yönetimini anlamak için malzeme akış analizi de gerçekleştirmektedir (Bureecam vd, 2018). Bu tür analizler, atık yönetimi stratejilerinin geliştirilmesi için değerli bilgiler sağlamaktadır.

Bu alandaki sorunların çözümü açısından, plastik kirliliğine yönelik gelişen teknolojiler ve bilime dayalı yaklaşımlar her geçen gün artmaktadır. Ayrıca çevre eğitimi, farkındalık yaratmada ve ilgili plastik atık yönetimini teşvik etmede çok önemli bir rol oynamaktadır (Liu vd, 2023). Ek olarak, inşaat projelerinde plastik şişelerin yeniden kullanılması gibi yenilikçi yaklaşımlar, atıktan servete çözüm olarak araştırılmaktadır (Adebayo, 2023). Bu yaklaşımlar plastik atıkların azaltılmasına ve sürdürülebilir uygulamaların desteklenmesine katkıda bulunmaktadır.

Sonuç olarak plastik atık, etkisini azaltmak için acil ve dönüştürücü çabalar gerektiren küresel bir çevre sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Plastik atık üretimi gün geçtikçe artmakta ve önemli müdahaleler yapılmazsa emisyonların 2030 yılına kadar endişe verici seviyelere ulaşabileceği öngörülmektedir. Plastik

kirliliği hem deniz hem de tatlı su ekosistemlerini etkileyerek biyolojik çeşitlilik ve insan sağlığı için tehdit oluşturmaktadır. Uygun atık yönetimi sistemleri, uluslararası işbirliği ve geri dönüşüm girişimleri, plastik atık sorununu çözmek için çok önemli hale gelmiştir. COVID-19 salgını aynı zamanda plastik kirliliği araştırmalarını da etkilemiş ve plastiğin sağlık ortamlarındaki rolünü de öne çıkarmıştır. Atık azaltma, atık yönetimi ve çevresel geri kazanım gibi stratejiler plastik emisyonlarının azaltılmasında hayati öneme sahip olarak görülmekte olup plastik kirliliğiyle mücadele etmek ve sürdürülebilir uygulamaları teşvik etmek için yenilikçi yaklaşımlar ve bilime dayalı çözümler ortaya çıkmaktadır.

2.AVRUPA YEŞİL MUTABAKATI/ANLAŞMASI VE PLASTİK ATIK

Avrupa Yeşil Anlaşması (EGD), Avrupa Komisyonu tarafından çevresel zorlukları ele almak ve Avrupa'da sürdürülebilir kalkınmayı teşvik etmek için tanımlanan kapsamlı bir strateji ve politika çerçevesi olarak bilinmektedir (Ejdys & Szpilko, 2022). Sera gazı emisyonlarının azaltılmasına ve dögüsel ekonominin desteklenmesine özellikle odaklanarak Avrupa Birliği'ni iklim açısından nötr ve kaynak açısından verimli bir ekonomiye dönüştürmeyi amaçlamaktadır (Palm vd, 2021).

Plastik atık yönetimi, Avrupa Yeşil Anlaşması'nın önemli bir bileşeni olarak mutabakatta yerini almıştır. Bu strateji, büyüyen plastik kirliliği sorununun üstesinden gelme ve dögüsel bir plastik ekonomisine geçişi teşvik etme ihtiyacını kabul etmektedir. Dögüsel ekonomi yaklaşımı, çevresel etkisini en aza indirmek için plastik atıkların azaltılmasını, yeniden kullanılmasını ve geri dönüştürülmesini vurgulamaktadır (Caputto vd, 2022). Avrupa Yeşil Anlaşması, plastik atıkların azaltılması ve geri dönüştürülmesine yönelik iddialı hedefler belirleyerek AB pazarındaki tüm plastik ambalajların 2030 yılına kadar yeniden kullanılabilir veya geri dönüştürülebilir olmasını sağlamayı hedeflemektedir (Palm vd, 2021).

Bu hedeflere ulaşmak için Avrupa Birliği çeşitli önlem ve politikalar uygulamaya koymuştur. Atık Çerçeve Direktifi, plastik atıklar da dahil olmak üzere atık yönetimine ilişkin yasal çerçeveyi ortaya koymakta ve dögüsel ekonominin ilkelerini desteklemektedir (Kijo-Kleczkowska ve Gnatowski, 2022). Avrupa Yeşil Anlaşması aynı zamanda sürdürülebilir plastik üretimini ve tüketimini teşvik etmeyi, atık yönetim sistemlerini iyileştirmeyi ve plastik kirliliğini azaltmayı amaçlayan Plastik Stratejisini de içermektedir. Strateji ayrıca plastik geri dönüşüm teknolojilerinde genişletilmiş üretici sorumluluğunun, ekotasarımın ve yeniliğin önemini de vurgulamaktadır (Palm vd, 2021).

Plastik atık yönetimindeki zorluklardan biri de düşük geri dönüşüm oranı olarak karşımıza çıkmaktadır. Geri dönüşümü teşvik etme çabalarına rağmen, AB'de şu anda plastik atıkların yalnızca küçük bir yüzdesi geri dönüştürülmektedir (Caputto vd, 2022). Bu durum, gelişmiş atık yönetimi altyapısına, toplama sistemlerine ve geri dönüşüm teknolojilerine olan ihtiyacın ne kadar önemli olduğunu ön plana çıkarmaktadır (Binet vd, 2021). Bu kapsamda yapılan, Poli(etilen tereftalat) (PET) atıklarının değerli ürünlere dönüştürülmesi gibi kimyasal ileri dönüşüm, döngüsel ekonomiye katkıda bulunabilecek yeni ortaya çıkan bir yaklaşıma örnek olarak gösterilmiştir (Caputto vd, 2022).

Avrupa Yeşil Anlaşması aynı zamanda plastik atıklarla mücadelede uluslararası işbirliğinin önemini de kabul etmektedir. AB, plastik kirliliği konusunda örnek olmayı ve küresel eylemi teşvik etmeyi amaçlamaktadır. Strateji, AB'nin politikalarının ve eylemlerinin küresel plastik yönetimini etkileyebileceğini ve diğer ülkeleri benzer önlemleri almaya teşvik edebileceğini öngörmektedir. AB, plastik atık yönetimi için yüksek standartlar belirleyerek ve sürdürülebilir uygulamaları teşvik ederek, küresel ölçekte plastik kirliliğinin azaltılmasına katkıda bulunmayı amaçlamaktadır (Palm vd, 2021).

Sonuç olarak, Avrupa Yeşil Anlaşması, sürdürülebilirliği teşvik etme ve çevresel zorlukları ele alma yönündeki daha geniş çabaların bir parçası olarak plastik atık yönetimine önemli bir vurgu yapmaktadır. Bu strateji, plastik atıkların azaltılması ve geri dönüştürülmesine yönelik iddialı hedeflerle döngüsel bir plastik ekonomisine geçişi hedeflemektedir. Ayrıca iyileştirilmiş atık yönetimi altyapısı, toplama sistemleri ve geri dönüşüm teknolojilerine olan ihtiyacın bilincinde olup uluslararası işbirliği ve liderlik yoluyla küresel plastik yönetimini etkilemeyi ve dünya çapında sürdürülebilir uygulamaları teşvik etmeyi de amaçlamaktadır.

3.AVRUPA YEŞİL ANLAŞMASI VE ÇEVRE

Avrupa Yeşil Anlaşması (EGD), Avrupa Komisyonu tarafından çevresel zorlukları ele almak ve Avrupa'da sürdürülebilir kalkınmayı teşvik etmek için tanıtılan kapsamlı bir strateji ve politika çerçevesi olarak bilinmektedir. Karbon emisyonlarını 2030 yılına kadar en az %50 azaltarak ve 2050 yılına kadar karbon nötrlüğüne ulaşarak Avrupa Birliği'ni (AB) iklim açısından nötr bir ekonomiye dönüştürmeyi amaçlamaktadır. EGD, sürdürülebilirliği teşvik etmek ve iklim değişikliğini azaltmak amacıyla tarım, enerji, ulaşım ve atık yönetimi dahil olmak üzere çeşitli sektörler için iddialı hedefler belirlemiştir (Županič vd, 2021).

Tarım, Avrupa Yeşil Anlaşması'nın ele aldığı çok önemli bir sektör olarak öne çıkmaktadır. EGD, çevre ve iklim sorunlarının çözümünde sürdürülebilir tarımın

önemini kabul etmektedir. AB, çeşitli stratejiler ve programlar aracılığıyla sürdürülebilir tarıma geçişi desteklemeyi de amaçlamaktadır (Županič vd, 2021). Ancak tarımsal uygulamaları EGD'nin hedefleriyle uyumlu hale getirmek için daha fazla çabaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ortak Tarım Politikası (CAP), EGD'de belirtilen sürdürülebilir kalkınma hedefleriyle daha iyi uyumlaştırılması gereken önemli bir politika aracı olarak görülmektedir (Scown vd, 2020).

Avrupa Yeşil Anlaşması aynı zamanda biyolojik çeşitliliğin ve ekosistemin korunmasının önemini de vurgulamaktadır. Biyoçeşitlilik kaybında tarımın rolünün farkındadır ve bu konuyu ele almayı da amaçlamaktadır (Scown vd, 2020). AB, sürdürülebilir üretim ve tüketim uygulamalarını içeren yeşil ve dögüsel bir ekonomiyi teşvik etmeye kararlı olup EGD'yi destekleme çabaları, Akdeniz bölgesindeki ektomikorizal mantarlar için sürdürülebilir üretim yöntemlerinin geliştirilmesini içermektedir (Ferreira vd, 2022). Tüm bu çabalar biyolojik çeşitliliğin korunmasına katkıda bulunmakta ve EGD'nin hedeflerini desteklemektedir.

Avrupa Yeşil Anlaşması'nın uygulanması, genç tüketiciler de dahil olmak üzere çeşitli paydaşların aktif katılımını gerektirmektedir. EGD, hava, su, toprak ve biyolojik çeşitliliğin kalitesini iyileştirmenin yanı sıra yeşil enerjiyi, teknolojik yeniliği ve yeşil işleri teşvik etmeyi de amaçlamaktadır. Genç tüketiciler, sürdürülebilir tüketim kalıplarını yönlendirmede ve EGD'nin uygulanmasını desteklemede çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu kitlenin davranışları ve seçimleri EGD'nin başarısına ve daha sürdürülebilir bir topluma geçişe katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (FLOREA & SAVA, 2022).

Avrupa Yeşil Anlaşması'nın ticaret ve vergilendirme gibi diğer sektörler üzerinde de etkileri vardır. AB, uluslararası ürün döngülerinde ve ticaret modellerinde sürdürülebilirliği teşvik etmeyi amaçlamaktadır (Davidescu ve Buzogány, 2021). Vergi politikası, yeşil geçişi düzenlemek ve AB'nin en iyi uygulamalarına uyum sağlamak için değerli bir araç olarak görülmektedir (Nazarkevych ve Sych, 2022). EGD ayrıca, BM Sürdürülebilir Kalkınma Hedefi olan sorumlu tüketim ve üretime uygun olarak perakende tedarik zincirindeki gıda israfı ve kayıplarının ele alınması ihtiyacını da kabul etmektedir (Petljak, 2021).

Ancak Avrupa Yeşil Anlaşması'nın da bazı zorlukları ve eksiklikleri de bulunmaktadır. Bir takım çevreler sürdürülebilirliğe barışçıl bir geçiş için hızla kapanan fırsat pencerelerini ele almanın yetersiz olduğunu savunmaktadır (Schepelmann, 2022). Diğer taraftan EGD'nin çevresel ve sürdürülebilirlik hedeflerini desteklemek için tarımsal sübvansiyonların daha iyi izlenmesine ve

yeniden yönlendirilmesine ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır (Scown vd, 2020). Durum tespiti gerekliliklerinin uygulanması ve sivil toplum aktörlerinin katılımı da EGD'nin başarılı bir şekilde uygulanması için önem arz etmektedir (Davidescu ve Buzogány, 2021).

Sonuç olarak, Avrupa Yeşil Anlaşması çevresel zorlukları ele almayı ve Avrupa'da sürdürülebilir kalkınmayı teşvik etmeyi amaçlayan kapsamlı bir strateji ve politika çerçevesi olarak kabul edilmektedir. Bu strateji tarım, enerji, ulaşım ve atık yönetimi gibi çeşitli sektörleri kapsamaktadır. EGD, sürdürülebilir tarım, biyolojik çeşitliliğin korunması ve ekosistemin korunması ihtiyacını vurgulamaktadır. Ayrıca hedeflerine ulaşmada genç tüketicilerin, ticaretin, vergilendirmenin ve gıda israfının rolünü de kabul etmekte ancak EGD'nin başarılı bir şekilde uygulanması için ele alınması gereken bazı zorluklar ve eleştiriler de bulunmaktadır.

4.PLASTİK GERİ DÖNÜŞÜMÜ

Plastik geri dönüşümü, birçok zorlukla karşı karşıya olan ve bunların üstesinden gelmek için yenilikçi stratejiler gerektiren karmaşık bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüketici sonrası plastiklerin başarılı bir şekilde geri dönüştürülmesi ekonomik teşviklere ve hükümet düzenlemelerine bağımlı durumdadır (Vogt vd, 2021). Ancak zayıf ve kırılabilir tedarik zincirleri, plastik geri dönüşümcüleri için önemli bir zorluk teşkil etmekte ve iş sürdürülebilirliği büyük ölçüde piyasa satın alma fiyatlarına bağlı yürümektedir. Plastik atık yönetiminin talep tarafı, alıcıların algısı, sınırlı uygulamalar, daha küçük pazar segmentleri ve Çin'den gelen rekabet nedeniyle zorlu hale gelmiştir (Chen vd, 2021).

Plastik atık yönetimi dünya çapında acil bir endişe kaynağıdır ve Malezya 2017'den bu yana dünyanın en büyük plastik atık ithalatçısı konumuna ulaşmıştır. Ülke, eyalet hükümetleri tarafından politika girişimlerinin tutarsız uygulanması, evsel geri dönüşüm konusunda kamuoyunun bilinç ve ilgi eksikliği ve yerel plastik üreticileri tarafından geri dönüştürülmüş plastik reçinelere verilen sınırlı öncelik dahil olmak üzere plastik atık yönetimi konusunda zorluklarla karşı karşıya kalmıştır. Ancak diğer ülkelerdeki olumlu deneyimler, Malezya'da plastik atıkların yol açtığı sorunların azaltılması konusunda iyimser olmak için bazı nedenler sağlamaktadır (Chen vd, 2021).

Plastik atıkların geri dönüştürülmesi teknik ve ekonomik engeller nedeniyle zorlu bir süreç olarak kabul edilmektedir. Plastik atık akışları, kökenleri ve bileşimleri açısından polimer türüne göre farklılık göstermektedir (Vogt vd, 2021). Plastiklerin düşük maliyeti ve her yerde kullanımını sağlayan özellikleri

aynı zamanda atık yönetimi ve geri dönüşüm açısından da zorluklar yaratmaktadır. Plastik atıkların sınıflandırılması ve ayrıştırılması, katkı maddeleri dahil ürün çeşitliliği ve işlenmemiş polimer üretmenin maliyet etkinliği, plastik geri dönüşümündeki belirli zorluklar arasında sayılmaktadır. Plastiklerin geri dönüştürülmesine yönelik çok çeşitli teknik stratejilere rağmen, bu stratejilerin ticari başarısı genellikle sınırlı kalmıştır (Vogt vd, 2021).

Kimyasal ve mekanik geri dönüşüm, plastik atıkların geri dönüştürülmesine yönelik yaygın yaklaşımlar olarak bilinmektedir. Kimyasal geri dönüşüm potansiyel karlılık, düşük maliyet ve çevre dostu süreçler sunmaktadır (Damayanti vd, 2022). Plastik atık geri dönüşümündeki yenilikler arasında yeni polimer tasarımları, geri dönüşüm süreçleri ve katma değerli ürünlere yönelik kimyasal dönüşümler de yer almaktadır (Vogt vd, 2021). Geri dönüşüm ve plastik atık ayırma teknolojilerinin entegrasyonu çevresel kirleticilerin azaltılmasında etkili bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (Damayanti vd, 2022). Ancak ikincil malzemelerin kalitesi ve plastik atıkların değişkenliği, plastik geri dönüşüm teknolojilerinin değerlendirilmesinde zorluklar yaratmaktadır (Stallkamp, 2022).

Döngüsel bir plastik ekonomisine ulaşmak ve plastik atık yönetimini geliştirmek için inovasyona, alternatif stratejilere ve gelişen teknolojilerin kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Plastik atık geri dönüşümü için Blockchain teknolojisi ve yapay zeka (AI) da araştırılmıştır. Yapay zeka ve blockchain teknolojisinin kullanımı, plastik geri dönüşüm süreçlerini geliştirebilir ve plastik düzenleme politikalarını destekleyebilir nitelikte görülmektedir (Verma vd, 2022). Ek olarak, yüksek kaliteli geri dönüştürülmüş plastiklerin geliştirilmesi ve geri dönüşüm teknolojilerinin iyileştirilmesi, plastik atık yönetiminin sürdürülebilirliği için hayati öneme sahip bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır (Allassali vd, 2021; Li vd, 2022).

Sonuç olarak plastik geri dönüşümü çeşitli zorluklarla karşı karşıya olan karmaşık bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır. Başarılı plastik atık yönetimi için ekonomik teşvikler, hükümet düzenlemeleri ve yenilikçi stratejilerin geliştirilmesi esas teşkil etmektedir. Zayıf tedarik zincirleri, geri dönüştürülmüş plastiklere yönelik sınırlı talep ve tutarsız politika uygulamaları, plastik geri dönüşüm şirketlerinin karşılaştığı zorluklardandır. Dünyanın en büyük plastik atık ithalatçısı olan Malezya, plastik atık yönetiminde de zorluklarla karşı karşıya kalmıştır. Plastik atıkların sınıflandırılması ve ayrıştırılması gibi teknik zorluklar ve işlenmemiş polimer üretiminin maliyet etkinliği gibi ekonomik zorluklar, plastik geri dönüşüm stratejilerinin ticari başarısını engellemektedir. Ancak polimer tasarımı, geri dönüşüm süreçleri ve kimyasal dönüşümlerdeki yenilikler

potansiyel çözümler sunmaktadır. Geri dönüşüm ve plastik atık ayırma teknolojilerinin entegrasyonunun yanı sıra yapay zeka ve blockchain teknolojisinin kullanılması, daha verimli plastik atık yönetimine katkıda bulunabileceği yapılan araştırmalar sonucu ortaya çıkmıştır.

5. ATIK PLASTİKTEN POLİMERİN GERİ KAZANIMI

Atık plastikten polimerin geri kazanımı, plastik atık yönetiminin ve döngüsel ekonomiye geçişin kritik bir yönü olarak görülmektedir. Aşağıda verilen referanslar, polimer geri kazanımı ve geri dönüşümünün çeşitli yönlerine ilişkin bilgiler sunmaktadır.

Referans Babayemi ve ark. (2019), plastik kullanımında sürdürülebilirliği sağlamak için biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin ve ambalajlama alternatiflerinin piyasaya sürülmesi gibi yenilikçi çözümlere olan ihtiyacın altını çizmektedir. Ayrıca atık plastiklerden kaynak geri kazanımını kategorize ederek, uygun şekilde yönetilen atık plastiklerin değerli kaynaklar olarak potansiyelini vurgulamaktadır. Diğer taraftan asgari düzeyde resmi geri dönüşüm ve atık plastiklerden sınırlı termal/enerji geri kazanımı da dahil olmak üzere atık plastik yönetiminin mevcut durumunu tartışmaktadır.

Referans Möllnitz ve ark. (2021), karışık atıklardan geri kazanılan farklı polimer fraksiyonlarının işlenebilirliğini ve geri dönüşüm için malzeme özelliklerinin belirlenmesini araştırmıştır. Karışık, kirlenmiş atıklardan plastik atıkların geri dönüşüm ürünlerine dönüştürülmesi olasılığını ortaya koymaktadır. Ayrıca yine bu referansta gelecekteki geri dönüşüm hedeflerine ulaşmak ve CO₂ emisyonlarını ve atıklarını azaltmak için karışık atıklarda bulunan plastiğin termal geri kazanımdan mekanik geri dönüşüme aktarılmasının önemini vurgulamaktadır. Karışık atıkların işlenmesi ve plastiklerin polimer işleme makinelerinde işlenebilirliği konusunda kapsamlı bilgi ihtiyacının altını çizmektedir.

Referans Kakadellis & Rosetto (2021), polimerlerin kendilerini oluşturan tekrar birimlerine veya monomerlere geri dönüştürülmesi de dahil olmak üzere, kimyasal geri dönüşüm yoluyla plastiklerin geri kazanılmasını tartışmaktadır. Aynı zamanda döngüsel bioekonomiye dayanan entegre plastik atık yönetim sisteminin bir parçası olarak biyolojik bazlı ve biyolojik olarak parçalanabilen alternatiflerin geliştirilmesini de vurgulamaktadır.

Referans Alberti ve ark. (2020), kimyasal bir geri dönüşüm yöntemi olarak ömrünü tamamlamış poli(bisfenol A karbonatın) hidrojenatif depolimerizasyonuna odaklanmaktadır. Diğer atık arıtma yöntemleriyle ilgili

sorunları çözmek ve kaynakların korunması ve sürdürülebilirlik gibi değerler yaratmak için kimyasal geri dönüşümün potansiyelini vurgulamıştır.

Referans Saito ve ark. (2022), plastik atıklardan ve biyolojik bazlı kaynaklardan elde edilen poli(imin-karbonatın) kapalı döngü geri dönüşümüne ilişkin bilgiler sunmaktadır. Bu, minimum çevresel etkiyle plastik atıkların geri dönüştürülme potansiyelini ortaya koymuştur.

Referans Peng ve ark. (2023), biyolojik geri dönüşümü plastik atıklar için umut verici bir çözüm olarak tartışmıştır. Biyolojik geri dönüşüme odaklanarak plastik geri dönüşüm yöntemlerini karşılaştırmış ve enzim bazlı geri dönüşüm teknolojilerinin ticari girişimlerini araştırmıştır.

Referans Babayemi ve ark. (2018), daha sürdürülebilir yönetim politikalarının temeli olarak Nijerya'daki plastik ithalatının ilk envanterini tartışmıştır. Plastik atıkların sürdürülebilir yönetimi ihtiyacını ve atık plastiklerin yeniden kullanımı, geri dönüşümü, atıkların enerjiye dönüştürülmesi ve uygun plastik kontrol politikası çerçeveleri gibi potansiyel stratejileri vurgulamaktadır.

Referans Babayemi ve ark. (2019), Afrika'daki farklı polimer ve plastiklerin toplu ithalatı ve tüketimine ilişkin tarihsel bir analiz sunmaktadır. Tüketimi azaltmanın ve atık plastiklerin çevreye duyarlı yönetimini sağlamanın önemini vurgulamıştır.

Genel olarak bu referanslar, yenilikçi alternatiflerin geliştirilmesi, kimyasal geri dönüşüm yöntemleri ve sürdürülebilir atık yönetimi politikalarının önemi de dahil olmak üzere, atık plastikten polimer geri kazanımına yönelik zorluklar ve potansiyel çözümler hakkında fikir vermektedir.

KAYNAKLAR

Adebayo, B. (2023). Use of campus plastic pet (polyethylene terephthalate) bottles in the construction of a mini student relaxation hub at the college of education, ilorin: a waste-to-wealth reusing approach. *International Journal of Natural Sciences Research*, 11(1), 24-33.

Alassali, A., Meester, S., Chong, Z., Guo, J., Maletz, R., & Kuchta, K. (2021). Towards higher quality of recycled plastics: limitations from the material's perspective. *Sustainability*, 13(23), 13266.

Alberti, C., Kessler, J., Eckelt, S., Hofmann, M., Kindler, T., Santangelo, N., ... & Junge, K. (2020). Hydrogenative depolymerization of end-of-life poly(bisphenol a carbonate) with in situ generated ruthenium catalysts. *Chemistryselect*, 5(14), 4231-4234.

- Babayemi, J., Nnorom, I., Osibanjo, O., & Weber, R. (2019). Ensuring sustainability in plastics use in africa: consumption, waste generation, and projections. *Environmental Sciences Europe*, 31(1).
- Babayemi, J., Ogundiran, M., Weber, R., & Osibanjo, O. (2018). Initial inventory of plastics imports in nigeria as a basis for more sustainable management policies. *Journal of Health and Pollution*, 8(18).
- Binet, S., Allen, S., Roux, G., Simonneau, A., Galop, D., & Phoenix, V. (2021). Temporal archive of atmospheric microplastic deposition presented in ombrotrophic peat. *Environmental Science & Technology Letters*, 8(11), 954-960.
- Borrelle, S., Ringma, J., Law, K., Monnahan, C., Lebreton, L., McGivern, A., & Rochman, C. (2020). Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution. *Science*, 369(6510), 1515-1518.
- Bureecam, C., Chaisomphob, T., & Sungsomboon, P. (2018). Material flows analysis of plastic in thailand. *Thermal Science*, 22(6 Part A), 2379-2388.
- Bureecam, C., Chaisomphob, T., & Sungsomboon, P. (2018). Material flows analysis of plastic in thailand. *Thermal Science*, 22(6 Part A), 2379-2388.
- Bureecam, C., Chaisomphob, T., & Sungsomboon, P. (2018). Material flows analysis of plastic in thailand. *Thermal Science*, 22(6 Part A), 2379-2388.
- Bureecam, C., Chaisomphob, T., & Sungsomboon, P. (2018). Material flows analysis of plastic in thailand. *Thermal Science*, 22(6 Part A), 2379-2388.
- Bureecam, C., Chaisomphob, T., & Sungsomboon, P. (2018). Material flows analysis of plastic in thailand. *Thermal Science*, 22(6 Part A), 2379-2388.
- Caputto, M., Navarro, R., Valentín, J., & Marcos-Fernández, Á. (2022). Chemical upcycling of poly(ethylene terephthalate) waste: moving to a circular model. *Journal of Polymer Science*, 60(24), 3269-3283.
- Chen, H., Nath, T., Chong, S., Foo, V., Gibbins, C., & Lechner, A. (2021). The plastic waste problem in malaysia: management, recycling and disposal of local and global plastic waste. *Sn Applied Sciences*, 3(4).
- Damayanti, D., Saputri, D., Marpaung, D., Yusupandi, F., Sanjaya, A., Simbolon, Y., ... & Wu, H. (2022). Current prospects for plastic waste treatment. *Polymers*, 14(15), 3133.
- Davidescu, S. and Buzogány, A. (2021). Cutting deals: transnational advocacy networks and the european union timber regulation at the eastern border. *The International Spectator*, 56(3), 105-118.

- Ejdys, J. and Szpilko, D. (2022). European green deal — research directions. a systematic literature review. *Ekonomia I Środowisko - Economics and Environment*, 81(2), 8-38.
- Ferreira, I., Corrêa, A., & Cruz, C. (2022). Sustainable production of ectomycorrhizal fungi in the mediterranean region to support the european green deal. *Plants People Planet*, 5(1), 14-26.
- FLOREA, A. and SAVA, D. (2022). Young consumers' behaviour in the context of european green deal's implementation. *The Annals of the University of Oradea Economic Sciences*, 31(31(1)), 51-58.
- Giang, H. (2022). Developing a method for estimation of plastic waste leaked into the ocean. *Journal of Science and Technology in Civil Engineering (Stce) - Huce*, 16(3), 139-151.
- Kakadellis, S. and Rosetto, G. (2021). Achieving a circular bioeconomy for plastics. *Science*, 373(6550), 49-50.
- Kijo-Kleczkowska, A. and Gnatowski, A. (2022). Recycling of plastic waste, with particular emphasis on thermal methods—review. *Energies*, 15(6), 2114.
- Li, H., Aguirre-Villegas, H., Allen, R., Bai, X., Benson, C., Beckham, G., ... & Huber, G. (2022). Expanding plastics recycling technologies: chemical aspects, technology status and challenges.
- Liu, J., Hu, Z., Du, F., Tang, W., Zheng, S., Lu, S., ... & Ding, J. (2023). Environment education: a first step in solving plastic pollution. *Frontiers in Environmental Science*, 11.
- Möllnitz, S., Feuchter, M., Duretek, I., Schmidt, G., Pomberger, R., & Sarc, R. (2021). Processability of different polymer fractions recovered from mixed wastes and determination of material properties for recycling. *Polymers*, 13(3), 457.
- Nazarkevych, I. and Sych, O. (2022). Taxation as a tool of implementation of the eu green deal in ukraine. *Regional Science Policy & Practice*, 15(1), 144-160.
- Palm, E., Hasselbalch, J., Holmberg, K., & Nielsen, T. (2021). Narrating plastics governance: policy narratives in the european plastics strategy. *Environmental Politics*, 31(3), 365-385.
- Peng, Y., Prabhu, A., & Rinke, C. (2023). Facing our plastic waste crisis: biorecycling as a promising solution. *Microbiology Australia*, 44(1), 52-56.
- Petljak, K. (2021). Food waste and food loss in the retail supply chain. *Intereulaweast Journal for the International and European Law Economics and Market Integrations*, 8(2), 119-132.

- Saito, K., Eisenreich, F., Türel, T., & Tomović, Ž. (2022). Closed-loop recycling of poly(imine-carbonate) derived from plastic waste and bio-based resources. *Angewandte Chemie*, 134(43).
- Schepelmann, P. (2022). Towards a green new deal. lessons after a lost decade. *Culture Practice & Europeanization*, 7(2), 275-291.
- Scown et al. (2020). One Earth. Supplemental Data and Code.. Utrecht University. Dataset.
- Scown, M., Brady, M., & Nicholas, K. (2020). Billions in misspent eu agricultural subsidies could support the sustainable development goals. *One Earth*, 3(2), 237-250.
- Scown, M., Brady, M., & Nicholas, K. (2020). Billions in misspent eu agricultural subsidies could support the sustainable development goals. *One Earth*, 3(2), 237-250.
- Scown, M., Brady, M., & Nicholas, K. (2020). Billions in misspent eu agricultural subsidies could support the sustainable development goals. *One Earth*, 3(2), 237-250.
- Stallkamp, C. (2022). The impact of secondary materials' quality on assessing plastic recycling technologies. *E3s Web of Conferences*, 349, 05001.
- Verma, D., Okhawilai, M., Dalapati, G., Ramakrishna, S., Sharma, A., Sonar, P., ... & Sharma, M. (2022). Blockchain technology and ai-facilitated polymers recycling: utilization, realities, and sustainability. *Polymer Composites*, 43(12), 8587-8601.
- Vogt, B., Stokes, K., & Kumar, S. (2021). Why is recycling of postconsumer plastics so challenging?. *Acs Applied Polymer Materials*, 3(9), 4325-4346.
- Zhang, M., Zhang, M., & Li, R. (2022). The covid-19 pandemic reshapes the plastic pollution research – a comparative analysis of plastic pollution research before and during the pandemic. *Environmental Research*, 208, 112634.
- Županič, F., Radić, D., & Podbregar, I. (2021). Climate change and agriculture management: western balkan region analysis. *Energy Sustainability and Society*, 11(1).

Lütfiye GENÇER

BÖLÜM 5

Diglyphus Walker
(Eulophidae:Hymenoptera)
CİNSİ VE EKONOMİK ÖNEMİ

Lütfiye GENÇER¹

¹Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
ORCID:0000-0002-0314-8858

Giriş

Diglyphus cinsi ilk kez Walker (1844) tarafından tanımlanmış tipik morfolojik karakterlere sahip olan, çok sayıda taksonomist tarafından çalışılmış olup yeni tanımlanan türlerle birlikte bugün 31 tanesi Palearktikte bulunan 41 tür ile temsil edilmektedir (Gordh and Hendrickson, 1979; Doğanlar, 1982; Zhu et al., 2000; Yefremova,2007; Yefremova ve ark., 2011; Hansson and Novanne, 2017). *Diglyphus* cinsi kosmopolitan bir cins olup Afrotropikal, Nearktik, Neotropikal, Oriental ve Palearktik bölgelerde dağılım gösteren orta büyüklükte bir cinstir (Noyes, 2001). *Diglyphus* cinsinin morfolojik özellikleri; ön kanatta submarginal damar 3 ya da daha fazla setalı, stigmal damara eşit yada ondan uzun olan postmarginal damar bulunur, antende flagellum erkek ve dişilerde 2 funicular ve 3 segmentli cluba sahiptir, fronto-facial stur anterior ocellinin önünde birleşmiştir, mesoscutumda notuli tam değil, eğer tamsa yüzeyseldir, scutellumda iki çift seta ve yanlarda bir çift sublateral groove var, propodeumda median karina ve plica yok. *Diglyphus* cinsinin teşhis özellikleri şekil 1-5 de verilmiştir. *Diglyphus* türlerinin teşhisi morfolojik özelliklere dayanarak yapılmakla birlikte son zamanlarda moleküler analizlerde kullanılarak teşhisler yapılmakta olup *Diglyphus* cinsinin yeni bir türü olan *D. difasciatus* Liu, Hansson&Wan, 2023 morfolojik karakterlere ilaveten COI, IT2 ve 28S ribozomal RNA genleri kullanılarak tanımlanmıştır (Wan et al., 2023).

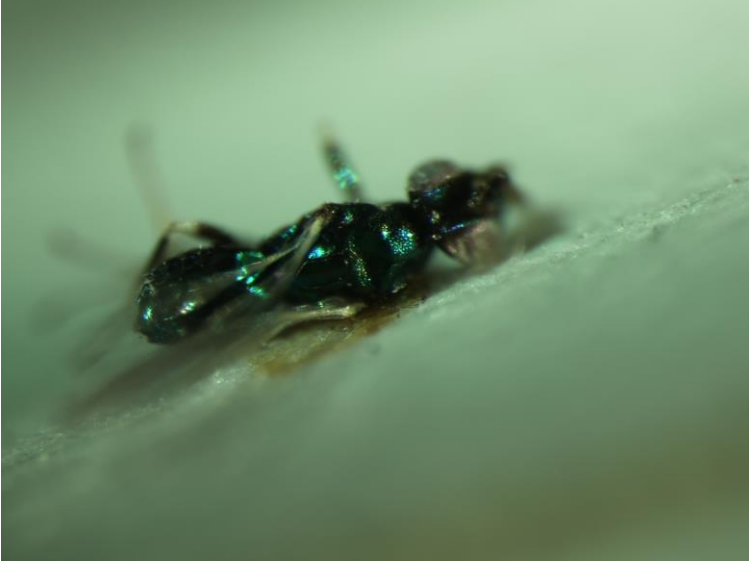
Ekonomik Önemi

Diglyphus cinsi parazitik arıların ekonomik önemli bir cinsi olup türleri çoğunlukla galeri açan Agromyzidae familyasına ait türlerin primer, soliter yada gregarious ektoparazitoidirler. Konukçular olarak Agromyzidae familyasının çeşitli cinslerine ait bir çok türü bulunmakla birlikte, Agromyzidae familyasına ait *Liriomyza*, *Chromatomyia*, *Agromyza* ve *Phytomyza* cinslerine ait türler öncelikli tercih edilmektedir. Konukçuları çoğunlukla agromizidler olmakla birlikte özellikle Lepidoptera takımına ait Gracillaridae, Lyonetiidae ve Nepticulidae familyaları üyeleride tercih edilmektedir (Hansson and Navone, 2017; Noyes, 2023). Tropik bölgelerden, çöllere kadar dünyanın hemen her yerinde yayılış gösteren Agromyzidae familyası türleri fitofag türler olup 20 den fazla sayıda bitki familyası üzerinde beslenmektedirler. Özellikle bu türler sebze ve süs bitkileri gibi ekonomik öneme sahip olan türlerdir (Civelek et al., 2008).

Galeri sinek türlerinden çok sayıda tür çeşitli bitkilerle beslenmekle birlikte hem dünya geneli hemde ülkemizde sebze ve süs bitkisi yetiştiriciliğinde zararlı ve yoğun olan türler *Liriomyza bryoniae*, *L. sativa*, *Liriomyza trifolii*, ve *Chromatomyia horticola* dır.

Özellikle bu türlerle mücadelede kimyasal mücadele yoluna gidilmekle birlikte *Diglyphus* cinsine ait *D. isae* türü *Liriomyza bryoniae* ve *L. trifolii*, *L. huidrobrensis* ve

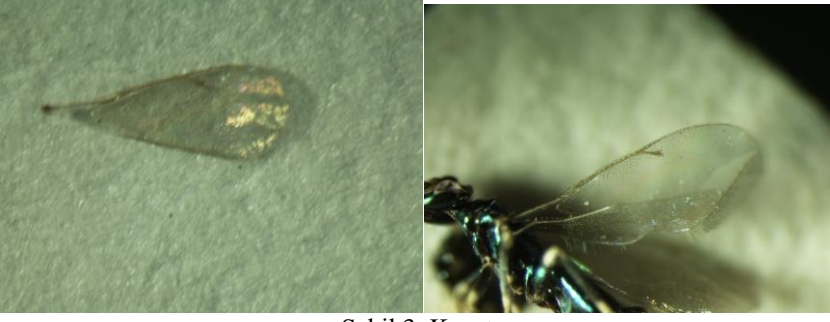
Phytomyza syngenesiae türünün biyolojik kontrolü için kitle üretimi yapılarak kullanılan bir türdür (Li ve Seal, 2010).



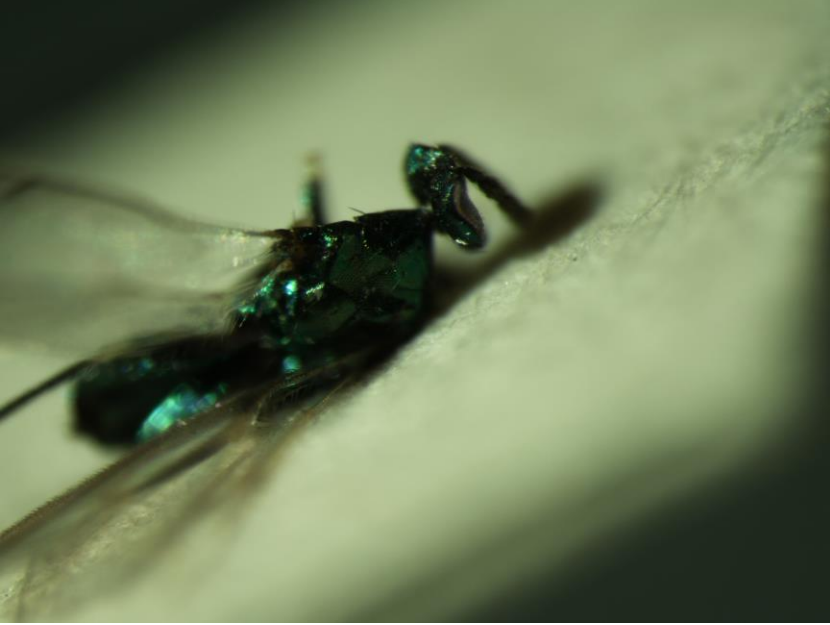
Şekil 1. Dorsal genel görünüm



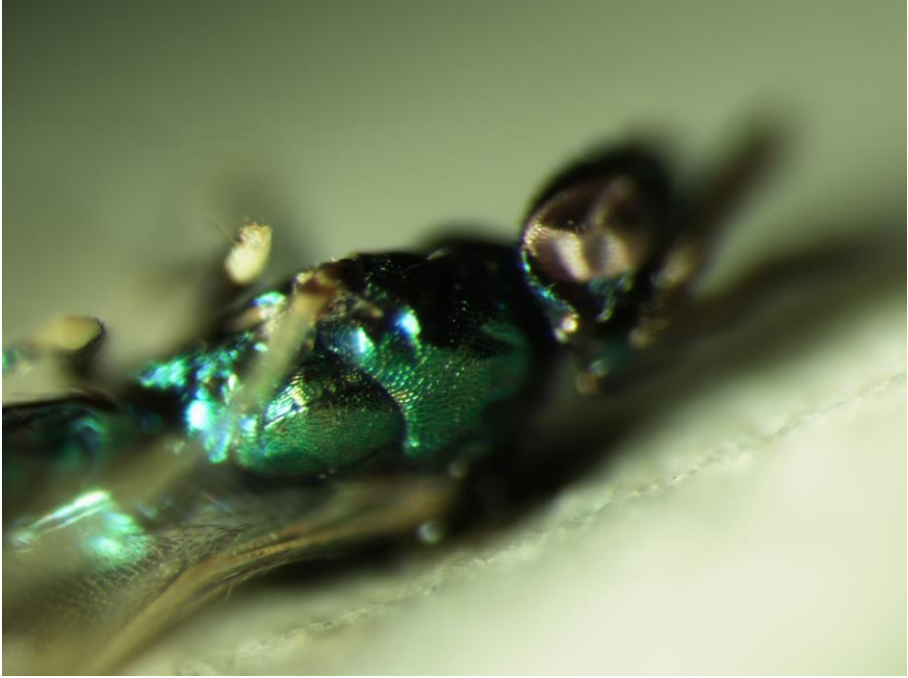
Şekil 2. Anten



Şekil 3. Kanat



Şekil 4. Mesoscutum



Şekil 5. Scutellum

Diglyphus cinsi, antenlerinin 2 funikular, üç club segmentli oluşu ve scutellumda bir çift sublateral groovun bulunuşu ile *Cirrospilus* (Westwood 1832) ve *Diaulinopsis* (Crawford 1912) cinslerine benzemekle birlikte *Diglyphus* cinsi mesoscutumdaki notaulinin çoğunlukla tam olmayışı, tam olduğunda ise çok yüzeysel oluşu ve arkaya doğru ayrılması ile bu iki cinsten kolaylıkla ayrılır.

Türkiye Türleri

Bugün dünyada 41 tür ile temsil edilen *Diglyphus* cinsinin Türkiye’de 11 türü bulunmaktadır. Bu türler; *Diglyphus anadolucus* Doğanlar, *D. begini* (Ashmead), *Diglyphus chabrias* (Walker), *D. crassinervis* Erdös, *D. isaea* (Walker), *D. minoicus* (Walker), *D. pachyneurus* Graham, *D. poppoea* Walker, *D. pusztensis* (Erdös and Novicky), *D. sabulosus* Erdös ve *D. sensilis* Yefremova (Doğanlar, 1982; Gençer, 2009; Yefremova ve ark., 2011; Noyes, 2023).

Diglyphus türleri morfolojik olarak benzer olmalarına rağmen, davranış, ekolojik tercih, üreme durumları ve biyolojik kontroldeki potansiyel kullanımları açısından farklılık göstermektedirler (Gordh, 1982). Bu nedenle teşhislerinin doğru yapılması oldukça önemlidir. *Diglyphus* cinsi türleri küçük vücutlu olup teşhisleri zor olmaktadır. Özellikle *Diglyphus* cinsi teşhislerinde kullanılan karakterler, antende funikular segmentlerin en boy oranı, ağız açıklığı malar alan

oranı, kanatta spekulumun durumu, scape, mesoscutum, bacaklar ve abdomenin rengidir. *Diglyphus* cinsinin en geniş yayılışa ve en fazla konukçuya sahip olan türü *D. isaeae* dir. *Diglyphus isaeae* galeri sineklerinin (Agromyzidae: Diptera) primer parazitoitidirler. (Hendrickson ve Barth 1979; Heinz ve ark. 1988). Agromyzidae familyasına ait *Liriomyza* cinsi *D. isaeae*'nın en önemli konukçularındır.

Sha ve ark. (2006) Çin'deki *D. isaeae* örneklerini ITS 1 genini kullanarak analiz ederek, en az dört farklı tür olduğunu belirtmişlerdir. Fakat bu durum için, Hansson ve Navone (2017) örneklerinde ne *D. isaeae* türünde ne de Avrupa materyallerinde bulunan bir karakter olan parlak renkli mor scutellumu olan şüpheli bir türü analiz ettiklerini düşündükleri için mevcut *D. isaeae* kavramının bir veya daha fazla türü ifade edip etmediğinin belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısı ile bu *D. isaeae* popülasyonları ayrı türler olarak henüz değerlendirilmemektedir.

SONUÇ

Bu derleme, özellikle bitkilerin yapraklarında galeriler açarak sebze ve süs bitkisi yetiştiriciliğinde ciddi anlamda zarar oluşturan Agromyzidae familyası üyeleri ile yapılacak mücadelede, biyolojik kontrol çalışmalarında önemli bir cins olan *Diglyphus* cinsini tanımak ve teşhisinde dikkat edilmesi gereken karakterleri bilmek için hazırlanmıştır. Ayrıca Türkiye için *Diglyphus* türlerinin morfolojik teşhislerinin yanında moleküler analizler yapılarakta tür teşhislerinin yapılabileceği mücadele çalışmalarında kullanılabilirliğinin açığa çıkarılması için daha fazla çalışmalara gerek olduğu sonucu çıkarılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Civelek, H.S., Dursun, O., Eskin, A. & Taç, G. (2008) Türkiye Agromyzidae (Diptera) Faunası Üzerinde Bir İnceleme ve Tür Listesi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9 (1), 1-16.
- Doğanlar, M. (1982) A New Species of *Diglyphus* Walker (Hymenoptera: Eulophidae) from Eastern Anatolia. *Türkiye Bitki Koruma Dergisi*, 6, 75-79.
- Gençer, L. (2009) Contribution to the Knowledge of the Chalcid Parasitoid Complex (Hymenoptera: Chalcidoidea) of Agromyzid Leafminers (Diptera: Agromyzidae) from Turkey, with New Hosts and Records. *Journal of Plant Protection Research*, 49 (2), 158-161.

- Gordh, G. (1982) Taxonomic Recommendations Concerning New Species Important to Biological Control. *International Journal of Entomology*, 1, 15-19.
- Gordh, G. & Hendrickson, R.M. (1979) New Species of *Diglyphus*, a World List of the Species, Taxonomic Notes and a Key to New World Species of *Diglyphus* and *Diaulnopsis* (Hymenoptera:Eulophidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 81, 666-684.
- Hansson, C. & Novanne, P. (2017) Review of the European Species of *Diglyphus* Walker (Hymenoptera:Eulophidae) Including the Description of a New Species. *Zootaxa*, 4269 (2), 197-229.
- Hendrickson, R.M. & Barth, S.E. (1979) Introduced Parasites of *Agromyza frontella* (Rondani) in the U.S.A. *Journal of the New York Entomological Society*, 87(2), 167-174.
- Heinz, K.M., Newman, J.P. & Parrella, M.P. (1988) Biological Control of Leafminers on Greenhouse Marigold. *Calif Agric*, 42, 10-12.
- Li, J. & Seal, D.R. (2010) Parasitoids of Dipteran Leafminers, *Diglyphus* spp. (Insecta:Hymenoptera:Eulophidae). EENY-484, University of Florida.
- Noyes, J.S. (2001) Taxapad 2001. Chalcidoidea. Electronic Publication (CD-ROM), Vancouver, Canada
- Noyes, J.S. (2023) Universal Chalcidoidea Database, <http://www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidoidea/index.html> (giriş Kasım 2023)
- Sha, Z.-L., Zhu, C.-D., Murphy, R.W. & Huang, D.-W. (2006) *Diglyphus isaea* (Hymenoptera:Eulophidae): a Probable Complex of Cryptic Species that forms an Important Biological Control Agent of Agromyzid Leafminers. *Journal of Zoological Systematic and Evolution Research*, 45, 128-135
- Wan, W.-J., Du, S.-J., Hansson, C. & Liu, W.-X. (2023) A New Species of *Diglyphus* Walker (Hymenoptera, Eulophidae) from China, with Morphological Characterizations and Molecular Analysis. *ZooKeys*, 1148, 65-78.
- Yefremova, Z. (2007) The Subfamilies Eulophinae, Euderinae and Entedoninae (Hymenoptera:Eulophidae) in Yemen. *Fauna of Arabia*, 23, 335-368.
- Yefremova, Z., Civelek, H.S., Boyadzhiev, P., Dursun, O. & Eskin, A. (2011) A Review of Turkish *Diglyphus* Walker (Hymenoptera:Eulophidae), with Description of a New Species. *Annales de la Societe Entomologique de France*, 47(3-), 273-279.
- Zhu, CD, LaSalle, J. & Huang, DW. (2000) A Review of the Chinese *Diglyphus* Walker (Hymenoptera:Eulophidae). *Oriental Insects*, 34(1), 263-288.

Lütfiye GENÇER



BÖLÜM 6

CHALCIDOIDEA VE TÜRKİYEDEKİ DURUMU

Lütfiye GENÇER¹



¹Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
ORCID:0000-0002-0314-8858

GİRİŞ

Chalcidoidea, Hymenoptera takımının Apocrita alttakımına ait dünya çapında Ichneumonidea üstfamilyasına rakip olan büyük bir üstfamilyadır. Chalcidler Hymenopteranın parazitik olan diğer üstfamilyalarından daha fazla çeşitliliğe sahip olan ve genellikle küçük ve metalik olmayan renklerinin yanında metalik mavi, yeşil ve sarı renklere sahiptirler. Çoğu türleri parazitoit olmakla birlikte fitofagus olan türleride bulunmaktadır. Chalcidler biyolojik kontrol programlarında kullanılan önemli bir gruptur. Çok sayıda türü çeşitli zararlıların kontrolünde kullanılmaktadır. Gerek tür sayısı gerekse birey sayısı bakımından oldukça kalabalık bir üstfamilya olan Chalcidoidea üstfamilyası son yıllara kadar 25 familya içerisinde incelenirken bugün 48 familya içinde incelenmektedir. Özellikle bu familya sayısının artması Chalcidoidea üstfamilyasının en kalabalık familyalarından olan Pteromalidae familyasının altfamilyalarının familyaya yükseltilmesi ile olmuştur. Son yıllarda ekolojik dengenin korunması için çok daha önemli hale gelen biyolojik kontrol programlarında önemli bir yeri olan ve çok sayıda türle temsil edilen Chalcidoidea üstfamilyasını tanımak oldukça önemlidir.

GENEL BİLGİLER

Hymenoptera takımı böcek takımları içerisinde en kalabalık 3. takım olup, insanlara çok büyük yararları olan ekonomik bir takımdır. Yaklaşık tanımlanmış 150 000'e yakın sayıda tür ile temsil edilen ve erginlerin vücut büyüklüğü küçük türlerden (Trichogrammatidae, 1mm) büyük türlere kadar (50mm) değişen büyük bir takımdır (Gauld ve Bolton, 1988; Goulet ve Huber, 1993 Janke ve ark, 2013). Hymenoptera takımı özellikle larvaları ve erginde toraks ile abdomeninin bağlanma şekli başta olmak üzere çeşitli morfolojik farklılıklarla birlikte biyolojik olarak önemli farklara sahip olan ilk alttakıma ayrılır. Bu alttakımlar ; Symphyta ve Apocrita alttakımlarıdır. Chalcidoidea üstfamilyası Apocrita alttakımı içerisinde yer alan ve özellikle biyolojik kontrol programlarında kullanılan çok sayıda türe sahip olan çok çeşitli yaşam stratejisine sahip türleri içeren önemli bir üstfamilyadır.

Chalcidoidea;

Ortalama 1,5- 3mm (0,11-45 mm) vücut büyüklüğünde ve metalik renkte olan türlerinin yanında metalik renkte olmayan türlere de sahip olan Chalcidoidea üstfamilyası antenlerin dirsekli olması ve antenlerde longitudinal sensillanın olması, flagellumun özellikle dişilerde uçta tek yada iki-üç segmentli olan club şeklinde ayrılmış olması ve pronotumun tegulaya ulaşmaması ve arada üçgen

şeklinde bir sklerit olan prepectus denilen skleritin bulunması ve kanatlarda hiç kapalı hücrenin bulunmaması ve kanat damarlarının azalarak sadece ön tarafta tek bir damara indirgenmiş olması gibi özellikleri ile Hymenoptera' nın diğer gruplarından kolaylıkla ayrılırlar. Chalcidoidea üstfamilyasında görülen dirsekli anten proctotrupoid ve cerapronoidlerde bulunmasına rağmen flagellumun funikular segment ve club segmenti olarak belirgin şekilde ayrılması chalcidleri ayıran önemli özelliktir. Antenlerinin dirsekli olmasından başka chalcidleri diğer parazitik hymenopterlerden ayıran en önemli özelliklerden biriside flagellar segmentlerin çoğunda longitudinal sensillanın bulunuşudur ki, bu durum ayırtecdici önemli bir özelliktir. Normal kanat gelişimine sahip olan chalcidlerde ön ve arka kanatta hiç kapalı hücre yoktur ve kanat damarlanması kanadın ön kenarında kanat kaidesinden kanadın önüne doğru uzanan (ki kanat ucuna kadara asla uzanmayan) ön tarafta tek bir damara indirgenmiştir. Bazı proctotrupoid ve cerapronoidlerde (mikrohymenopterler) chalcidlerdeki gibi benzer anten ve kanat damarlanmasına sahip olmasına rağmen pronotumun tegulaya ulaşmaması ve arada üçgen şeklinde bir sklerit olan prepectusun bulunması ve flagellumda longitudinal sensillanın bulunuş birlikteliği chalcidleri diğer gruplardan ayıran önemli özelliklerdir.

Bugün tanımlanmış 23 000 kadar türle temsilen edilen fakat tür sayısının 500 000 olduğu tahmin edilen (Heraty ve ark, 2013) Chalcidoidea üstfamilyasının genel morfolojik özelliklerine bakıldığında , baş, toraks ve abdomen olarak ayrılan vücutlarında ilk abdominal segment toraks ile birleşmiş olup bu kısım propodeum olarak adlandırılır. Propodeumdan sonra gelen segment ikinci abdominal segmenttir. Genellikle toraks kısmı mesosoma, mesosomadan sonra gelen kısım ise metosoma olarak adlandırılır.

Baş genellikle orthognat olmasına rağmen hypognat başa sahip olan türlerde bulunmaktadır. Başta ön görünüşte ocellus, antennal toruli ve clypeus arasında kalan bölgeler , arka görünüşte verteks, occipital karina, yandan görünüşte ise gena, malar sulcus ve malar alan chalcidlerin sınıflandırılmasında kullanılan önemli özellikleridir. Ayrıca chalcid antenide teşhislerde kullanılan önemli bir kısımdır. Chalcidlerde anten scapus, pedicel ve flagellum olmak üzere üç bölgeye ayrılmış olup, flagellumda kendi içinde anellus, funicular segment ve club (claval segmentler) olarak ayrılır. Flagellumdaki anellus hariç diğer segmentlerde longitudinal sensillanın olması chalcidlerin en önemli özelliklerinden birisidir. Chalcidlerin karakteristik özelliği longitudinal sensillanın bazı yada bütün segmentlerde bulunmasıdır.

Mesosoma, protoraks, mesotoraks ve metatoraks olmak üzere üç torasik segmentten oluşur. Protoraksın en göze çarpan kısmı pronotumdur ve çoğunlukla

yüzeyinde collar bulunur. Mesotoraks mesosomanın en büyük parçası olup önde mesoscutum, arkada scutellar-axillar kompleks şeklinde ayrılmıştır. Gerek mesoscutum ve gerekse scutellum üzerindeki yapılar chalcidlerin sınıflandırılması için oldukça önemlidir. Mesotoraks yandan görünüşünde mesopleuron ve prepectustan oluşmuş olup prepectusun bulunuşu chalcidleri diğer mikrohymenopterlerden ayıran önemli bir özelliktir. Mesotoraksın dorsal ve lateralinde yer alan kısımlar teşhiste oldukça önemli özelliklere sahiptir. Metatoraks çok küçük bir bölge olup, ortada dorsellum yanlarda lateral bölgelere ayrılmıştır. Mesosternum çoğunlukla metakoksanın tabanında gizlenmiştir. Propodeum taksonomik karakter olarak çok kullanılır. Özellikle propodeumdaki karina, plica ve stigmaların yerleşimi oldukça önemlidir.

Chalcidlerde kanatlar taksonomik önemli karakterlerdir. Ve genellikle ön kanat kullanılır. Kanat damarlanmaları oldukça azalmış olup sadece ön kenarda kanadın kaidesinde kanat ucuna yakın bir yere kadar uzanan tek bir damar şeklindedir. Submarginal damar, costal hücre, marginal damar, postmarginal damar, stigmal damar ve stigma kanatta bulunan ve taksonomik olarak kullanılan önemli kısımlarıdır.

Metasoma, birinci metasomal tergum olan petiol ve 7-8 postpetiolar segmentten oluşur. 7. metasomal tergumda (altıncı gastral tergum) bir çift stigma ve 8. metasomal tergitte bir çift cerci vardır ve bu cercide bulunan setaların sayısı ve uzunlukları taksonomik anlamda oldukça önemlidir. Özellikle hypopygium (görünen son abdominal sternum) da taksonomik olarak oldukça önemlidir (Boucek, 1988; Gibson, Huber ve Woolley,1997).

Chalcidoidea üstfamilyasını diğer üstfamilyalardan ayıran önemli karakterlerden olan anten, prepectus, ve kanatlara ait şekillerle birlikte familyaların ayırımında kullanılan, tarsus segment sayıları, arka femur şekli, prepectus ve tegulanın şekli, kanat damarlanmaları, anten segment sayıları, tibial mahmuz, mesopleuron, gasterin propodeuma bağlantı şekli, pronotumun şekli, gibi özellikler önemli taksonomik karakterlerdir. Chalcidoidea üstfamilyasına ait bazı familyalar şekil 1-8 de gösterilmiştir.



Şekil 1. Eurytomidae



Şekil 2. Pteromalidae



Şekil 3. Torymidae



Şekil 4. Eupelmidae



Şekil 5. Chalcididae



Şekil 6. Encyrtidae



Şekil 7. Torymidae



Şekil 8. Torymidae

Chalcidoidlerin vücut büyüklüğü 0,13-30 mm arasında değişmekle birlikte genellikle 3 mm civarındadır. Dünya üzerinde geniş bir yayılışa sahip olan Chalcidoidea üstfamilyası Türkiye’de de çok sayıda türle temsil edilmekte olup (yaklaşık 1030 tür) henüz tam anlamı ile Türkiye Chalcidoidea üstfamilyası faunası tespit edilememiştir (Noyes, 2023) Özellikle Türkiye’de yapılan çalışmaların çoğunluğu konukçulardan elde edilip tespit edilen türler olmakla birlikte fauna çalışmaları da bulunmaktadır (Doğanlar, 1984, 1985a, 1985b, Doğanlar, 1991,1992, 1993a, 1993b, 2003, Doğanlar ve Triapitzyn, 2007, Doğanlar ve Karadağ, 2008, Doğanlar ve Doğanlar, 2013, Gençer ve Doğanlar, 1995,1999, Gençer, 2004, 2012, 2014, Sakaltaş ve Gençer, 2005).

Chalcidoidea üstfamilyası biyolojik çeşitlilik bakımından diğer parazitik üstfamilyalar içerisinde en fazla çeşitlenmeye sahip olan üstfamilyadır. Çoğu türleri parazitoit olmakla birlikte fitofag olan türleri, incirlerin döllenmesinde rol

alan türleri (Agaonidae familyası dışileri) ve bunların yanında bazı türler de (*Trichogramma*, *Nasonia*) bilimsel çalışmalarda model organizma olarak kullanılmaktadır. Parazitoit yaşamın bütün çeşitlerini chalcidlerde görmek mümkündür ve bunlar arasında soliter ve gregar türler, ektoparazitoit ve endoparazitoitlik, primer, sekonder, tersiyer parazitoitlik, poliembriyon vs gibi çeşitli parazitoit yaşam stratejileri görülmektedir. Fitofag türler yaklaşık 45-50 bitki familyası üyeleri ile ilişkilidirler. Parazitoit olan türler konukçuların bütün dönemlerine (yumurtadan pupaya kadar) saldırırlar. Chalcidler böceklerde 15 takım içinde yaklaşık 340 familya ile ilişkilidirler. Chalcidoidea üstfamilyası üyeleri biyolojik kontrol programlarında kullanılmaktadır ve başarıda yadsınamayacak kadar yüksektir (Noyes, 1985, Ghahari , Gibson ve Viggiani, 2021 ; Noyes 2022). Yaklaşık 1000 kadar chalcid türü biyolojik kontrol programları ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle Aphelinidae ve Encyrtidae familyası üyelerinin, zararlıların biyolojik kontrolünde son derece başarılı oldukları kanıtlanmış olmakla birlikte diğer familyalara ait türlerinde başarılı oldukları bilinmektedir. Aphelinidae familyasından *Encarsia* cinsi biyolojik mücadele için kullanılan en önemli parazitoit gruplardan birisidir. Bir çok tür beyaz sineklerin biyolojik kontrolünde önemini göstermiştir. Bitki zararlılarını kontrol etmek için çeşitli fitofag chalcid türleri kullanılmıştır. Biyolojik kontrol programlarında kullanılan ve sayıları oldukça fazla olan türlerinin yanında 100'e yakın türün tarım zararlısı olduğuda bilinmektedir. Bu tarım zararlılarının çoğu Eurytomidae ve Torymidae familyalarına ait türlerdir. Eurytomidae familyasında *Bruchophagus* ve *Systole* en iyi bilinenlerindedir. Torymidae familyasından bazı Megastigmus türleri Pinaceae'nin ciddi zararlılarıdır.

Familyalar;

Son yıllara kadar nesli tükenmiş iki familya ile birlikte kabul edilen yaklaşık 20 familya içerisinde incelenen Chalcididae üstfamilyasının tanımlanmış 26 000 türü bulunmakla birlikte henüz tanımlanmayan ve keşfedilmemiş olan tür sayısının 500 000 kadar olduğu tahmin edilmekte iken (Noyes 2022; Ghahari , Gibson ve Viggiani, 2021) son yıllarda Burks ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada 33 altfamilya ve yaklaşık 640 cins içerisinde incelenen Pteromalidae familyasının bazı altfamilyalarının familya düzeyine yükseltilmesi ile birlikte Chalcidoidea üst familyası bugün 50 familya ile temsil edilmektedir. Bu familyalar; Agaonidae Walker, 1846, Aphelinidae Thomson, 1876, Azotidae Nikolskaya&Yasnosh, 1966, Baeomorphidae Yoshimoto, 1975 (önceki adı Rotoitidae), Boucekiidae Gibson, 2003 (Pteromalidae), Calesidae Mercet, 1929 (Pteromalidae), Ceidae Boucek, 1961 (Pteromalidae), Cerocephalidae Gahan, 1946 (Pteromalidae), Chalcedectidae Ashmead, 1904 (Pteromalidae), Chalcididae Latreille, 1817,

Chrysolampidae Dalla Torre, 1898 (Perilampidae), Cleonymidae Walker, 1837 (Pteromalidae), Coelocybidae Boucek, 1988 (Pteromalidae), Cynipencyrtidae Trjapitzin, 1973, Diparidae Thomson, 1876 (Pteromalidae), Encyrtidae Walker, 1837, Epichrysomallidae Hill & Riek, 1967 (Pteromalidae), Eucharitidae Latreille, 1809, Eulophidae Westwood, 1829, Eunotidae Ashmead, 1904 (Pteromalidae), Eupelmidae Walker, 1833, Eurytomidae Walker, 1832, Eutrichosomatidae Peck, 1951 (Pteromalidae), Herbertiidae Boucek, 1988 (Pteromalidae), Hetreulophidae Girault, 1915 (Pteromalidae), Heydeniidae Hedqvist, 1961 (Pteromalidae), Idioporidae LaSalle, Polaszek & Noyes, 1997 (Pteromalidae), Leucospidae Fabricius, 1775, Lyciscidae Boucek, 1958 (Pteromalidae), Macromesidae Graham, 1959 (Pteromalidae), Megastigmidae Thomson, 1876, Melanosomellidae Girault, 1913 (Pteromalidae), Metapelmatidae Boucek, 1988 (Eupelmidae), Moranilidae Boucek, 1988 (Pteromalidae), Mymaridae Haliday, 1833, Neanastatidae Kalina, 1984 (Eupelmidae), Neodiparidae Boucek, 1961 (Pteromalidae), Ooderidae Boucek, 1958 (Pteromalidae), Ormyridae Förster, 1856, Pelecinellidae Ashmead, 1895 (Pteromalidae), Perilampidae Latreille, 1809, Pirenidae Haliday, 1844 (Pteromalidae), Pteromalidae Dalman, 1820, Signiphoridae Ashmead, 1880, Spalangiidae Haliday, 1833 (Pteromalidae), Systasidae Boucek, 1988 (Pteromalidae), Tanaostigmatidae Howard, 1890, Tetracampidae Förster, 1856, Torymidae Walker, 1833, Trichogrammatidae Haliday, 1851.

Familiya düzeyine çıkarılan familyalardan da anlaşılacağı üzere en fazla çok kalabalık olan Pteromalidae familyası (ki chalcidlerin çöp kutusu olarak kabul edilir) en fazla familiya düzeyine çıkarılan olmakla birlikte Rotoitidae, Perilampidae, Encyrtidae, Torymidae ve Eupelmidae familyalarında familiya düzeyine çıkarılmış taksonlara sahiptir.

Bugünkü familyalara ilaveten iki tanede nesli tükenmiş olan familyası bulunmaktadır. Bu nesli tükenen familyalar; Khutelchalcididae Rasnitsyn, Basibuyuk & Quicke, 2004 ve Diversinitidae Haas, Burks & Krogmann, 2018 dir.

Türkiyeden, bazıları bilim dünyasına yeni tanıtılan türlerle birlikte yaklaşık 1000 den fazla tür tespit edilmiş olup bu türlerin ait olduğu familyalar, Agaonidae, Aphelinidae, Azotidae, Ceidae, Cerocephalidae, Chalcididae, Chrysolampidae, Cleonymidae, Diparidae, Encyrtidae, Epichrysomallidae, Eucharitidae, Eulophidae, Eunotidae, Eupelmidae, Eurytomidae, Leucospidae, Megastigmidae, Mymaridae, Neanastatidae, Ormyridae, Perilampidae, Signiphoridae, Spalangiidae, Tanaostigmatidae, Tetracampidae ve Trichogrammatidae familyalarıdır. Özellikle bu familyaların tür sayısına göre

SONUC:

Bu derleme, genellikle küçük vücutlu, metalik yada metalik olmayan renkte ve tanınması zor bir grup olan ve biyolojik kontrol uygulamalarında büyük bir öneme sahip olan türlerin dahil olduğu Chalcidoidea üstfamilyasını gerek, gerekse biyolojik olarak tanımak için hazırlanmıştır. Bu derlemenin chalcidoidea çalışacaklar haricinde bitki zararlısı çeşitli organizmalardan elde edilen parazitoidlerin teşhisleri içinde yararı olacağı düşünülmekte ve aynı zamanda teşhis için doğru uzmana gönderilmesini sağlayarak zaman kazanılacaktır.

KAYNAKLAR

- Boucek, Z. (1988). Australian Chalcidoidea (Hymenoptera): A Biosystematic Revision of Genera and Fourteen Families, with a Reclassification of Species. CAB International, Vallinford. U.K.832 pp.
- Burks R, Mitroiu M-D, Fusu L, Heraty JM, Janšta P, Heydon S, Papilloud ND-S, Peters RS, Tselikh EV, Woolley JB, van Noort S, Baur H, Cruaud A, Darling C, Haas M, Hanson P, Krogmann L, Rasplus J-Y. (2022). From hell's heart I stab at thee! A determined approach towards a monophyletic Pteromalidae and reclassification of Chalcidoidea (Hymenoptera). *Journal of Hymenoptera Research*, 94: 13–88. <https://doi.org/10.3897/jhr.94.94263>
- Heraty, J.M., Burks, R.A., Cruaud, A., Gibson, G.A.P., Liljeblad, J., Munro, J., Rasplus, J.-Y., Delvare, G., Janšta, P., Gumovsky, A., Huber, J., Woolley, J.B., Krogmann, L., Heydon, S., Polaszek, A., Schmidt, S., Darling, D.C., Gates, M.W., Mottern, J., Murray, E., Dal Molin, A., Triapitsyn, S., Baur, H., Pinto, J.D., van Noort, S., George, J. and Yoder, M. 2013. A phylogenetic analysis of the megadiverse Chalcidoidea (Hymenoptera). *Cladistics*, 29: 466-542. <https://doi.org/10.1111/cla.12006>
- Gauld I.& Bolton B. (1988). The Hymenoptera. *Oxford University Press*. 332 pp.
- Ghahari H., Gibson G.A.P. & Viggiani G. (2021). Chalcidoidea of Iran (Insecta: Hymenoptera). *CABI Publishing*. 444 pp.
- Gibson G.A.P., Huber J.T & Woolley J.B.(1997). Annotated Keys to the Genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). *National Research Council Research Press*. Ottawa. 794 pp.
- Goulet H. & Huber J.F. (1993). Hymenoptera of the World. An identification guide families. *Agricultural Canada Publication*. Ottawa. 668 pp.
- Noyes J.S. (1985). Chalcidoids and biological control. *Chalcid Forum* 5,5-10.
- Noyes J.S. 2023. <https://www.nhm.ac.uk/our-science/data/chalcidoids>. Giriş: Kasım 2023.

- Doğanlar, M.(1992). Notes On The Species Of The Subgenus *Aprostocetus* S.Str.Of The Genus *Aprostocetus* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae) From Europe And Türkiye. *Zeitschrift Für Entomologie, München* 13 (31), 513-522.
- Doğanlar, M .(1993a). Notes On The Species of *Pronotalia* Gradwell, 1957 (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae), With Description of Two New Species From Türkiye. *Zeitschrift Für Entomologie, München* 14 (23), 361-368.
- Doğanlar, M.(1993b). Notes On The Species of *Neotrichoporoides* Girault, 1913 (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae), With Description of Some New Species From Ghana and Türkiye, 369-380.
- Doğanlar, M. (2003). Notes On The Species of Tetracampidae (Hymenoptera: Chalcidoidea),With Descriptions of Some New Species From Turkey. *Entomofauna, Germany*, 24(27), 381-396.
- Doğanlar, M., Triapitzyn, S. V. (2007). A Review of *Ceranisuus* (Hymenoptera: Eulophidae) of Turkey, With Description of a New Species. *Eur. J. Entomol.*, 104(1), 105–110.
- Doğanlar, M. & Karadağ, S. (2008). Türkiye’de Antepfıstığı Meyvelerinde Zararlı Ve Zararlı Olarak Bulunan Chalcidoid Arıların (Hymenoptera: Chalcidoidea) Ergin ve Larvalarının Tanımları ve Bunların İlişkileri. *Türk. Entomol. Derg.* 32(2), 143-162.
- Doğanlar, M. & O. Doğanlar, (2013). Review of Chrysolampinae Dalla Torre, 1898 (Hymenoptera: Perilampidae) with Descriptions of New Species From Turkey. *Entomofauna (Zeitschrift Für Entomologie)*, 35 (4), 49-84.
- Doğanlar, M.(1984). Notes On Chalcidoidea of Turkey I.Chalcididae, Eurytomidae, Torymidae, Ormyridae, Perilampidae, Eucharitidae. *Türk.Bitki.Kor.Derg.*8,151-158.
- Doğanlar, M.(1985a). Notes On Chalcidoidea of Turkey II. Pteromalidae, *Türk.Bitki Koruma Derg.*9, 27-43.
- Doğanlar, M.(1985b). Notes On Chalcidoidea of Turkey III. Encyrtidae, Tetracampidae, Aphelinidae, Eulophidae And Elasmidae. *Türk.Bitki Koruma Derg.*9, 91-103.
- Doğanlar, M.(19919). Systematic Positions of A New Species in *Ormyrus* from Turkey and a New Genus in The Family (Hym., Chalcidoidea), *Türk, Entomol.Derg.* 15, 1-13.
- Doğanlar, M., H.Çam. (1991). The Species of *Eurytoma* Illiger With Two-Three Strong Setae On Hind Tibiae From Türkiye and Description of a New

- Species From Tokat, Türkiye (Hymenoptera: Eurytomidae). *Türk. Entomol. Derg.* 15, 143-151.
- Gençer, L. & Doğanlar M. (1995). Sivas-Merkezde Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) Üzerinde Faunistik Bir Araştırma. *Cum. Üni. Fen Bil. Derg.* 18, 32-45.
- Gençer, L. & Doğanlar M. (1999). The Faunistic Investigation On *Entedon Dalman*, 1820 (Hymenoptera: Eulophidae) From Sivas-Center. *C.Ü. Fen Bilimleri Derg.* 21, 57-62.
- Gençer, L. (2004). Contribution To The Knowledge of The Family Eulophidae Hymenoptera Chalcidoidea From Turkey With Some New Records , *Phytoparasitica* , 32, 264-273.
- Gençer, L. (2012). Contributions To The Knowledge of The Eulophinae Hymenoptera Eulophidae From Sivas Turkey With Some New Records 14 3 83 89 2012. *J. Entomol. Res. Soc.* 14(3), 83-89.
- Gençer, L. (2014). Contribution to the Knowledge of Ormyridae Hymenoptera Chalcidoidea From Sivas Turkey with Two New Records. *J. Entomol. Res. Soc.* 16 (3, 27-31.
- Sakaltas, E. & Gençer, L. (2005). Contribution to the Knowledge of The Tetrastichinae Hymenoptera Eulophidae From Ankara Province Turkey With Some New Records. *Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica*, 40 (3-4), 383-390.

BÖLÜM 7

TARIMSAL ALANLARDA FARMASÖTİK İLAÇ KİRLİLİĞİ

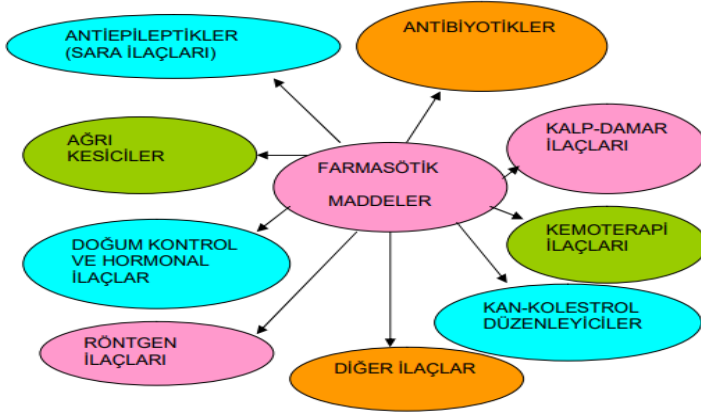
Doç. Dr. Armağan KAYA ¹

¹Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Rafet Kayış Mühendislik Fakültesi,
Mühendislik Temel Bilimleri Bölümü
Orcid: 0000-0002-6776-3497

Giriş

Farmasötik ilaçlar insanlarda ve hayvanlarda çeşitli hastalıkların önlenmesinde, teşhinde ve tedavisinde kullanılan bileşiklerdir. Bu ilaçlar biyolojik olarak aktif maddelerdir ve spesifik etkilere sahip olacak şekilde dizayn edilmişlerdir. Farmasötik ilaçlar kimyasal yapılarına, etki ettikleri bölgeye ya da hedef sisteme göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Birlikte uygulama alanlarına göre analjezik/antiinflamatuvar ilaçlar, antibiyotikler, antikonvülzanlar, kalp ilaçları, röntgen ilaçları, kolesterol ilaçları ve kemoterapi ilaçları, doğum kontrol ve hormonal ilaçlar ve diğer ilaçlar (mide, şeker vb) olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 1) (Savcı, 2010; Ustun Odabas, vd, 2020).

Çevrede farmasötik ilaçların birincil kaynakları hastahane ve diğer sağlık hizmetleri tesislerinin atık suları, evsel atık sular, ilaç sanayii atık suları ve depolama alanlarındaki sızıntılardır. Farmasötik bileşiklerin büyük bir kısmı insan ve hayvan vücudunda çok zayıf absorblanır ve tamamen metabolize olmaz. Bu nedenle alınan ilaçların ana maddesi ya da metabolitleri vücuda alındıktan sonra saatler içerisinde üre ve dışkı olarak vücuttan uzaklaştırılır. Geleneksel atıksu arıtma tesislerinin modern farmasötik ilaçların tamamen arıtımında yetersiz kalması nedeniyle bu kimyasallar çevreye karışmaktadır. Kullanıldıktan sonra çeşitli yollarla çevreye ulaşan farmasötik ilaçlar yüzey sularını, yeraltı sularını, içme sularını, sedimentleri ve tarımsal alanları kontamine etmektedir (Şekil 2). Farmasötik bileşiklerin çevresel bir sorun olarak algılanması 1970 lerde başlasa da, bu ilaçların çevrede tespiti ile ilgili analitik teknikler 1990'ların ortalarında ilerlemiştir (Santos vd, 2010; Christou vd, 2018). Günümüzde yaklaşık 3000 farklı farmasötik madde arasında, 200 den fazla farmasötik ilacın varlığı çevrede tespit edilmiş olmakla birlikte bu ilaçların kimyasal bileşenleri, moleküler ağırlıkları ve toksisiteleri büyük ölçüde farklılık göstermektedir (Derksen vd, 2005; Savcı, 2010; Mackulak vd, 2019).

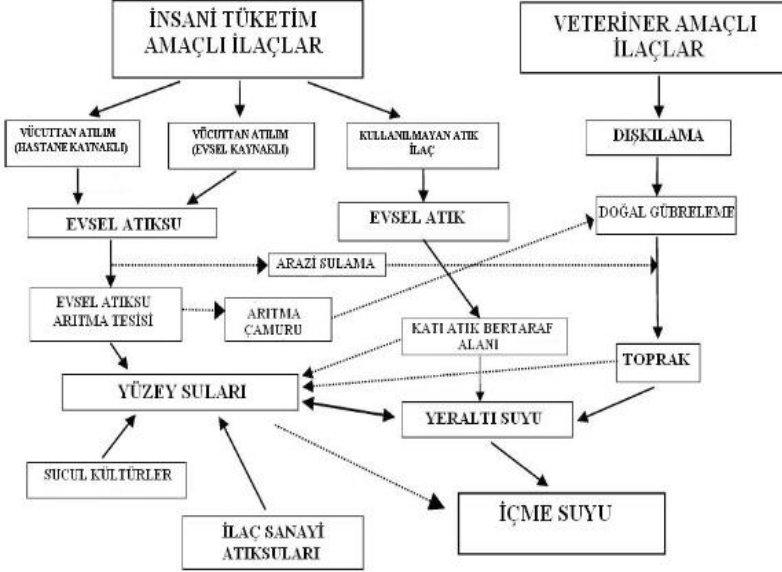


Şekil 1. Farmasötik maddelerin uygulama alanlarına göre sınıflandırılması (Savcı, 2010)

İnsanlarda koruma ve tedavi amaçlı kullanılan farmasötik bileşiklerin dışında, hayvanları tedavi etmek ve hayvan sağlığını korumak amacı ile kullanılan farmasötikler ve hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan yem katkı maddeleri de önemli bir kirlilik kaynağı olarak çevreyi kontamine etmektedir. Çevrede tespit edilen veteriner ilaçları arasında özellikle antibiyotikler ve antiparazitler önemli yer tutmaktadır. Tarımsal alanlarda hayvan gübrelere kullanılması ve ilaçlarla kontamine olmuş sularla sulama yapılması tarım topraklarının bu ilaçlarla kontamine olması riskini artırmaktadır (Derksen, vd, 2004; Özgüven 2020).

Çeşitli sağlık uygulamaları kapsamında insan ya da hayvan vücuduna alınan farmasötik bileşikler doğrudan etken madde halinde ya da metabolitlere dönüştürülerek vücuttan uzaklaştırılabilir ve çevreye karışabilir. Bu bileşiklerin ve onların metabolitlerinin farklı organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri dünya çapında endişe verici bir durum haline gelmiştir (farmasötikler ve sediment). Çevrenin farklı kısımlarında genel olarak düşük konsantrasyonlarda bulunduğu için (sucul ekosistemlerde ng/l- μ g/l ve toprakta ng/kg- μ g/kg) aynı zamanda mikrokirleticiler olarak adlandırılan farmasötik bileşikler bazı organizmalarda düşük konsantrasyonlarda bile toksik etkilere yol açmaktadır (Balcı, 2010; Ustun Odabasi vd, 2020). Örneğin bir antibiyotik olan enrofloksasinin μ g/l düzeyinde *Lemna minor* ve bazı alg çeşitlerinin büyümelerini inhibe ettiği, başka bir antibiyotik olan oksitetrasiklinin yine benzer konsantrasyonlarda sucul bitkilerde antioksidan savunma enzimlerinde değişikliklere yol açtığı rapor edilmiştir (Vilvert vd, 2017; Ozhan Turhan, 2021). Farmasötik bileşiklerle ilgili bir diğer çevresel problem de çevrede birden çok mikrokirleticinin eş zamanlı olarak bulunabilmesi ve bu eş zamanlı maruziyetin organizmalar üzerinde daha ileri seviyelerde olumsuz etkileri tetikleyebilmesidir. Örneğin eş zamanlı amoksisilin

ve enrofloksasin uygulamasının *Lemma minor*'da bu kimyasalların ayrı ayrı uygulanmasına kıyasla hidrojen peroksit (H_2O_2) ve malondialdehit (MDA) birikimini arttırdığı ve antioksidan enzim aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Gomes vd, 2020).



Şekil 2. Farmasötik ilaçların çevresel kontaminasyon yolları (Balci, 2010)

Farmasötik bileşiklerin çevre üzerine etkileri geniş kapsamlı bir konu olup karasal ve sucul ekosistemlerdeki etkileri ayrı ayrı ele alınabilir. Bu bölümde ise farmasötiklerin tarımsal alanlardaki mevcudiyeti ve bitkiler üzerindeki etkileri hakkında kısaca bilgi verilecektir.

Tarım Alanları ve Kirlilik

Günümüzde çiftçiler giderek artan dünya nüfusunun besin ihtiyacını karşılamak için çaba göstermektedir. Özellikle toprak su ve enerji konusundaki artan rekabet, toprak ve su kaynaklarının tahribi, iklim değişimleri ve küresel ısınma, besin talebinin çevresel olarak sürdürülebilir yollarla karşılanması konusunda çiftçileri yetersiz bırakmaktadır. Bu nedenle üreticiler bitkisel üretimde sentetik pestisitleri ve gübreleri kullanarak ya da hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotikleri ve büyümeyi uyarıcı ajanları kullanarak dünya nüfusunun besin ihtiyacını karşılamaya çalışmaktadır (Christou vd, 2018). Ancak hem bu geleneksel tarım uygulamaları hem de sanayileşme ve teknolojik gelişmeler artan çevre kirliliği problemini de beraberinde getirmektedir. Çeşitli

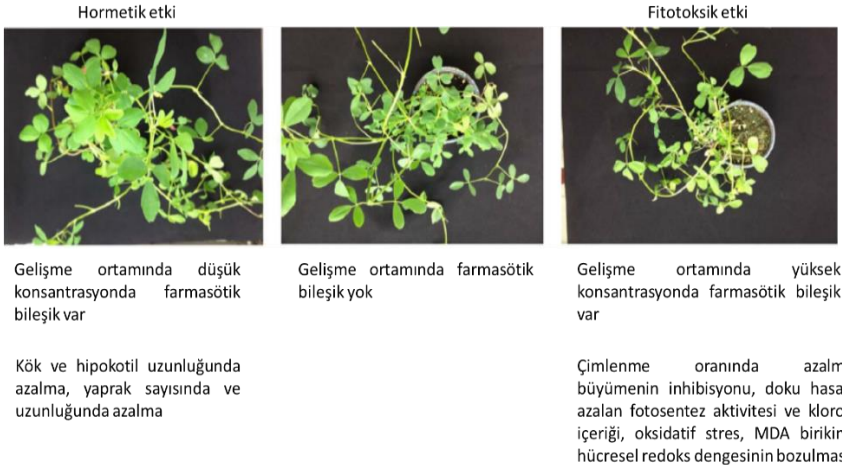
kirleticilerin hava, su ve toprağı kirleterek tarımsal alanlara ulaşması tarımsal üretimi de etkilemektedir. İnsan kaynaklı aktiviteler tarımsal alanlarda kirliliğinin önemli bir sebebini oluşturur. Endüstriyel kaynaklı kirleticilerin (zararlı gazlar, kimyasallar vb) ve hastane ve diğer sağlık tesislerinden kaynaklı kirleticilerin çevreye yayılması, atık sularla sulama yapılması ve yanlış tarım uygulamaları (aşırı gübre ve pestisit kullanımı vb.) gibi süreçler sonunda tarım arazileri ağır metaller, pestisitler, farmasötik bileşikler gibi kirleticilerle kontamine olmaktadır (Mishra vd, 2015). Tarım topraklarında bu kirleticilerin varlığı çevredeki organizmalara zarar vermekte, tarım ürünlerinde verim ve kalite kaybına yol açmakta ve besin zinciri yolu ile insan sağlığını olumsuz etkilemektedir.

Tarımsal üretimde zararlılarla mücadele sürecinde kullanılan pestisitlerin sadece hedef organizmayı değil aynı zamanda ortamdaki hedef olmayan organizmaları da olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Kaya ve Yigit, 2014; Kaya ve Doganlar, 2016; Özhan Turhan ve Güngördü, 2022). Tarımsal alanlarda pestisit kirliliği bitkilerde lipid peroksidasyonunu, klorofil yıkımını, DNA ve RNA hasarını ve enzim inhibisyonunu tetikleyerek ekonomik değeri yüksek kültür bitkilerinin büyüme ve gelişmesini engellemektedir (Kaya ve Doganlar, 2016; Arya vd, 2017).

Tarım alanlarında bitkilerin maruz kaldığı bir diğer yaygın kirletici tipi ise ağır metallerdir. Özellikle endüstrileşmenin gelişmesi ile birlikte çevrede ağır metal kirliliği önemli boyutlara ulaşmıştır. Ağır metaller toprağı oluşturan ana materyalin yapısında bulunmakta ya da çeşitli tarımsal ve endüstriyel faaliyetlerin bir sonucu olarak oluşmakta ve toprak kirliliğine yol açmaktadır (Seven vd, 2018). Ağır metaller toksik seviyeye ulaştığında bitkilerde DNA hasarını, protein yıkımını, lipid peroksidasyonunu ve klorofil yıkımını tetikleyerek bitkilere zarar vermektedir (Emamverdian vd, 2020).

Yukarıdaki kirleticilere ek olarak bitkilerin sıklıkla maruz kaldığı bir diğer kirletici grubu farmasötik bileşiklerdir. Çeşitli yollarla tarım alanlarına ulaşan bu bileşikler bitkiler tarafından alınıp biriktirilebilir. Bitkiler her ne kadar gelişmiş bir detoksifikasyon sistemine sahip olsa da farmasötik bileşikler ve onların transformasyon ürünleri bitkilerin fizyolojileri üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Christou vd, 2018). Ayrıca tarımsal alanların bu kirleticilerle kontaminasyonu gıda güvenliği açısından da önemli bir problem haline gelmiştir. Farmasötik bileşikler bitkiler tarafından alındıktan sonra abiyotik stres cevaplarını tetiklemekte ve nihayetinde bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkilemektedir (Bigott vd 2021). Tablo 1 ekonomik değere sahip bazı tarım ürünlerinde farmasötik bileşiklerin yol açtığı değişiklikleri göstermektedir.

Yukarıda da bahsedildiği gibi farmasötik ilaçlara maruziyet bitkinin büyüme ve gelişmesini önemli ölçüde etkilemektedir. Ancak bu etki bitkinin türüne, farklı bitki kısımlarına, ilacın özelliklerine ve maruz kalınan ilaç dozuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Christou vd, 2018). Yapılan çalışmalar düşük dozlarda maruziyetin hormetik etkiyi uyarırken yüksek konsantrasyonlarda maruziyetin fitotoksik etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Farmasötik kontaminasyonu sonucu gözlemlenen hormetik etki genellikle bitki büyüme oranlarındaki artış ile ifade edilirken, fitotoksik etki çimlenme oranının azalması, doku deformasyonu, klorofil yıkımı ve fotosentetik kapasitenin azalması, dokularda aşırı ROS birikimi, lipid peroksidasyonu, redoks dengesinin bozulması, antioksidan enzim inhibisyonu gibi süreçlerle açıklanabilir (Şekil 3) (Xie vd, 2011; Riaz vd, 2017; Christou vd, 2018; Rydzyński vd, 2019; Sousa vd, 2020; Bigott vd 2021; Xu vd, 2022; Kaya, 2023). Örneğin düşük dozlarda tetrasiklin uygulaması buğday bitkisinde çimlenme yüzdesini, mitotik indeksi, kök ve sürgün uzunluğunu uyarırken yüksek konsantrasyonlarda bu parametreleri inhibe ettiği ve yine yüksek konsantrasyonlarda lipid peroksidasyonunu uyararak antioksidan enzim aktivitelerini değiştirdiği Xie ve ark. (2022) tarafından rapor edilmiştir. Yukarıdaki bulgulara benzer şekilde, düşük konsantrasyonlarda enrofloksasin uygulamasının kök ve sürgün uzunlukları ile bitki taze ağırlığını arttırırken, yüksek konsantrasyonlarda inhibe ettiği Xu ve ark. (2022) tarafından belirtilmiştir.



Şekil 3. Farmötik bileşiklerin bitkilerde yol açtığı hormetik ve fitotoksik cevaplar (Christou vd, 2018)

Tıpkı diğer kirletici tiplerinde olduğu gibi, farmasötik maruziyeti de bitkilerde savunma ve detoksifikasyon mekanizmasını tetiklemektedir. Bitkiler antioksidan

enzim aktivitelerini ve enzimatik olmayan antioksidanların seviyelerini düzenleyerek, hücrel redoks dengesini sürdürerek, glutatyon S-trasferaz ve süperoksit dismutaz gibi detoksifikasyon enzimlerinin yanısıra H(+)-ATPaz ve sitokrom c oksidaz gibi detoksifikasyon sürecinde rol oynayan önemli komponentlerin gen ifadelerini artırarak farmasötik stresine karşı savunma cevabı oluştururlar. Farmasötik bileşiklerin bitkilerdeki fitotoksitesitesi ilacın özelliklerini, çevre şartlarını ve bitkisel özellikleri içine alan kompleks bir konu olsa da yüksek konsantrasyonlarda ve uzun süreli maruziyet ya da farklı farmasötiklere eş zamanlı maruziyetin bitkilerde fitotoksitesiteyi arttırdığı bilinmektedir (Christou vd, 2016; Christou vd, 2018).

Günümüzde farmasötik bileşiklerin artan kullanımı yeni bir çevre problemini de beraberinde getirmiştir. Çeşitli yollarla çevreye karışan bu bileşiklerin bitkiler tarafından alınması sadece bitki büyümesini olumsuz yönde etkilemekle kalmaz aynı zamanda besin zinciri yolu ile taşınarak insan sağlığı üzerinde de olumsuz etkilere yol açar. Bununla birlikte bu kimyasalların tarımsal alanlardaki birikimi ve bitkiler üzerindeki etkileri hakkında literatürde eksiklikler bulunmaktadır. Bu boşlukları tamamlamak adına farmasötik bileşiklerin detoksifikasyon mekanizmalarını ve dokulardaki birikimini aydınlatmak için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Tablo 1. Bazı tarım ürünlerinde farmasötik bileşiklerin yol açtığı değişiklikler

Bitki adı	İlacın adı	Etki
Pirinç	Enrofloxacin	Kök ve sürgün büyümesinde azalma, metabolic düzensizlikler, oksidatif stres (Xu vd, 2022)
Biber	Enrofloxacin	Klorofil ve karotenoid içeriğinde azalma, oksidatif stres, antioksidan savunma cevaplarının teşviki (Kaya, 2023)
Buğday	Ciprofloxacın	Kök ve sürgün ağırlıklarında ve sürgün botunda azalma, lipid peroksidasyonunda artış ve antioksidan savunma cevaplarının teşviki (Riaz vd, 2017)

	Tetracycline	Çimlenme oranı, kök ve sürgün uzunlukları ve mitotik indekste azalma, oksidatif stres, antioksidan savunma cevaplarının teşviki (Xie vd, 2011)
Ispanak	Tetracycline	Klorofil içeriğinde azalma, antioksidan enzim aktivitesinde değişimler (Rydzynski vd, 2019)
Domates	Diclofenac ve Lamotrigine	Stres ile ilişkili gen ifadelerinde değişimler (Bigott vd 2021)
	Diclofenac	Sürgün boyu ve taze ağırlığında azalma, oksidatif stres, antioksidan savunma enzim aktivitesinde değişim (Sousa vd, 2020)

KAYNAKÇA

- Arya S.K., Ghosh I, Banerjee R, & Mukherjee A. (2017). Malathion and dithane induce DNA damage in *Vicia faba*. *Toxicol Ind Health*. 33(11):843-854.
- Balci B. (2010). Farmasötik Bileşiklerin Sucul Ortamda Bulunuşu ve Etkileri, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. 3(2), 13–19.
- Bigott Y., Chowdhury S.P., Pérez S., Montemurro N., Manasfi R., & Schröder, P. (2021). Effect of the pharmaceuticals diclofenac and lamotrigine on stress responses and stress gene expression in lettuce (*Lactuca sativa*) at environmentally relevant concentrations. *Journal of hazardous materials*, 403, 123881.
- Christou A., Antoniou C., Christodoulou C., Hapeshi E., Stavrou I., Michael C., Fatta Kassinos D., & Fotopoulos V. (2016). Stress-related phenomena and detoxification mechanisms induced by common pharmaceuticals in alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Sci. Total Environ*. 557–558: 652–664.
- Christou A., Michael C., Fatta-Kassinos D., & Fotopoulos V. (2018). Can the pharmaceutically active compounds released in agroecosystems be considered as emerging plant stressors? *Environ Int*. 114:360-364.
- Derksen J.G., Rijs G.B., & Jongbloed R.H. (2004) Diffuse pollution of surface water by pharmaceutical products. *Water Sci Technol*. 49(3):213-21.

- Emamverdian A., Ding Y., Mokhberdorani F., & Xie Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *Scientific World Journal*. 756120.
- Gomes M.P., Moreira Brito J., Rocha D.C., Navarro-Silva M.A., & Juneau P. (2020). Individual and combined effects of amoxicillin, enrofloxacin, and oxytetracycline on *Lemna minor* physiology. *Ecotox. Environ. Safe*. 203, 111025
- Kaya A., & Doganlar Z.B. (2016). Exogenous jasmonic acid induces stress tolerance in tobacco (*Nicotiana tabacum*) exposed to imazapic. *Ecotox. Environ. Safe*. 124, 470–479.
- Kaya A., & Yigit, E. (2014). The physiological and biochemical effects of salicylic acid on sunflowers (*Helianthus annuus*) exposed to flurochloridone. *Ecotox. Environ. Safe*. 106, 232–238.
- Kaya A. (2023). Ascorbate alleviates phytotoxic effects of enrofloxacin in pepper (*Capsicum annuum*) seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology*. 20,40.
- Mackuľak T., Āernanský S., Fehér M., Bırořov L., & Gál M. (2019). Pharmaceuticals, drugs, and resistant microorganisms environmental impact on population health. *Current Opinion in Environmental Science & Health*. 9:40-48.
- Mishra R.K., Mohammad, N., & Roychoudhury N. (2015). Soil pollution: Causes, effects and control. *Van Sangyan*. 3(1)
- Özgüven A. (2020). Veteriner ilaçlarının çevrede bulunuşu ve etkileri, *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 9 (1); 487-499.
- Özhan Turhan D., & Gungordu A. (2022). Developmental, toxicological effects and recovery patterns in *Xenopus laevis* after exposure to penconazole-based fungicide during the metamorphosis process. *Chemosphere*, 303 (3), 135302.
- Ozhan Turhan, D. (2021). Evaluation of teratogenic and toxic effects of enrofloxacin-based antibiotic on zebrafish (*Danio rerio*) larvae with biochemical and developmental markers. *Chem. Ecol*. 37(8), 704-714.
- Riaz L., Mahmood T, Coyne MS, Khalid A, Rashid A, Hayat MT, Gulzar A., & Amjad M. (2017). Physiological and antioxidant response of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings to fluroquinolone antibiotics, *Chemosphere*. 177, 250-257.
- Rydzynski D, Piotrowicz-Cieşlak A.I., Grajek H., & Michalczyk D.J. (2017). Chlorophyll degradation by tetracycline and cadmium in spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Int. J. Environ. Sci. Technol*. 2019. 16: 6301.
- Santos L.H., Araújo A.N., Fachini A., Pena A., Delerue-Matos C., & Montenegro M.C. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of

- pharmaceuticals in the aquatic environment. *J Hazard Mater.* 175(1-3):45-95.
- Savcı S. (2013). A review of occurrence of pharmaceuticals in sediments. *African Journal of Biotechnology.* 12(29): 4539-4541
- Savcı S. Veteriner Ve Beşeri Amaçlı Kullanılan Bazı Farmasötiklerin Canlı Aktif Çamur Tarafından Adsorpsiyonunun İncelenmesi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 2010.
- Seven T., Can B., & Darende B.N.. Ocak S. (2018). Hava ve toprakta ağır metal kirliliği. *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi.* 1:91-103
- Sousa B., Lopes J., Leal A., Martins M., Soares C., Valente I.M., Rodrigues J.A., Fidalgo F., & Teixeira J. (2020). Response of *Solanum lycopersicum* L. to diclofenac - Impacts on the plant's antioxidant mechanisms. *Environ Pollut.* 258:113762.
- Ustun Odabasi S, Altın S.H., & Büyükgüngör H. (2020). Sucul Ortamdaki Bazı Mikrokirleticilerin Oluşumu, Durumu Ve İleri Oksidasyon Prosesleri İle Giderilmesi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi.* 9(1): 57-71.
- Vilvert E., Contardo-Jara V, Esterhuizen-Londt M., & Pflugmacher S. (2017). The effect of oxytetracycline on physiological and enzymatic defense responses in aquatic plant species *Egeria densa*, *Azolla caroliniana*, and *Taxiphyllum barbieri*, *Toxicological & Environmental Chemistry.* 99:1, 104-116,
- Xie X, Zhou Q, Lin D, Guo J, & Bao Y. (2011). Toxic effect of tetracycline exposure on growth, antioxidative and genetic indices of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environ Sci Pollut Res Int.* 18(4):566-75.
- Xu, L., Li Z., Zhuang, B., Zhou, F., Li Z, Pan, X., Xi H, Zhao W, & Liu H. (2022). Enrofloxacin perturbs nitrogen transformation and assimilation in rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Sci Total Environ.* 802, 149900

BÖLÜM 8

KİTOSAN BAZLI KOMPOZİTLERİN ANTİMİKROBİYAL UYGULAMALARI

Doç. Dr. Ayfer YILDIRIM¹

Doç. Dr. Hilal ACAY²

¹Mardin Artuklu Üniversitesi, SHMYO, Mardin/Türkiye
ORCID ID: 0000-0002-2079-4587

²Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fak., Mardin, Türkiye
ORCID ID: 0000-0002-7732-106X

Giriş

Petrol bazlı ürünlerin aşırı kullanımı ve bunun sonucunda ortaya çıkan çevresel bozulma, yeşil ve yenilenebilir ürünlerin geliştirilmesini önemli kılmaktadır. Sürdürülebilirlik, yenilenebilirlik, maliyet düşürme ve enerji tüketimi açısından doğal malzemeler, yenilenemeyen enerji ve malzeme kaynaklarına olan bağımlılığı potansiyel olarak azaltabilir. Biyomateryaller, ekonomik üretim, bol dağılım, biyolojik olarak parçalanabilirlik, toksik olmama, antimikrobiyal aktivite, biyoyumluluk ve yararlı biyolojik özellikleri kapsayan olağanüstü özelliklerinden kaynaklı dünya çapında büyük ilgi görmüş ve çok geniş kullanım alanları bulmuşlardır (1).

Doğada bol bulunabilen Kitosan (Ks), kendine özgü antimikrobiyal aktivitesi göz önüne alındığında, patojenik mikroorganizmalara karşı dayanıklı, bariyer bazlı bir film geliştirebildiğinden, prokaryotların hücre duvarını ve hücre zarını bozabilir ve hatta moleküler ağırlığına bağlı olarak bakteri hücresine sızarak DNA'ya bağlanabilen çok iyi bir alternatif biyomalzemedir (2). Moleküler ağırlık, deasetilasyonun derecesi, pH ortamı ve bakteri türü gibi çeşitli parametreler, bakterinin hücre duvarında adsorbe edilen Ks miktarını önemli ölçüde etkileyebilir (3). Ks'lerin antimikrobiyal özellikleri sayesinde, literatürdeki bazı çalışmalarda, yara bölgesindeki mikrobiyal büyümeyi engellemek ve sonuç olarak cilt dokularının yeniden şekillenmesini artırmak için çeşitli yara pansumanlarının imalatında Ks kullanılmıştır (4).

Bununla birlikte, mikroorganizmaların genetik ve protein seviyeleri açısından sürekli mutasyon geçirmesi sonucunda Ks'nin antimikrobiyal özellikleri yavaş yavaş ortadan kalkmış ve çoklu ilaca dirençli (MDR) bakterilerin ortaya çıkmasına neden olmuştur (5). Bu eksikliğin üstesinden gelmek için Ks' nin çapraz bağlama, aşılama, biyoaktif bileşiklerle birleştirmeler ve kompozit formülasyonları gibi çeşitli fizikokimyasal modifikasyon yaklaşımları kullanılmaktadır (6). Ayrıca Ks'nin asit çözeltisindeki çözünürlüğü, uygulamalarını sınırlamıştır. Bu nedenle asit çözeltisinde stabil hale getirilebilmesi ve aynı zamanda antimikrobiyal etkinliğinin artırılması için fonksiyonelleştirilmiş veya yeni maddelerle karıştırılarak kitosan türevlerinin ve kompozitlerin hazırlanması için alternatif maddeler oluşturulmuştur (7). Bu kitap bölümünde, son 5 yılda literatürde yapılan kitosan türevleri ve kitosan bazlı kompozitlerin antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmıştır.

1. Kitosan

Kitosan (Ks), 2 amino-2-deoksi- β -dglukopiranoz birimlerinin serbest olarak dağılmış bir yapıya sahip önemli bir deniz biyopolimeridir. Ks, karides ve yengeçler de dahil olmak üzere kabuklu deniz hayvanları kabuklarının dış iskeletinin baskın unsuru olan kitin biyopolimerinin deasetilasyonu yoluyla elde edilebilir. Ayrıca Ks, toksik olmaması, yenilenebilir, yenilebilir, biyoyumlu, mukoadesif ve biyolojik olarak parçalanabilir olma gibi olağanüstü özelliklere sahip olması nedeniyle doğada en yaygın ikinci biyopolimer olarak sınıflandırılmaktadır.

Ks'nin, antitümör, antibakteriyel, antifungal, hemostatik, anti pıhtılaştırıcı, ve antimikrobiyal aktiviteleri içeren belirgin biyoaktif özelliklere sahip olması çok sayıda alanda (yara iyileşmesi ilaç dağıtımı, doku mühendisliği, su arıtımında) uygulanma alanı bulmasını sağlamıştır. Polikasyonik bir bileşik olarak Ks, mayalar, küfler ve Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler gibi çok çeşitli bozulma ve patojenik mikroorganizmaları inhibe edebilir (10). Ks'nin antimikrobiyal aktivitesi mikroorganizmanın türüne, moleküler ağırlığa, pH değerine ve çevredeki matrisin deasetilasyon derecesine bağlıdır (11).

2. Antimikrobiyal Aktivite Mekanizması

Pozitif yüklü Ks molekülleri ile negatif yüklü bir mikrobiyal yüzey arasındaki elektrostatik etkileşim göz önüne alındığında, mikrobiyal membran geçirgenliğini artıran inhibitör etkiden sorumlu olan Ks polikasyonik yapıya sahip doğrusal bir biyopoliainosakarittir. Bu polikasyonik yapı aynı zamanda kitosan'ın su bağlayıcı bir madde, bir enzim inhibitörü ve bir besin maddesi biyoemici olarak hareket etmesine de izin verir (12).

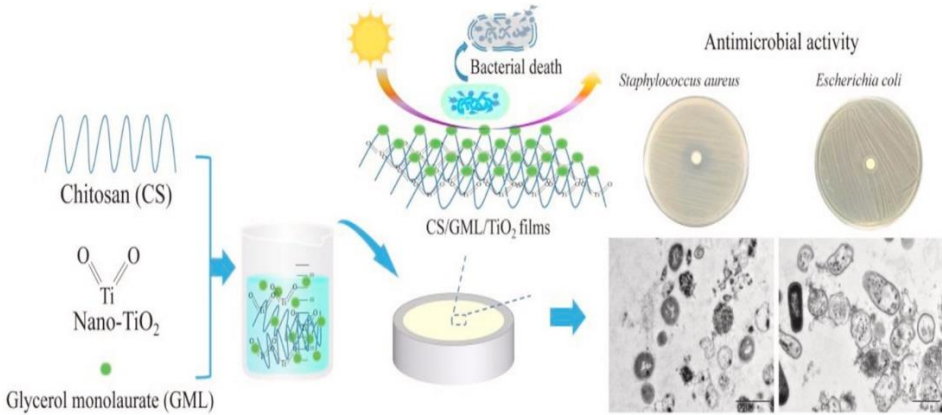
Çeşitli modeller Ks'nin antimikrobiyal aktivitesinin kasyonik yapısından kaynaklandığını öne sürmektedir. Pozitif yüklü polimerler ve negatif yüklü mikrobiyal hücre zarları arasındaki elektrostatik etkileşimin hücrel lizisten sorumlu olduğu tahmin edilmektedir ve ana antimikrobiyal mekanizma olduğu varsayılmaktadır (13). İkinci mekanizma ise Ks'nin bakteriyel DNA'ya bağlanmasına dayanmaktadır ve bu da onun mikroorganizmaların hücrelerine nüfuz etmesi sonucu protein sentezinin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bu model, tarama teknikleriyle doğrulandığı gibi kitosanın bakteri hücrelerinin duvarlarından ve/veya zarlarından geçebileceğini varsaymaktadır (14).

Ks'nin antimikrobiyal aktivitesinin üçüncü mekanizması metal iyonlarını selatlama yeteneği ile ilgilidir. Polimerin mikroorganizmaların büyümesi için

gerekli besinlere bağlanmasını içerir (15). Bu mekanizma özellikle alkalın ortam için geçerlidir çünkü amino grupları protonlanmamış durumdadır ve bu grupların nitrojeninde bulunan elektron çifti katyonlarla etkileşime girebilir.

3.Kitosan Kompozitleri ve Antibakteriyel Aktiviteleri

Ks etkili bir antimikrobiyal biyopolimerdir ve aynı zamanda hem antimikrobiyal faktör hem de biyopolimer substratı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte, Ks'nin asit çözünürlüğü ve yüksek moleküler ağırlığı (MW), düşük antimikrobiyal aktivitelere neden olmaktadır. Bu nedenle, MW'yi azaltmak ve suda çözünürlüğü ve biyoaktiviteleri arttırmak için depolimerizasyon, kimyasal modifikasyon ve konjugasyon/aşılama gibi çeşitli yöntemler kullanılarak Kitosan bazlı türevler ve kompozitler geliştirilmiştir (16,17). Literatürde Ks bazlı birçok kompozit sentezlenerek farklı mikroorganizma üzerinde araştırmalar yapılmıştır. **Tablo 1**, son yıllarda kitosan kullanılarak hazırlanan kompozitler ve mikro organizmaları belirtmektedir.



Şekil 1. Kitosan, gliserol monolaurat (GML) ve nano-TiO₂ kompozitinin oluşumu ve antimikrobiyal etkinliğinin şematik gösterimi (17)

Grafen oksit (GO), tek atom kalınlığında bir tabaka ve sp² bağlı karbon atomlarından oluşan iki boyutlu bir kristaldir. Yapılan çalışmalarda, Grafen oksitin hücre zarına zarar vererek antibakteriyel aktivite gösterdiğini kaydetmişleridir (18). Jiang ve arkadaşlarının (2016) yaptığı çalışmada, grafen oksit-kitosan kompoziti sentezlenerek *Escherichia coli*' e karşı antibakteriyel etkinliği araştırılmış, 200 µg/mL kompozit malzeme konsantrasyonuyla yüksek ve hızlı bir antibakteriyel aktivite gösterdiği ve 40 dakikalık maruz kalma süresi boyunca neredeyse hiçbir hücrenin canlı kalmadığını gözlemlemişlerdir.

Kitosan/jelatin kompoziti oluşturularak yapılan çalışmada (19), patojenik bakteri türleri *E. coli* (~%142,8) ve *S. aureus*'a (~%200) karşı artan antibakteriyel aktivite gösterdi.

Bir diğer çalışmada, Kitosan/lignin nanokompoziti hazırlanmış, gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus* gibi) ve gram negatif bakterilere (*Escherichia coli*, *E. coli* gibi) karşı başarılı ve etkin bir anti bakterial etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir (20).

Puerarin/Kitosan kompoziti (P@C), üstün antibakteriyel özelliğinin kapsamlı işlevleri ve LPS eliminasyonu ve immün modülasyon yeteneği nedeniyle *Escherichia coli* ile enfekte olmuş sıçanda üstün kemik rejenerasyonu sergilemiştir (21).

Yeni sentezlenmiş bir nano bakır/kitosan-nişasta biyo-kompoziti çeşitli patojenlere Gram-negatif, Gram-pozitif ve mantar karşı umut verici antimikrobiyal aktivite göstermiştir (22). İn vivo tasarımda, biyo-kompozit merhem sığınarlarda yara kontraktürü, damar, hidroksil prolin, heksuronik asit, heksosamin, fibrosit ve fibroblast düzeylerini önemli ölçüde ($p \leq 0.01$) artırdığı, diğer gruplarla karşılaştırıldığında yara alanı, toplam hücre, nötrofil ve lenfosit seviyelerini azalttığı vurgulanmaktadır (23).

Aşırı şişmeyi en aza indirmek ve proton transferini ve mekanik mukavemeti arttırmak için genellikle kitosana PVA eklenerek kompozitler oluşturulabilir. Polivinil alkol/Kitosan/ Greyfurt Çekirdeği Ekstresi kullanılarak hazırlanan kompozitle (PVA/CS-G), *Escherichia coli* (Gram-negatif) ve *Listeria monocytogenes* (Gram-pozitif) bakterilerine karşı çok yüksek antimikrobiyal aktiviteyi gösterdi (24).

Başka bir çalışmada, ϵ -poli-l-lisin (ϵ -PLL)/Sibirya mersin balığı jelatin/kitosan karışımlarıyla farklı kompozitler hazırlanmış, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis*' e karşı antimikrobiyal etkinlik araştırılmıştır. ϵ -PLL ile birleştirilen kompozit filmler, gıda bozucu bakterilere karşı in vitro antimikrobiyal özelliklerin daha yüksek ve kararlı durumda olduğunu ortaya çıkarmışlardır (25).

Aljinat/kitosan kompozit aerojeller hazırlanmış, sol-jel yöntemi ve ardından dondurarak kurutma işlemi kullanılarak üretilmiş. Ayrıca çapraz bağlanmanın ardından aerojeller, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı daha güçlü antibakteriyel aktiviteler sergilediği gözlemlenmiştir. Bu nedenle, aljinat/kitosan aerojellerinin geliştirilmiş fiziksel ve antimikrobiyal özelliklerine, elektrostatik etkileşimlerin ve kovalent olmayan çapraz bağlanmanın

modülasyonu ulaşılabildiği; bununla da, bu kompozit aerojellerin, antimikrobiyal amaçlı aktif gıda ambalaj malzemeleri olarak umut verici uygulamalarına işaret ettiği vurgulanmaktadır. Elde edilen çapraz bağlı kompozitin, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı daha güçlü antibakteriyel aktiviteler sergilediği rapor edilmiştir (26).

Yine bir diğer çalışmada, Tannik Asit/Kitosan kompoziti sentezlenerek antibakteriyel özellikleri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*; gram pozitif bakteriler) ve *Escherichia coli* (*E. coli*; gram negatif bakteriler) kullanılarak değerlendirilmiştir. Bulgular, CS-TA kompozit filmlerinin mükemmel antibakteriyel özellikleri nedeniyle uzun süreli gıda depolama için aktif paketlenme malzemeleri olarak kullanılabilceğini göstermektedir (27).

Adenantha pavonina L.'den kitosan ve galaktomannan karışımına, sodyum asetat ilavesiyle antimikrobiyal kaplamalar ve filmler üretilerek hazırlanan kompozit kaplamaların antimikrobiyal aktivitesi *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *S. enteritidis*'e karşı değerlendirilmiştir. Bu kompozit kaplamaların Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğundan dolayı, gıda uygulamalarına yönelik antimikrobiyal kaplamaların ve filmlerin geliştirilmesinde kullanılabilir, dolayısıyla gıdanın korunmasına ve raf ömrünün uzatılmasına katkıda bulunabileceği vurgusu yapılmıştır (28).

Farklı seviyelerde Tigesiklin (TIGE) kullanılarak yeni geliştirilmiş farklı oranlarda Kitosan (CS) filmleri elde edilmiştir. Hazırlanan (CS/TIGE) kompozitlerin iki gram negatif (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*) ve iki gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) olmak üzere dört farklı bakteri türüne karşı antimikrobiyal etkisi tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Cs/TIGE bileşiğinin yüksek antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle birçok antimikrobiyal uygulamada kullanılabilceği vurgulanmaktadır (29).

Choo ve arkadaşları (2021) tarçın ve karanfil esansiyel yağlarını içeren kitosan/asetillenmiş nişasta kompozit filmleri çözelti döküm tekniği kullanılarak üretilmiş, sığır eti üzerinde bozulma yapan bakterilere ve patojen *Escherichia coli*'ye karşı mükemmel antibakteriyel aktivite sergilediğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, uçucu yağlarla birleştirilen filmler mükemmel bariyer ve antimikrobiyal özellikler sergilemiş ve yenilebilir gıda ambalajlama uygulamalarında kullanım için iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (30).

Selüloz, ayırma uygulamaları için membranların hazırlanmasında kullanılabilir ve biyolojik olarak parçalanabilir, biyouyumlu, tekrar üretilbilir ve geleneksel petrokimyasal malzemelere karşı ucuz bir alternatif maddedir. Bu

nedenle antimikrobiyal aktiviteye sahip malzemelerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Poliakrilik asitle kaplanmış gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), antimikrobiyal aktiviteleri arttırmak için kitosan/selüloz kompozit filmlerle konjuge edililerek hazırlanan Kitosan/selüloz ve kitosan/selüloz-AgNP kompozit filmlerinin antimikrobiyal özellikleri, *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ile disk difüzyon testleri kullanılarak belirlendi. Kitosan/selüloz kompozit filmlerle karşılaştırıldığında, kitosan/selüloz-AgNP kompozit filmleri önemli ölçüde gelişmiş antimikrobiyal aktivite göstermiş olduğu belirlenmiştir (31).

UV ışığı altında tamamen söndürülmüş fotoelektrokimyasal tepki gösteren ve UV ışığı altında fotokatalitik aktiviteyi bloke eden çapraz bağlı Kitosan-ZnO NP'ler ile kimyasal polimeri elde etmiş ve *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (32).

4.Kitosan Kompozitleri ve Antifungal Aktiviteleri

Kitosan, insan patojenik funguslarının neden olduğu hastalıkları tedavi etmek için antifungal ajan olarak büyük bir potansiyele sahiptir (33,34). Bu polimer, *Fusarium proliferatum* ve *Hamigera avellanea* gibi fırsatçı insan patojenlerini öldürür (35).

Kitosanın ayrıca, filogenetik olarak fırsatçı insan patojenlerine yakın olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* ve *Verticillium dahliae*'nin çimlenmesini ve büyümesini durdurduğu belirtilmektedir (36). Kitosan, *Aspergillus fumigatus* ve *Rhizopus stolonifer* gibi diğer fungal insan patojenlerinin büyümesini de kısıtlar. Kitosan, *A. fumigatus*'ta biyofilm oluşumunu engeller (37). Kitosan, *Candida* spp. ve *Cryptococcus* spp. patojenik mayaların büyümesini engeller (35,38). Kitosanın, insan kanındaki (glisemi) ile aynı beslenme durumu (karbon) altında *C. albicans* gibi filamentli fungusların büyümesini inhibe ettiği belirtilmektedir. (35). Önemli ölçüde anti fungal etkinliği olan kitosanın insan fungal patojenleri için fungisidal konsantrasyonlarda memeli (insan ve maymun) hücrelerine zarar vermediği bildirilmiştir [35]. Bu da onu klinik uygulamalar için uygun hale getirmektedir. Nanoteknoloji, tıbbi mikoloji ve biyoteknolojide ilaç verme potansiyeli olan yeni kitosan formülasyonlarına (örneğin nanofiberler, nanokompozitler veya nanokapsüller) izin vermektedir (39,40). Bu bulgular, pratik kullanım için doğal bir antifungal bileşik olarak kitosanın geliştirilmesi için yeni olanaklar sunmaktadır.

Birçok makalede bildirildiği üzere, kitosan türevi nanopartiküller (CSNP) geleneksel kitosana kıyasla daha güçlü antifungal etki göstermektedir (40,41) Bunun nedeni büyük olasılıkla daha yüksek yüzey-yük yoğunluğu, daha büyük yüzey alanı ve yığın kitosana kıyasla daha iyi hücresel alımdır (40,41). Kitosan nanopartiküllerinin antifungal etkinliğiyle ilgili literatürde birçok çalışma mevcuttur ve konuyla ilgili bazı çalışmalar Tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1. Literatürdeki Kitosan Bazlı Kompozitler ve Etki Ettikleri Mikroorganizmalar

Kompozit	Mikroorganizma	Referans
Grafen oksit/Kitosan	<i>Escherichia coli</i>	18
Kitosan/Jelatin	<i>E. coli, S. aureus</i>	19
Kitosan/Lignin	<i>Staphylococcus aureus,</i> <i>S. Aureus, Escherichia coli, E. coli</i>	20
Puerarin/Kitosan	<i>Escherichia coli</i>	21
Polivinil alkol/Kitosan/ Greyfurt Çekirdeği Ekstresi	<i>Escherichia coli,</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	24
ϵ -poli-l-lisin(ϵ -PLL)/Sibirya mersin balığı jelatin/Kitosan	<i>Escherichia coli,</i> <i>Salmonella typhimurium,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>and Bacillus subtilis'</i>	25
Aljinat/Kitosan	<i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Escherichia coli</i> 'ye	26
Tannik Asit/Kitosan	<i>S. aureus, Escherichia coli</i>	27

<i>Adenanthera pavonina</i> L./ Kitosan/Galaktomannan	<i>L. monocytogenes, S. aureus, P. aeruginosa</i> ve <i>S. enteritidis</i> 'e	28
Tigesiklin/Kitosan	<i>Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa</i>	29
Tarçın ve Karanfil Esansiyel Yağları/Kitosan/Asetillenmiş Nişasta	<i>Escherichia coli</i>	30
Kitosan/Selüloz-AgNP	<i>Escherichia coli, Staphylococcus aureus</i>	31
Kitosan-ZnO	<i>S. aureus, E. coli</i>	32
Kitosan -TPP	<i>C. albicans, F. solani</i> and <i>Aspergillus niger</i>	40
Kitosan -TPP	1.1.1.1 <i>P. steckii</i> and <i>A. oryzae</i>	41
Kitosan –metal NP	<i>Alternaria solani, Fusarium oxysporum</i>	42
Kitosan –metal NP	<i>Alternaria alternata, Macrophomina phaseolina, Rhizoctonia solani</i>	43

Kitosan –AgNP	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Alternaria alternata</i>	44
Kitosan -ferulic acid	<i>C. albicans</i>	45

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, CSNP'lerin mantarlara ve özellikle patojenik mantarlara karşı inhibitör etkilerini arttırmak için bitki ekstraktlarının veya bitki esansiyel yağlarının kullanımı değerlendirilmiştir. *P. dactylifera* bitki özütü yüklü CSNP'lerin *C. albicans*'a karşı önemli inhibitör etki sergilediği gözlemlenmiştir. (46)

Kitosan nanopartikül preparatına guar sakızı eklenmesi ile hazırlanan CSNP'lerin *Pyricularia grisea* fungusuna karşı inhibitör etkisi incelenen bir çalışmada guar sakızı eklenmiş CsNP'lerin 0.01 mg/mL konsantrasyonda miselyal büyümeyi inhibe ederek antifungal etki (%71 inhibisyon) sergilediği belirtilmiştir (47).

Bitkisel uçucu yağ karışımları (yani kekik-kekik, kekik-çay ağacı ve kekik-nane) yüklü kitosan bazlı nanokompozit filmler *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus* ve *Penicillium chrysogenum*'a karşı önemli antifungal aktiviteler sergilemiştir (48).CSNP'ler ile kapsüllenmiş karanfil uçucu yağı, tek başına kullanılan CSNP'ler ve karanfil uçucu yağına kıyasla *A. niger*'e karşı güçlü bir antifungal aktivite göstermiştir (49).

Bir başka çalışmada, kapsüllenmiş anetol-kitosan (Ant-eCsNe) nanoemülsiyonunun mantar kontaminasyonu ve aflatoksin B1 üretimi üzerindeki inhibitör etkisi değerlendirilmiştir. İn-vivo saha deneyi verileri, Ant-eCsNe'nin depolanmış mısır örneklerini fungus istilasından ve aflatoksin B1 kontaminasyonundan korumada büyük bir potansiyele sahip olduğunu ve bu sayede iyi bir gıda koruyucusu olduğunu ortaya koymuştur. (50)

Ayrıca, *Ocimum sanctum*, *Ocimum basilicum* ve *Ocimum canum* uçucu yağları ile birlikte nano kapsüllenmiş kitosan, patojenik fungus *Aspergillus flavus* ve aflatoksin B1'e karşı önemli bir inhibitör aktivite sergilemiştir. Bu kitosan nano-matriks, serbest uçucu yağlara kıyasla antifungal ve aflatoksin B1

inhibisyonunu arttırmış ve tohum örneklerini mantar kontaminasyonundan ve mikotoksin üretiminden korumuştur (51).

5. Sonuç

Sonuç olarak, kitosan ve kitosan kompozitleri güvenli ve etkili antimikrobiyal ajanlar olarak değerlendirilebilir. Son zamanlarda, yeni ve daha güçlü antimikrobiyal bileşikler geliştirmek için kitosanın metal nanopartikülleri indirgeme ve kapatma kabiliyetine odaklanılmıştır. Bakteri ve bitki özleri gibi doğal kaynaklardan nanoparçacıkların sentezlenmesi için yeni teknikler geliştirilmektedir. Kitosan ile stabilize edilmiş metal nanopartiküllerin kombinasyonuna yönelik yapılan bir çok çalışma, yeni bir antimikrobiyal ajan sınıfının geliştirilmesini kolaylaştırabilecek sinerjik bir etki sağlayabilir.

REFERANSLAR

1. Vahidi, H., Kobarfard, F., Alizadeh, A., Saravanan, M., Barabadi, H. (2021), Green nanotechnology-based tellurium nanoparticles: exploration of their antioxidant, antibacterial, antifungal and cytotoxic potentials against cancerous and normal cells compared to potassium tellurite, *Inorg. Chem. Commun.*, 124, 108385.
2. Cui, H., Tang, C., Wu, S., McClements, D. J., Liu, S., Li, B., Li, Y. (2022), Fabrication of chitosan-cinnamaldehyde-glycerol monolaurate bigels with dual gelling effects and application as cream analogs, *Food Chemistry*, 384, 132589.
3. Ke, CL., Deng, FS., Chuang, CY., Lin, CH. (2021), Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan. *Polymers (Basel) Mar*, 15;13(6):904.
4. Mehraie, A., Khanzadi, S., Hashemi, M., Azizzadeh, M. (2023), New coating containing chitosan and Hyssopus officinalis essential oil (emulsion and nanoemulsion) to protect shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against chemical, microbial. and sensory changes, *Food Chemistry: X*, 19, 100801.
5. Wang, W., Meng, Q., Li, Q., Liu, J., Zhou, M., Jin, Z., Zhao, K. (2020), Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *Int J Mol Sci.*, 12;21(2):487. doi: 10.3390/ijms21020487.
6. Hassan, M.A., Omer, A.M., Abbas, E. (2018), Preparation, physicochemical characterization and antimicrobial activities of novel two phenolic chitosan Schiff base derivatives. *Sci Rep* 8, 11416. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29650-w>
7. Jiang, Y., Gong, J.L., Zeng, G.M., Ou, X.M., Chang, Y.N., Deng, C.H., Zhang, J., Liu, H.Y., Huang, S.Y. (2016), Magnetic chitosan-graphene oxide composite for anti-microbial and dye removal applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 702-710.

8. Mania, S., Banach-Kopec, A., Staszczuk, K., Kulesza, J., Augustin, E., Tylingo, R. (2023), An influence of molecular weight, deacetylation degree of chitosan xerogels on their antimicrobial activity and cytotoxicity. Comparison of chitosan materials obtained using lactic acid and CO₂ saturation, *Carbohydrate Research*, 534, 108973.
9. Yu, D., Basumatary, I.B., Liu, Y., Zhang, X., Kumar, S., Ye, F., Dutta, J. (2024), Chitosan-photocatalyst nanocomposite on polyethylene films as antimicrobial coating for food packaging, *Progress in Organic Coatings*, 186, 108069.
10. Homayonpour, P., Jalali, H., Shariatifar, N., Amanlou, M. (2021), Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free /nano-encapsulated cumin (*Cuminum cyminum* L.) essential oil on quality characteristics of sardine fillet, *International Journal of Food- Microbiology*, 341, 109047.
11. Mehraie, A., Khanzadi, S., Hashemi, M., Azizzadeh, M. (2023), New coating containing chitosan and *Hyssopus officinalis* essential oil (emulsion and nanoemulsion) to protect shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against chemical, microbial and sensory changes, *Food Chemistry: X*, 19, 100801
12. Elmehbad, N.Y., Mohamed, N.A., Abd El-Ghany, N.A., Abdel-Aziz, M.M. (2023), Reinforcement of the antimicrobial activity and biofilm inhibition of novel chitosan-based hydrogels utilizing zinc oxide nanoparticles, *International Journal of Biological Macromolecules*, 246, 125582.
13. Mania, S., Banach-Kopec, A., Staszczuk, K., Kulesza, J., Augustin, E., Tylingo, R. (2023), An influence of molecular weight, deacetylation degree of chitosan xerogels on their antimicrobial activity and cytotoxicity. Comparison of chitosan materials obtained using lactic acid and CO₂ saturation, *Carbohydrate Research*, 534, 108973.
14. Li, J., Zhuang, S. (2016), Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: current state and perspectives, *Eur. Polym. J.* 138 (2020)
15. M. Hosseinnjad, S.M. Jafari, Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.* 85, 467–475, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.022>. Elsevier B.V
16. Mittal, A., Singh, A., Benjakul, S., Prodpran, T., Niluwan, K., Huda, N., de la Caba K., (2021), Composite films based on chitosan and epigallocatechin gallate grafted chitosan: Characterization, antioxidant and antimicrobial activities, *Food Hydrocolloids*, 111, 106384.
17. Chang, X., Hou, Y., Liu, Q., Hu, Z., Xie, Q., Shan, Y., Li, G., Ding, S. (2021), Physicochemical and antimicrobial properties of chitosan composite films

- incorporated with glycerol monolaurate and nano-TiO₂, *Food Hydrocolloids*, 119, 106846.
18. Jiang, Y., Gong, J.L., Zeng, G.M., Ou, X.M., Chang, Y.N., Deng, C.H., Zhang, J., Liu, H.Y. (2016), Shuang-Yan Huang, Magnetic chitosan–graphene oxide composite for anti-microbial and dye removal applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 702-710.
 19. D'souza, O.J., Pinto, J.P., Shettar, A.K., Narasagoudr, S. S., Masti, S.P., Chougale, R.B. (2023), Biofunctionalization of chitosan/gelatin composite films reinforced Phyllanthus niruri extract for wound healing application, *Surfaces and Interfaces Part A*, 43, 103567.
 20. Winotapun, C., Hararak, B., Treetong, A., Chaloeijitkul, K., Sane, A. (2022), Self-assembly of colloidal lignin nanosphere particles blended with chitosan composite coated bagasse paper: An eco-friendly food packaging with antimicrobial properties, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 655, 130207.
 21. Ouyang, L., Chen, B., Liu, X., Wang, D., Li, Y., Liao, Y., Yeung, K.W.K., Liu, X. (2023), Puerarin@Chitosan composite for infected bone repair through mimicking the bio-functions of antimicrobial peptides, *Bioactive Materials*, 21, 520-530.
 22. Meng, L., Li, S., Wanyan, C. (2022), Design and evaluation of a novel nano copper/chitosan–starch bio-composite on antimicrobial property and wound-healing efficacy, *Inorganic Chemistry Communications*, 140, 109433.
 23. Oun, A.A., Shin, G.H., Kim, J.T. (2022), Antimicrobial, antioxidant, and pH-sensitive polyvinyl alcohol/chitosan-based composite films with aronia extract, cellulose nanocrystals, and grapefruit seed extract, *International Journal of Biological Macromolecules*, 213, 381-393.
 24. Mousavi, Z., Naseri, M., Babaei, S., Hosseini, S.M.H., Shekarforoush, S.S. (2021), The effect of cross-linker type on structural, antimicrobial and controlled release properties of fish gelatin-chitosan composite films incorporated with ϵ -poly l-lysine, *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1743-1752.
 25. Pan, J., Li, Y., Chen, K., Zhang, Y., Zhang, H. (2021), Enhanced physical and antimicrobial properties of alginate/chitosan composite aerogels based on electrostatic interactions and noncovalent crosslinking, *Carbohydrate Polymers*, 266, 118102.
 26. Lee, S.J., Gwak, M.A., Chathuranga, K., Lee, J.S., Koo, J., Park, W.Ho. (2023), Multifunctional chitosan/tannic acid composite films with improved anti-UV, antioxidant, and antimicrobial properties for active food packaging, *Food Hydrocolloids, Part A*, 136, 108249.

27. Almeida, L.B.S., Figueiredo, E.A.T., Dias, F.G.B., Santos, F.M.S., Fernandes, B.D., Vicente, A.A., Cerqueira, M.A., Silva, A.L.C., Vale, D.A., Souza, B.W.S. (2021), Antimicrobial properties of chitosan and galactomannan composite coatings and physical properties of films made thereof, *Future Foods*, 3, 100028.
28. Menazea, A.A., Eid, M.M., Ahmed, M.K. (2020), Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial activity of novel Chitosan/Tigecycline composite, *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 194-199.
29. Choo, K.W., Lin, M., Mustapha, A. (2021), Chitosan/acetylated starch composite films incorporated with essential oils: Physicochemical and antimicrobial properties, *Food Bioscience*, 43, 101287.
30. Lin, S., Chen, L., Huang, L., Cao, S., Luo, X., Liu, K. (2015), Novel antimicrobial chitosan–cellulose composite films bioconjugated with silver nanoparticles, *Industrial Crops and Products*, 70, 395-403.
31. Barjasteh, M., Dehnavi, S.M., Seyedkhani, S.A., Rahnamaee, S.Y., Golizadeh, M. (2023), Improved biological activities of dual nanofibrous chitosan/bacterial cellulose wound dressing by a novel silver-based metal-organic framework, *Surfaces and Interfaces*, 36, 102631.
32. Zaharia, A., Muşat, V., Ghisman, V.P., Baroiu, Ni. (2016), Antimicrobial hybrid biocompatible materials based on acrylic copolymers modified with (Ag)ZnO/chitosan composite nanoparticles, *European Polymer Journal*, 84, 550-564.
33. Calamari S.E., Bojanich M.A., Barembaum S.R., Berdicevski N., Azcurra A.I. (2011), Antifungal and post-antifungal effects of chlorhexidine, fluconazole, chitosan and its combinations on *Candida albicans*. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*. 16, 23–28. doi: 10.4317/medoral.16.e23.
34. Peña A., Sánchez N.S., Calahorra M. (2013), Effects of Chitosan on *Candida albicans*: Conditions for its antifungal activity, *BioMed Res. Int.* 2013, 527549. doi: 10.1155/2013/527549.
35. Lopez-Moya F., Colom-Valiente M.F., Martinez-Peinado P., Martinez-Lopez J.E., Puelles E., Sempere-Ortells J.M., Lopez-Llorca L.V. (2015), Carbon and nitrogen limitation increase chitosan antifungal activity in *Neurospora crassa* and fungal human pathogens, *Fungal Biol.* 119, 154–169. doi: 10.1016/j.funbio.2014.12.003.
36. Palma-Guerrero J., Jansson H.B., Salinas J., Lopez-Llorca L.V. (2008), Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi, *J. Appl. Microbiol.*, 104, 541–553. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03567.x.

37. Kvasničková E., Paulíček V., Paldrychová M., Ježdík R., Mařátková O., Masák J. (2016), *Aspergillus fumigatus* DBM 4057 biofilm formation is inhibited by chitosan, in contrast to baicalein and rhamnolipid, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 187. doi: 10.1007/s11274-016-2146-9.
38. Kulikov S.N., Lisovskaya S.A., Zelenikhin P.V., Bezrodnykh E.A., Shakirova D.R., Blagodatskikh I.V., Tikhonov V.E. (2014), Antifungal activity of oligochitosans (short chain chitosans) against some *Candida* species and clinical isolates of *Candida albicans*: Molecular weight-activity relationship. *Eur. J. Med. Chem.*, 74, 169–178. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.12.017.
39. Bégin A., Van Calsteren M.R. (1999), Antimicrobial films produced from chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.*, 26, 63–67. doi: 10.1016/S0141-8130(99)00064
40. Ing L.Y., Zin N.M., Sarwar A., Katas H. (2012), Antifungal activity of chitosan nanoparticles and correlation with their physical properties, *Int. J. Biomater.*, 2012, 1–9. doi: 10.1155/2012/632698.
41. Xing, Y.; Wang, X.; Guo, X.; Yang, P.; Yu, J.; Shui, Y.; Chen, C.; Li, X.; Xu, Q.; Xu, L. (2021), Comparison of Antimicrobial Activity of Chitosan Nanoparticles against Bacteria and Fungi, *Coatings*, 11, 769.
42. Saharan, V., Mehrotra, A., Khatik, R., Rawal, P., Sharma, S. S., Pal, A. (2013), Synthesis of chitosan based nanoparticles and their in vitro evaluation against phytopathogenic fungi, *International journal of biological macromolecules*, 62, 677-683.
43. Saharan, V., Sharma, G., Yadav, M., Choudhary, M. K., Sharma, S. S., Pal, A., Biswas, P. (2015). Synthesis and in vitro antifungal efficacy of Cu–chitosan nanoparticles against pathogenic fungi of tomato, *International journal of biological macromolecules*, 75, 346-353.
44. Kaur, P., Thakur, R., & Choudhary, A. (2012), An in vitro study of the antifungal activity of silver/chitosan nanoformulations against important seed borne pathogens, *Int J Sci Technol Res*, 1:(6), 83-86.
45. Panwar, R., Pemmaraju, S. C., Sharma, A. K., & Pruthi, V. (2016), Efficacy of ferulic acid encapsulated chitosan nanoparticles against *Candida albicans* biofilm, *Microbial pathogenesis*, 95, 21-31.
46. Sahyon, H. A., & Al-Harbi, S. A. (2020), Antimicrobial, anticancer and antioxidant activities of nano-heart of Phoenix dactylifera tree extract loaded chitosan nanoparticles: In vitro and in vivo study, *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 1230-1241.

47. Sathiyabama, M., & Muthukumar, S. (2020), Chitosan guar nanoparticle preparation and its in vitro antimicrobial activity towards phytopathogens of rice, *International journal of biological macromolecules*, 153, 297-304.
48. Khatami, M., Sharifi, I., Nobre, M.A.L., Zafarnia N., Aflatoonian, M.R. (2018), Waste-grass-mediated green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their anticancer, antifungal and antibacterial activity, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11:(2), 125-134, DOI: [10.1080/17518253.2018.1444797](https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1444797)
49. Hossain, F., Follett, P., Salmieri, S., Vu, K. D., Frascini, C., Lacroix, M. (2019), Antifungal activities of combined treatments of irradiation and essential oils (EOs) encapsulated chitosan nanocomposite films in in vitro and in situ conditions, *International journal of food microbiology*, 295, 33-40.
50. Chaudhari, A.K., Singh, V.K., Das, S. (2020), Antimicrobial, af-latoxin B 1 inhibitory and lipid oxidation suppressing potential of anethole-based chitosan nanoemulsion as novel preservative for protection of stored maize, *Food Bioprocess Technol.*, 13, 1462–1477.
51. Kumar, A., Singh, P.P., Gupta, V. (2020), Assessing the anti-fungal and aflatoxin B1 inhibitory efficacy of nanoen-capsulated antifungal formulation based on combina-tion of ocimum spp. essential oils, *Int J Food Microbiol.*, 330, 108766.

BÖLÜM 9

**TOPRAKTAN
Penicillium purpurogenum'un
İZOLASYONU,
KLASİK VE MOLEKÜLER
TANIMLAMASI, PİGMENT ÜRETİMİNİN
ARTIRILMASINA
YÖNELİK OPTİMİZASYONU**

**SINAN GÜNER¹
Prof.Dr. Tülin AŞKUN²
Pınar GÜNER³**

¹Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Orcid: 0009-0006-9384-0173

²Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Orcid: 0000-0002-2700-1965

³Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Orcid: 0000-0001-6922-7009

GİRİŞ

Renk, dünyadaki tüm organizmaların yaşamında her zaman önemli bir rol oynamıştır. Renklerin kıyafetten yiyeceğe, mobilyaya kadar her alanda kullanılmasıyla insan hayatı gerçekten “renkli” hale gelmiştir. Pek çok arkeolojik kanıt, pigmentlerin renklendirici madde olarak kullanımının eski çağlardan beri uygulandığını göstermektedir (Kumar ve ark., 2015). Pigmentler, özellikle sentetik olanlar, 19. yüzyıldaki keşiflerinden bu yana farklı endüstrilerdeki geniş uygulama alanları nedeniyle tüm pazarı işgal etmiştir. Düşük üretim maliyetleri, üretim kolaylığı ve üstün renklendirme özellikleri gibi farklı özellikleri, sentetik pigmentlerin pazarda yerleşmesine büyük ölçüde katkıda bulunmuştur. Ancak sentetik renklerin kullanımının birçok olumsuz etkisi özellikle insan sağlığına ve çevreye zararlı olduğu tespit edilmiştir (Osman ve ark., 2004; Babitha,2009). Sentetik pigmentlerin zayıf bozunuma, daha uzun kalıcılık, kansere/alerjiye neden olma potansiyeli gibi pek çok dezavantajı, içinde bulunduğumuz çağda doğal, organik ve çevre dostu pigmentlere olan talebi artırmıştır (Ratna, 2012). Doğal pigmentler; tekstil, ilaç, kozmetik, boya, yiyecek ve içecek endüstrileri de dahil olmak üzere birçok endüstride renklendirici, renk yoğunlaştırıcı, katkı maddesi, antioksidan vb. olarak kullanılmaktadırlar (Akilandeswari ve Pradeep, 2016; Rao ve ark., 2017). Son yıllarda mantarlar, çevre dostu doğal pigment kaynakları arasında ön plana çıkmıştır. Kolay işlenme, ucuz ortamda hızlı büyüme ve hava şartlarından bağımsız büyüme, onları doğal pigmentlere mükemmel bir alternatif haline getirmiştir (Akilandeswari ve Pradeep, 2016).

1.1 Doğal Pigmentler

Doğal pigmentler, esas olarak bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenen doğal olarak türetilmiş pigmentlerdir (Samanta ve Agarwal, 2009; Chattopadhyay, 2008). Antik çağlardan beri farklı amaçlarla kullanılan doğal pigmentlerin çoğu üzüm, çivit, pancar, zerdeçal, kök boya, safran vb. bitkilerden üretilmektedir (Joshi ve ark., 2003). Kırmızı renk için kökboya (*Rubia tinctorum*) kullanılırken, sarı renkte boya elde etmek için muhabbet çiçeği (*Reseda luteola* L.), boyacı sumacı (*Cotinus coggyria* Scop.), boyacı katırtırnağı (*Genista tinctoria* L.), *Serratula tinctoria* L. Gaud ve bazı cehri (Rhamnus) türleri kullanılmaktadır (Cardon, 2007). Ancak bitkilerden pigment üretimi süreci, mevsim bağımlılığı, yaygın kullanım nedeniyle hassas bitki türlerinin kaybolması, renk tonlarında ve yoğunluklarında farklılıklar, üretimin pahalı olması gibi çeşitli sorunlar nedeniyle iyi bir seçenek olmamaktadır (Downham ve Collins, 2000). Eski çağlarda özellikle kırmızı renk elde etmek için dünyanın çeşitli bölgelerinde bazı böceklerden yararlanılmıştır (Colombini ve ark., 2007). Kullanılan böcekler arasında Amerikan köşinili (*Dactylopius coccus*

Costa) (Dölen, 1992), lak böceği (*Kerria lacca* Kerr), Polonya kermesi (*Porphyrophora polonica* L.), kermes (*Kermes vermilio* Planchon) ve ekin koşinil (*Porphyrophora tritici* Bod.) yer almaktadır (Karadağ, 2007).

Günümüzde bakteriler, mantarlar ve algler dahil olmak üzere mikroorganizmaların doğal pigmentlerin mükemmel bir alternatif kaynağı olduğu gösterilmiştir. Pigmentlerin büyük ölçekli üretimi için mikroorganizmalar, kültürel tekniklerinin, işlenmesinin ve kullanım kolaylığının net bir şekilde anlaşılması nedeniyle daha uygundur. Mikroorganizmalardan, özellikle bakteri ve mantarlardan elde edilen doğal pigmentler dünya çapında birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Kumar ve ark., 2015; Sarkar ve ark.,2017).

1.2 Fungal Pigmentler

Mantarların doğal pigmentlerin iyi ve kolaylıkla bulunabilen alternatif bir kaynağı olduğu gösterilmiştir (Numan ve ark., 2018; Ramesh ve ark., 2019). Mantarların, mevsimden bağımsız pigment üretimi, ucuz kültür ortamında kolay ve hızlı büyüme, farklı renk tonlarında ve daha stabil, çözünür pigmentler üretme ve kolay işlenme gibi bitkilere göre çok büyük avantajları vardır (Manikprabhu ve Lingappa, 2013). Güçlü pigment üreticileri olarak tanımlanan familyalar arasında Monascaceae, Pleosporaceae, Polyporaceae, Tremellaceae, Chaetomiaceae, Hypocreaceae, Hymenochaetaceae ve Sordariaceae yer almaktadır (Pombeiro-Sponchiado ve ark, 2017; Avalos ve ark.,2017; Agurto ve ark., 2017). Bu mantarların sekonder metabolitler olarak çeşitli pigmentleri sentezlediği bilinmektedir. Karotenoidler, melaninler, azafilonlar, flavinler, fenazinler, kinonlar, monasin, viyolasin, indigo vb. gibi çeşitli kimyasal sınıflara ait pigmentlerin üreticileridirler (Mapari ve ark.,2010). *Monascus* pigmentlerinin kırmızı küflü pirinç (ang-kak) üretiminde kullanımı, mantar pigmentlerinin insanlar tarafından kaydedilen en eski kullanımıdır. *Monascus*' un belirli türlerinin, yani *Monascus ruber* ve *Monascus purpureus*'un dünya çapında iyi potansiyel pigment üreticileri olduğu rapor edilmiştir. Çalışmalar, *M. ruber* tarafından üretilen kırmızı pigmentin, gıda katkı maddesinin yanı sıra önemli bir gıda renklendiricisi olarak potansiyelini göstermiştir (Fabre ve ark.,1993). *Monascus*'un yanı sıra birçok *Fusarium* türünün de pigment üretme yetenekleri olduğu rapor edilmiştir. Çalışmalarda bikaverin, fusarubinler, bazı naftokinon (8-O-methybostrycoidin, 8-O-metilfusarubin, 8-O-metilnectriafurone, 8-O-metil-13-hidroksinorjavanicin, 8-O-metilanhidrofusarubinlaktol) gibi pigmentler rapor edilmiştir (Pradeep ve ark., 2015). Pek çok araştırma *Penicillium*'un güçlü pigment üreticileri olduğunu rapor etmektedir (Mapari ve ark., 2009). Arpink kırmızıTM (ilk ticari kırmızı renklendirici), talarokonvolutinler A-D,

sklerotiyorin, ksantoeposin, atrovenetin ve *Penicillium oxalicum* var.'dan keşfedilen dihidrotrikodimerol armeniaca, *Penicillium convolutum* (*Talaromyces convolutes*), *Penicillium mallochii*, *Penicillium simplicissimum*, *Penicillium melinii* ve *Penicillium flavigenum* sırasıyla (Teixeira ve ark., 2012). Ayrıca PP-V [(10Z)-12-karboksilmonaskorubramin] ve PP-R [(10Z)-7-(2-hidroksietil)-monaskorubramin] gibi diğer birçok *Monascus* benzeri pigment de *Penicillium*'dan rapor edilmiştir (Ogihara ve ark., 2001).

2. MATERYAL&METOT

2.1 Toprak Örneklerinin Toplanması

Toprak örnekleri Manisa ili, Akhisar ilçesine bağlı Musaca Köyünün farklı yerlerinden 10-15 cm derinliğinde çukurlar kazıldıktan sonra toplandı. Örnekler steril fermuarlı polietilen torbalarda toplandı ve kullanılıncaya kadar 4°C'de saklandı (Darwesh ve ark., 2018).

2.2 Topraktan Fungus İzolasyonu

Toprak örneklerinden fungusların izolasyonunda “Toprağı Sulandırma Metodu (Soil Dilutions Technique)” kullanılmıştır (Waksman 1922; Çengel 2004). Toprağı sulandırma metodu uygulanırken 1 gr fırın kurusu toprağa karşılık gelen taze toprak miktarı belirlenerek, 10 gr fırın kurusu toprağa karşılık gelen taze toprak miktarı belirlenmiştir. Taze toprak 250 mL erlenmayer içerisine konularak üzerine 90 mL steril saf su ilave edilmiştir. Hazırlanan 1/10 luk süspansiyonlar steril erlenlerde 30 dk boyunca çalkalandı. Her dilüsyon için toprak dibe çökmeden, steril, bir pipetle, 1mL örnek alındı ve 9mL steril saf su içeren tüpe aktarılarak seri dilüsyonlar yapıldı. Elde edilen süspansiyonların Rose Bengal Agara (RBA) yayma plak yöntemi ile ekim yapıldı. Ekim yapılan petriler 28 °C’ de 3-5 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlanınca petrilerdeki kolonilerin sayımı yapılarak toprak örneğinin 1 gramında bulunan toplam fungus sayısı belirlenmiştir (Hasenekoğlu 1989). Petrilerdeki koloniler benzerlik ve farklılıklar yönünden incelenerek farklı olduğu belirlenen kolonilerden yatık MEA besiyerine ekimleri yapıldı ve izolasyonları tamamlandı.

2.3 Klasik İdentifikasyon

2.3.1 Mikroskopik ve Makroskopik İnceleme

Fungus kültürünün klasik yöntemlerle tanılanmasında Yeast Extract Agar (YEA), Malt Extract Agar (MEA), Potato Dextrose Agar (PDA) ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) kullanılarak hazırlanan petri kaplarındaki besiyerlerinin yüzeyine üç nokta yöntemi kullanılarak aşılama yapıldı ve petriler 28°C'de 14 gün inkübe edildi. Tanılama amacıyla, makroskopik incelemede, koloni çapı,

koloni yüzey rengi, tekstürü, koku, koloni alt yüzey rengi, zonasyon ve eksüda, gibi morfolojik özellikleri incelendi. Mikroskopik incelemede ise, konidia, konidiofor, kleptotezyum, varsa eşeyli üreme sonucu oluşmuş yapıların varlığı araştırıldı. Türlerinin mikroskopik incelemesinde lam-lamel arası inceleme (Fujita, 2013) ve Seloteyp-bant yöntemi (Larone, 1995) kullanıldı. İncelemede su ve laktofenol mavisi kullanıldı.

2.4 Moleküler İdentifikasyon

Moleküler identifikasyon çalışmaları Charles River Microbial Solutions Lab. (ACCUGENIX) tarafından yapılmıştır.

2.4.1 *DNA İzolasyonu*

DNA izolasyonu çalışmalarında PDA besiyerinde hazırlanan kolonilerin hif ve sporları kullanıldı. DNA izolasyonunda DNeasy plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanılarak kit protokolü izlendi (Dawson, 2009).

2.4.2 *PCR Reaksiyonu*

İzole edilen DNA örneği polimeraz zincir reaksiyonu deneyi ile çoğaltıldı. Bu kapsamda kullanılan bileşikler Tablo 2.1' de belirtilmiştir.

Tablo 2.1: PCR reaksiyonunda kullanılan bileşikler.

Kullanılan bileşikler	Miktar
Kalıp DNA	5 µl
PCR tampon (10X, Vivantis)	5 µl
MgCl ₂ [25 ITS (internal transcribed spacer)-mM, Vivantis]	3 µl
DMSO	3 µl
dNTP karışımı (10 mM, Vivantis)	0.8 µl
4 primeri (10 mM) (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')	3 µl
ITS-5m primeri (10 mM) (5'GGAAGGAGAAGTCGTAACAAG-3')	3 µl
Taq DNA polimeraz (5 U/µl, Vivantis)	0.8 µl

Uygulamada kullanılacak bileşikler Tablo 2.2'de yer alan sıcaklıklar dikkate alınarak PCR cihazına yüklendi. PCR malzemeleri 0.5 µg/ml etidyum bromür içeren % 0.8' lik agaroz jelde elektroforez uygulanarak fungusu ait DNA bantları

(500-600 baz çifti) ultraviyole ışık altında incelendi (Delgado-Vargas ve ark.,2000).

Tablo 2.2: PCR reaksiyonu basamakları.

Basamak	Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
Ön ısıtma	94 °C	5 dk.	
1. basamak	94 °C	45 sn.	
2. basamak	55 °C	45 sn.	X 40 döngü
3. basamak	72 °C	2 dk.	
4. basamak	72 °C	10 dk.	X 1 döngü

2.5 Pigment Üretiminin Artırılmasına Yönelik Optimizasyon Çalışmaları

Sıcaklık, pH, farklı mineral kaynakları gibi çeşitli çevresel ve beslenme parametreleri, incelenen mantar türünden kırmızı pigmentlerin üretimini iyileştirmek ve optimize etmek için değerlendirildi. Önemli çevresel parametrelerin mantar türünün kırmızı pigment üretimi üzerindeki etkisi değerlendirmek için ortamın inkübasyon sıcaklığı 25 °C, 28 °C ve 30°C ve pH değerleri 4.0, 5.5 ve 7.0 olarak modüle edildi. Beslenme parametrelerine bağlı olarak pigment üretimindeki değişikliği belirlemek için MEA besiyeri ortamına eklenen farklı minerallerin (Demir sülfat, Bakır sülfat ve Alüminyum sülfat) farklı konsantrasyonları (1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL) ile optimum sıcaklık ve pH kullanıldı. Kontrol grubu olarak kırmızı pigmentlerin farklı besiyeri ortamlarında (MEA, SDA, PDA, Yeast Extract Agar (YEA)) ve farklı inkübasyon sürelerinde (3, 5, 7, 9, 11, 13 ve 15) optimum sıcaklık (28 °C) ve pH' da pigment üretimleri belirlendi.

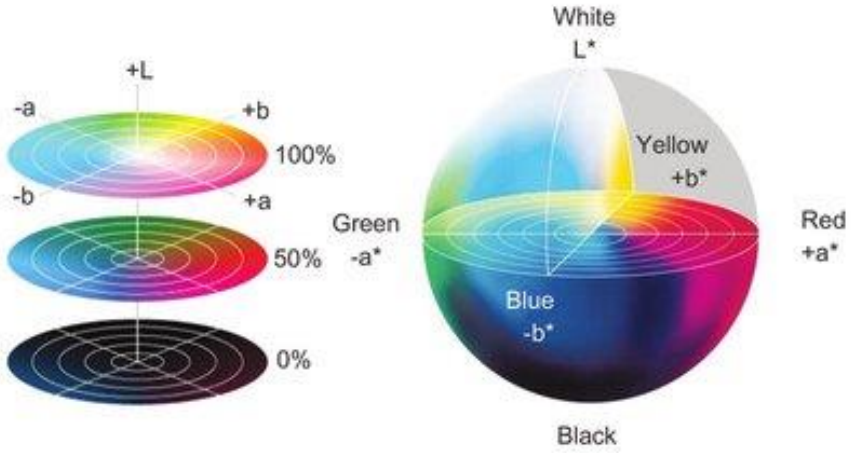
2.6 Katı Besiyerinde Pigment Üretimi

Pigment üretimi için petriyer 28 °C' de 14 gün boyunca inkübe edildi (Velmurugan ve ark.,2010). İnkübasyon süresi ve koloni gelişimi tamamlandıktan sonra her bir petriye 2 mL Tween 80 ilave edilerek, sporları kazınarak uzaklaştırıldı. Sporları alınan agarlar daha küçük parçalara ayrıldı. Etanol içeren (1/2) bir balon içine 20 petriden toplanan agar blokları (100 g) ilave edildi ve fungus metabolitlerin çözücüye geçmesini sağlamak için çalkalayıcıda (ZHWHY-211D) 26°C'de 160 rpm'de 72 saat çalkalandı. Daha sonra elde edilen

solüsyon 0,45 ve 0,22 μm Minisart filtrelerden (Supelco) geçirildi. Çözücü, buharlaştırıcı (IKA RV 10 basic) ile buharlaştırılarak ve konsantre metabolit ekstresi elde edildi. Hazırlanan ekstre, liyofilizatör (CHRIST ALPHA 1–2 LD) ile liyofilize edildi (Velmurugan ve diğerleri, 2010; Bouhri ve diğerleri, 2020). Ekstre $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda kullanılıncaya kadar saklandı.

2.7 Hunter Renk Sistemine Göre Pigmentlerin Renk Tayini

Pigmentlerin renk özellikleri için Hunter Kalorimetresi kullanılmıştır. Renk özellik testleri G23 Renk (Hunter Lab (Lab Scan XE)) referansı ile TÜBİTAK-MAM tarafından yapılmıştır.



Şekil 2.1: CIE LAB Renk Diyagramı (Flament ve ark.,2014).

3. BULGULAR

3.1 Fungusların İzolasyonu ve Tanınması

Çalışmamızda 1 gr toprakta ortalama 50.170 birim mikrofungus bulunmuştur. “Toprağı sulandırma metodu” ile 162 izolat elde edilmiştir ve bu izolatların çoğunluğunu *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri oluşturmaktadır. Sentetik kimyasalların olumsuz etkilerinden dolayı doğal ve çevre açısından güvenli pigment üreticisi fungusların izolasyonunun ve tanınmasının hedeflendiği çalışmamızda; toprak örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu agara difüzlenebilen pigment üreticisi funguslar belirlendi. İlk izolasyon sürecinin ardından beş adet pigment üreten fungus izolatı elde edildi, bu izolatlar arasında pigment üretimi açısından en verimli türün seçilmesi için katı besiyerinde (MEA) pigment üretimleri yapıldı ve 2 numaralı mantar izolatının agara difüzlenebilen yoğun koyu kırmızı bir renk oluşturduğu belirlendi.

Fungus izolatı klasik ve moleküler identifikasyon yöntemleri kullanılarak tanımlandı. Fungal izolatın morfolojik özellikleri incelenerek yapılan tanılamada; Malt Ekstrakt Agarda 28 °C’ iki hafta inkübe edilen koloniler 7-8 cm çapında, kenarda pembe beyaz ince bazal miselyumlu, ortada fıstık yeşili ve merkezde koyu yeşil ve beyaz renkte yükselen konidiofor demetleri mevcuttur. Koloni tersi koyu kırmızı renkte pigment üretimi görülmektedir. Saboroud Deskroz Agarda 28 °C’ iki hafta inkübe edilen koloniler 6-7 cm çapında, kenarda beyaz bazal miselyumlu, ortada kırmızı-sarı renkli ve merkezde fıstık yeşili renkte yükselen konidiofor demetleri mevcuttur. Koloni tersi merkezde koyu kırmızı renkte ve kenarları daha açık sarı görülmektedir.

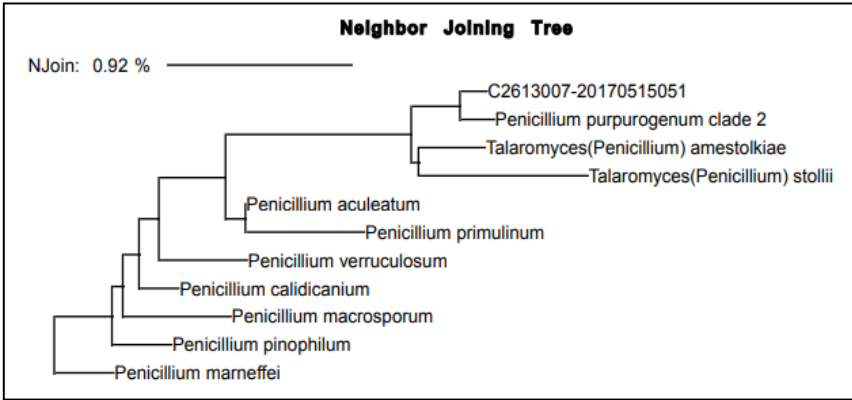
Patates Deskroz Agarda 28 °C’ iki hafta inkübe edilen koloniler 6-7 cm çapında, kenarda kırmızımsı bazal miselyumlu, ortada koyu yeşil renkli ve merkezde fıstık yeşili renktedir. Koloni tersi merkezde koyu kırmızı renkte ve kenarları daha açık kırmızı görülmektedir. Yeast Ekstrakt Agarda 28 °C’ iki hafta inkübe edilen koloniler 3-4 cm çapında, koloniler pembemsi renkte gözlendi. Koloni tersi koyu kırmızı renkte gözlendi (Şekil 3.3 ve 3.4).

Fungus izolatının mikroskopik incelemelerinde konidiaların pürüzsüz ve çaplarının 2.2-2.5 µm globoz yapılı olduğu gözlemlenirken, sterigma sayısının 5-8 ile arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Sterigma uzunluğu 7-10 µm arasındadır. Konidiyofor düzgün ve septalıdır uzunluğu ise 80-120 µm arasındadır (Şekil 3.1).

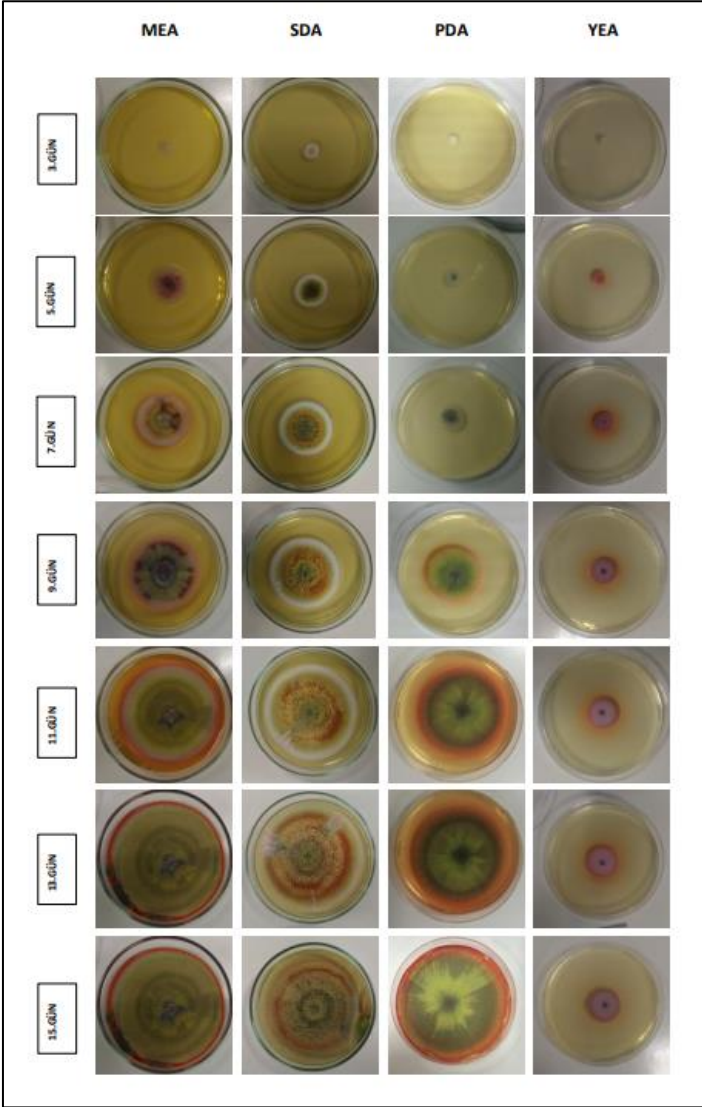


Şekil 3.1: *P. purpurogenum* mikroskobik görüntüsü (Bar=5 µm).

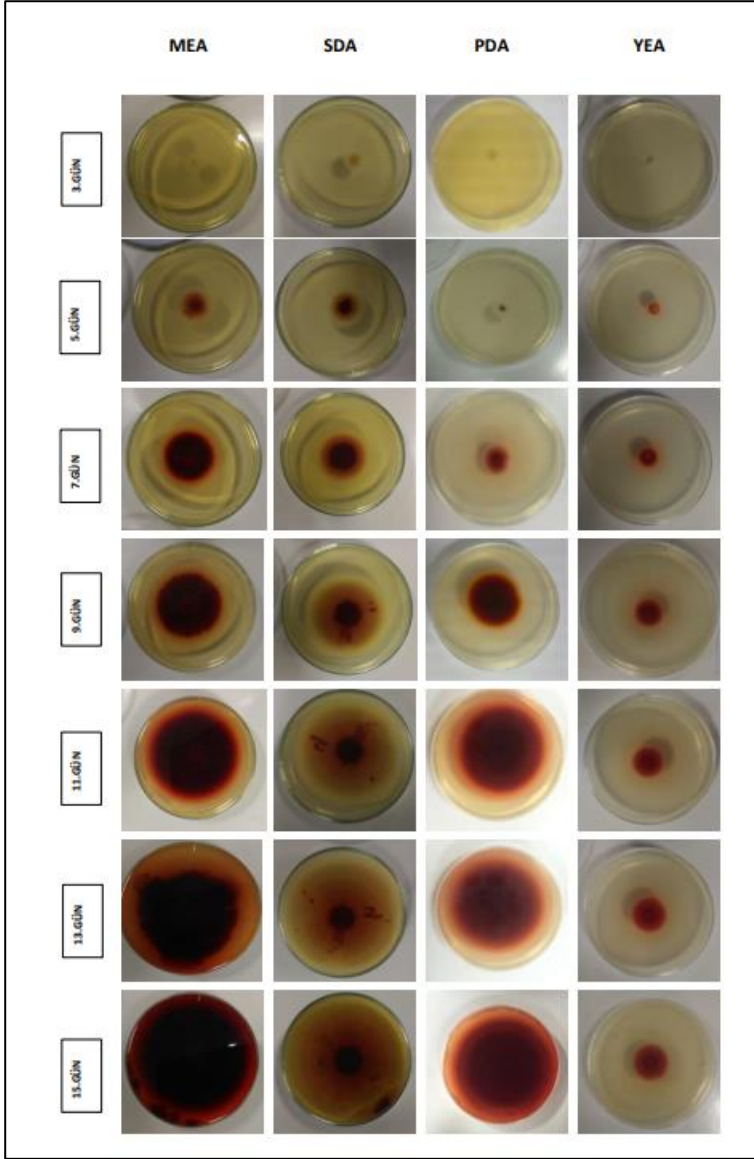
Moleküler identifikasyon çalışmalarında dizi analizi sonucu için NCBI veri tabanında nükleotid BLAST yapıldı. ITS-4 ve ITS-5 primerleri ile fungusla ait iki nükleotid dizisi belirlendi. Fungus izolatu, NCBI veri bankasındaki diğer funguslara ait ITS dizileri ile karşılaştırıldı. Fungusun Neighbor Joining (NJ) “Komşu Birleştirme Metodu” ağacı Şekil 3.2’de verilmiştir. NCBI veri bankasındaki türlerin kayıt numaraları eklenmiştir. NJ ağacının da açıkça gösterdiği gibi fungus izolatu *Penicillium purpurogenum* olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2: Filogenetik ağaç (*P. purpurogenum*).



Şekil 3.3: Farklı besiyerlerinde (MEA; SDA;PDA ve YEA) üreyen *P. purpurogenum* kolonileri ve pigment üretimi (üstten görünüm)



Şekil 3.4: Farklı besiyerlerinde (MEA; SDA;PDA ve YEA) üreyen *P. purpurogenum* kolonileri ve pigment üretimi (alttan görünüm)

3.2 Pigment Üretimini Artırılmasına Yönelik Optimizasyon Çalışmaları

3.2.1 Sıcaklık Değişiminin Pigment Üretimine Etkisi

Pigment üretimi üzerinde farklı sıcaklık değişimlerinin etkisinin araştırıldığı çalışmamızda MEA kullanılarak hazırlanan petrielerde 25 °C' 28 °C ve 30°C'

sıcaklıklarda pigment üretiminde görülen değişiklikler Şekil 3.5 ve 3.6' da fotoğraflar ile gösterilmiştir.

3.2.2 *Farklı Minerallerin Pigment Üretimine Etkisi*

Besiyerine (MEA), farklı mineral konsantrasyonlarının eklenmesine bağlı olarak 28 °C'de fungusun ürettiği pigmentin değerlendirildiği aşamada; demir, bakır ve alüminyum elementlerinin pigment üretimine etkileri Şekil 3.7 ile 3.12 arasında fotoğraflar ile gösterilmiştir.

3.2.3 *pH Değişiminin Pigment Üretimine Etkisi*

P. purpurogenum'da farklı pH ların (4.0, 5.5 ve 7.0) 28 °C'de pigment üretimine etkilerinin değerlendirildiği aşamada pigment oluşumundaki değişiklikler Şekil 3.13 ve 3.14' da fotoğraflar ile gösterilmiştir.

3.3 Pigmentlerin Renk Tayini

Çalışmamızda elde edilen pigmentlerin renk tayini için Hunter kalorimetresi, çözelti renkleri için ise Color Grap (color detection) uygulaması değerlerine (L*a*b*) kullanılmıştır. Sonuçlar tablo 3.1 ve 3.2' de verilmiştir.

Tablo 3.1: Hunter kalorimetresine ait değerler.

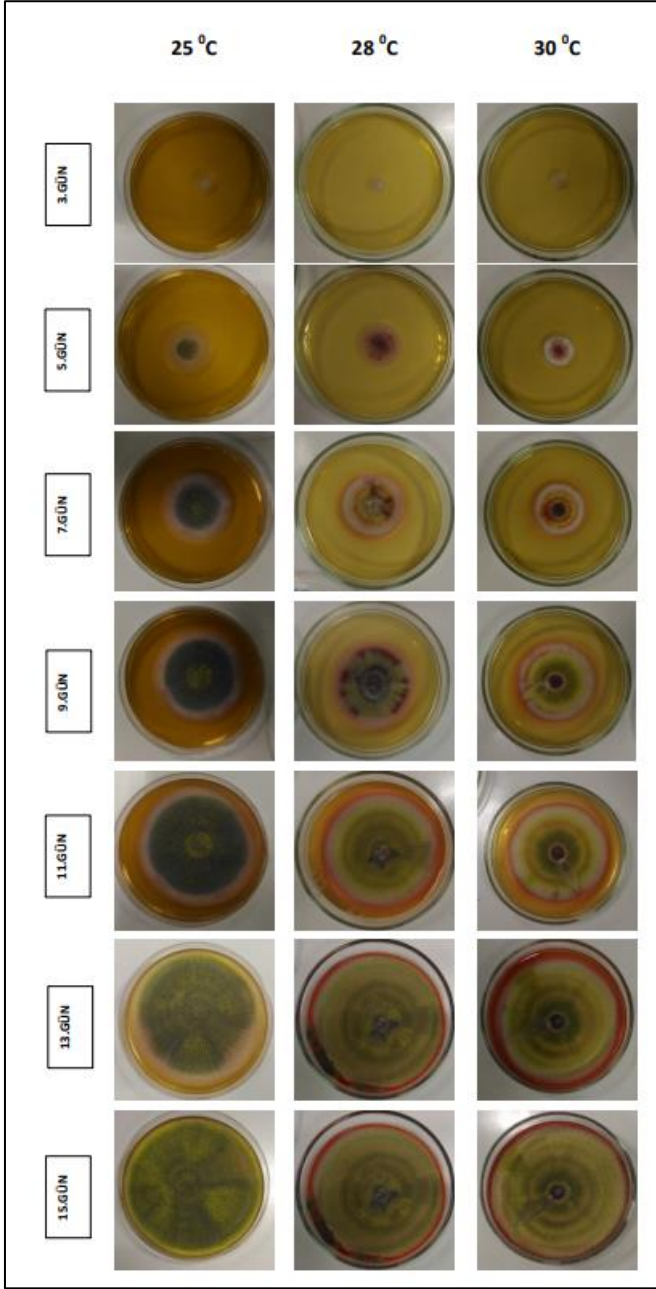
Örnek	L*	a*	b*
P-1	50.02	30.89	2.09
P-2	37.20	38.60	3.60
P-3	54.40	24.50	1.10
P-4	46.20	36.30	-0.30
P-5	65.80	5.30	3.70
P-6	64.30	7.40	3.40

*P-1: *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/MEA); P-2: *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/PDA); P-3: *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/SDA); P-4: *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/YEA); P-5: *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 4.0/MEA); P-6: *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 7.0/MEA).

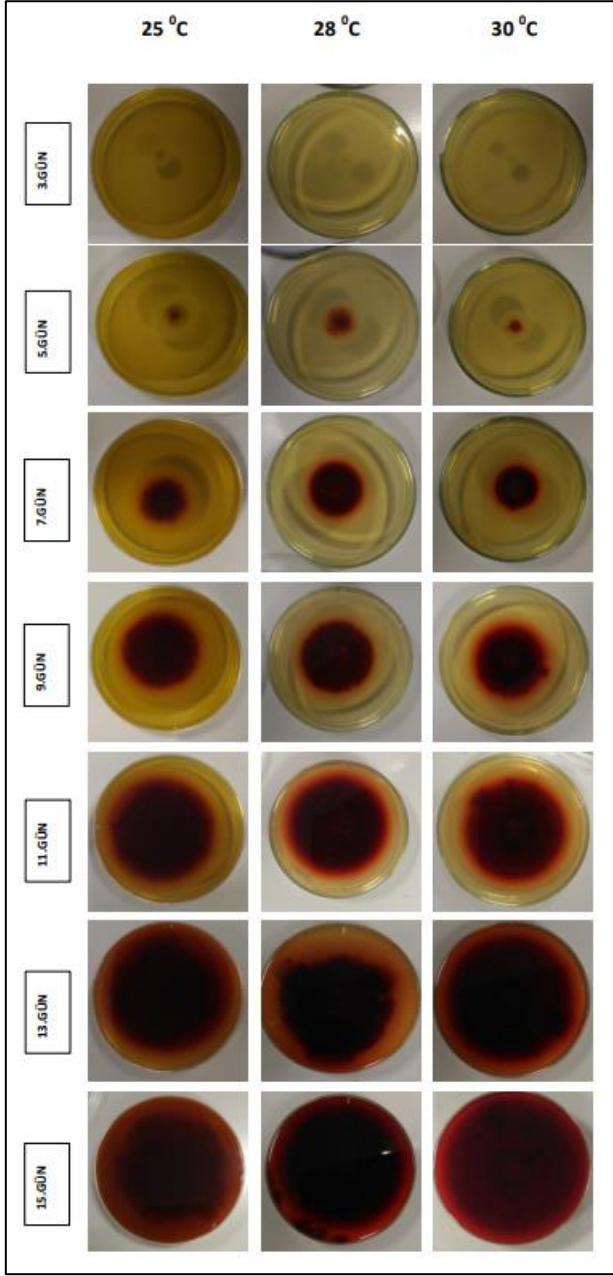
Tablo 3.2: Color grap (color detection) değerleri.

Örnek	L*	a*	b*
P-1	56.30	47.10	19.70
P-2	44.0	46.60	2.30
P-3	61.30	30.20	-2.30
P-4	53.30	42.80	-3.70
P-5	71.80	9.70	0.10
P-6	70.50	11.90	-0.2

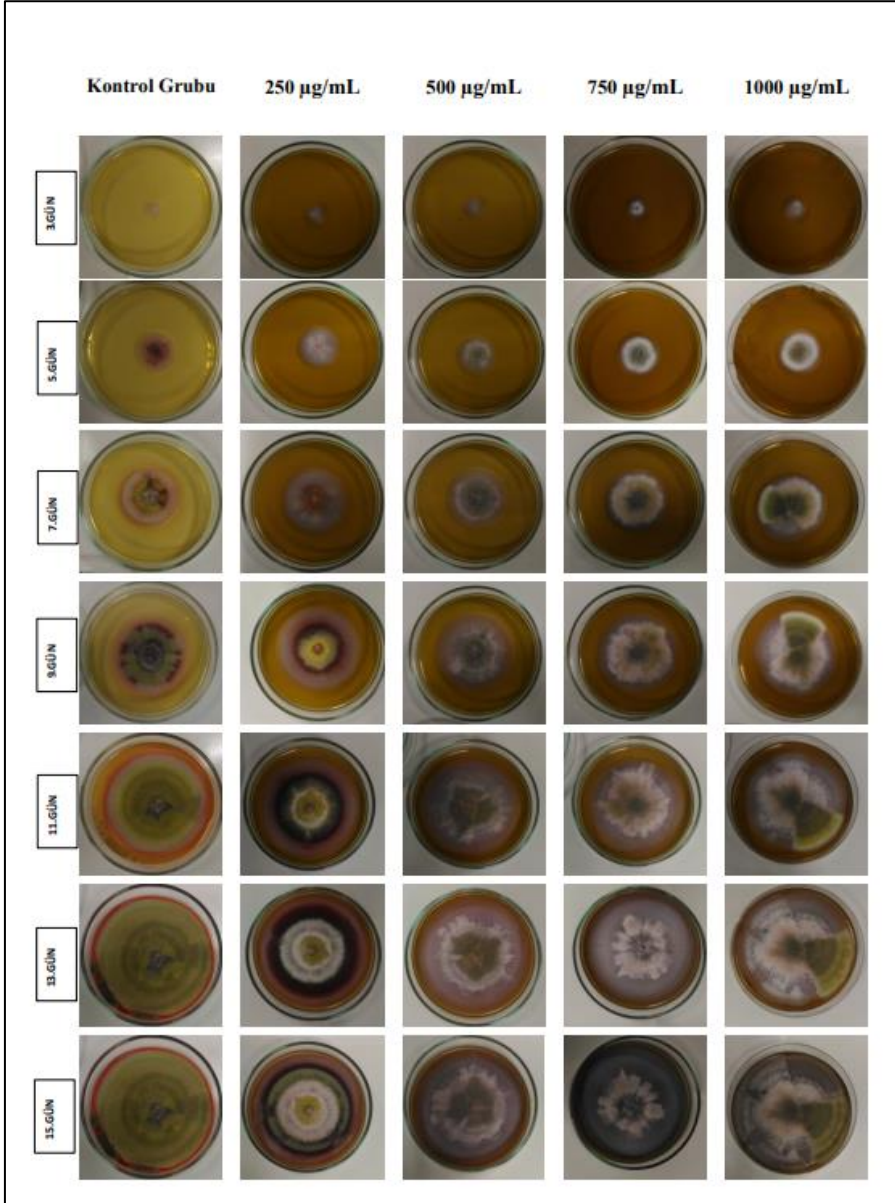
***P-1:** *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/MEA); **P-2:** *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/PDA); **P-3:** *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/SDA); **P-4:** *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 5.5/YEA); **P-5:** *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 4.0/MEA); **P-6:** *P. purpurogenum* (28 °C/Ph 7.0/MEA).



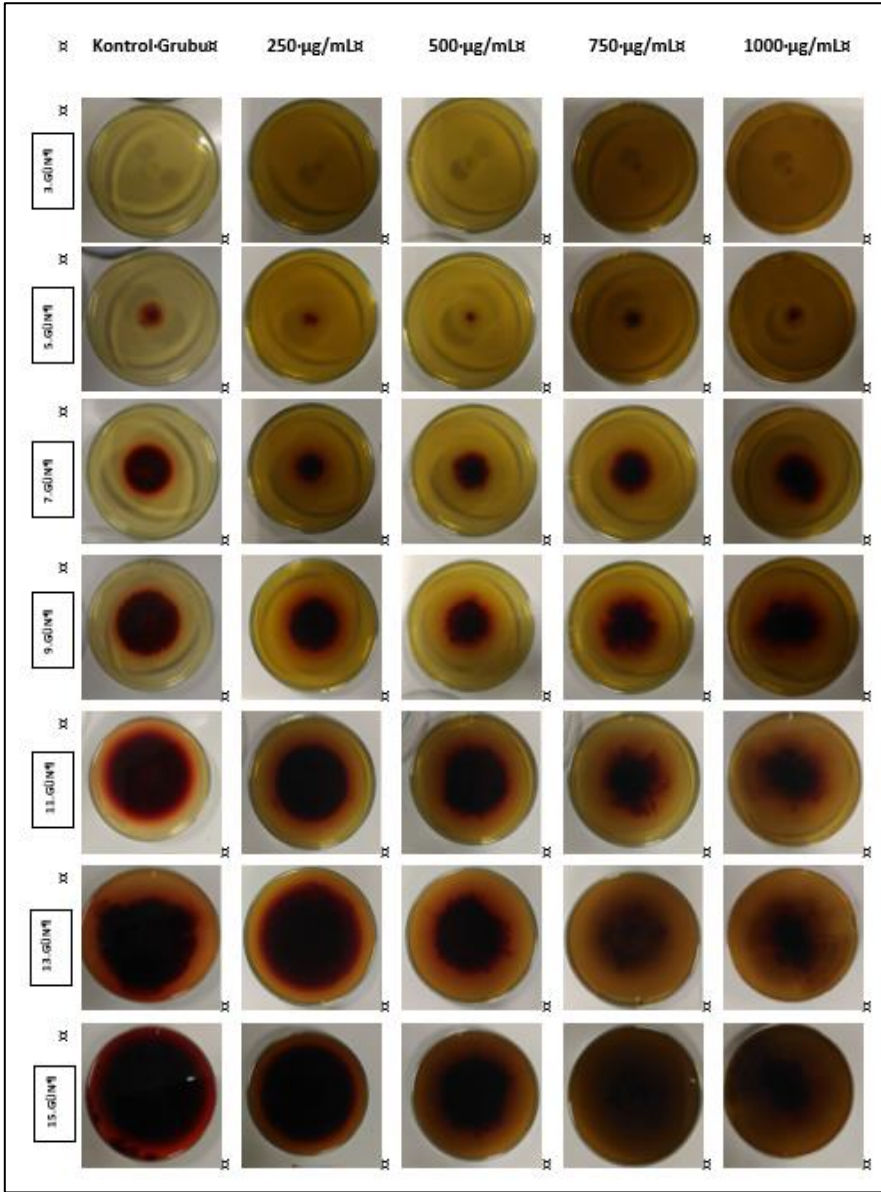
Şekil 3.5: *P. purpurogenum* ' da farklı sıcaklık değerlerinin pigment üretimine etkisi (üstten görünüm).



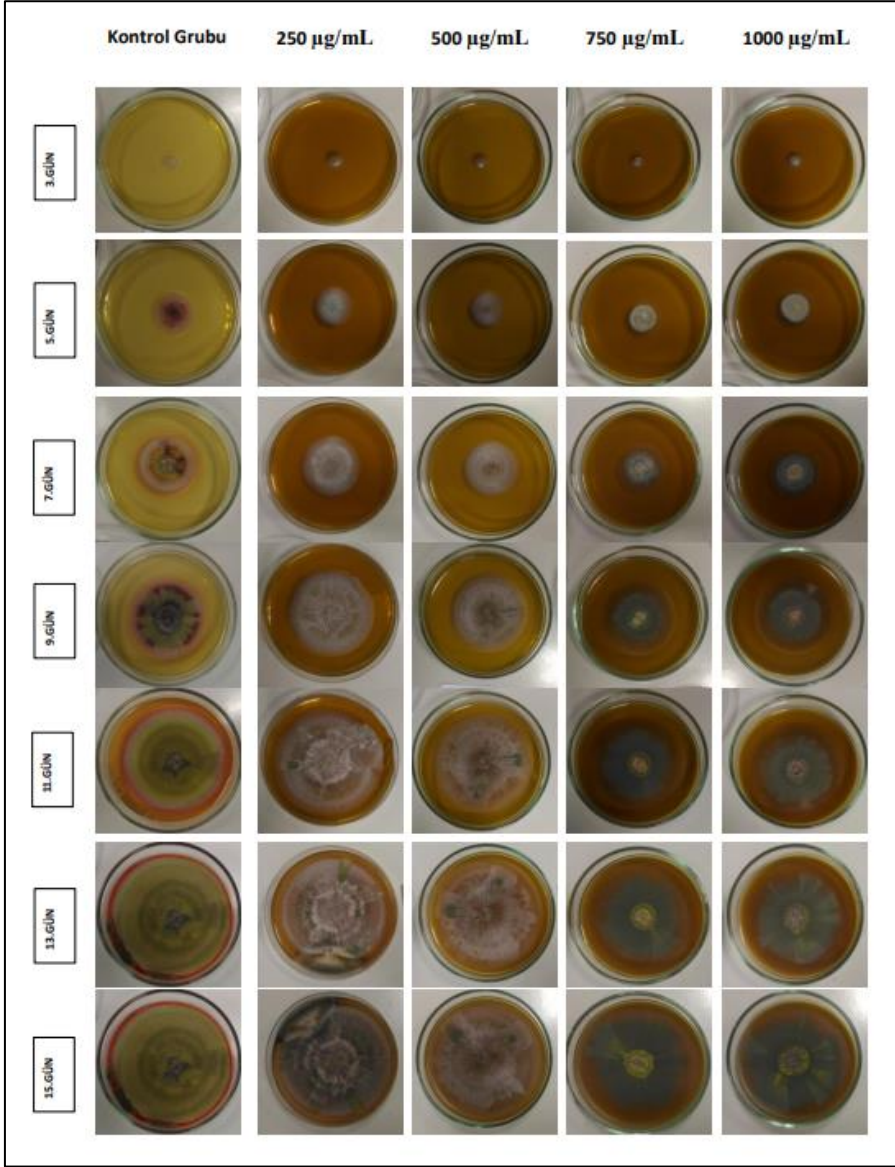
Şekil 3.6: *P. purpurogenum* 'da farklı sıcaklık değerlerinin pigment üretimine etkisi (alttan görünüm).



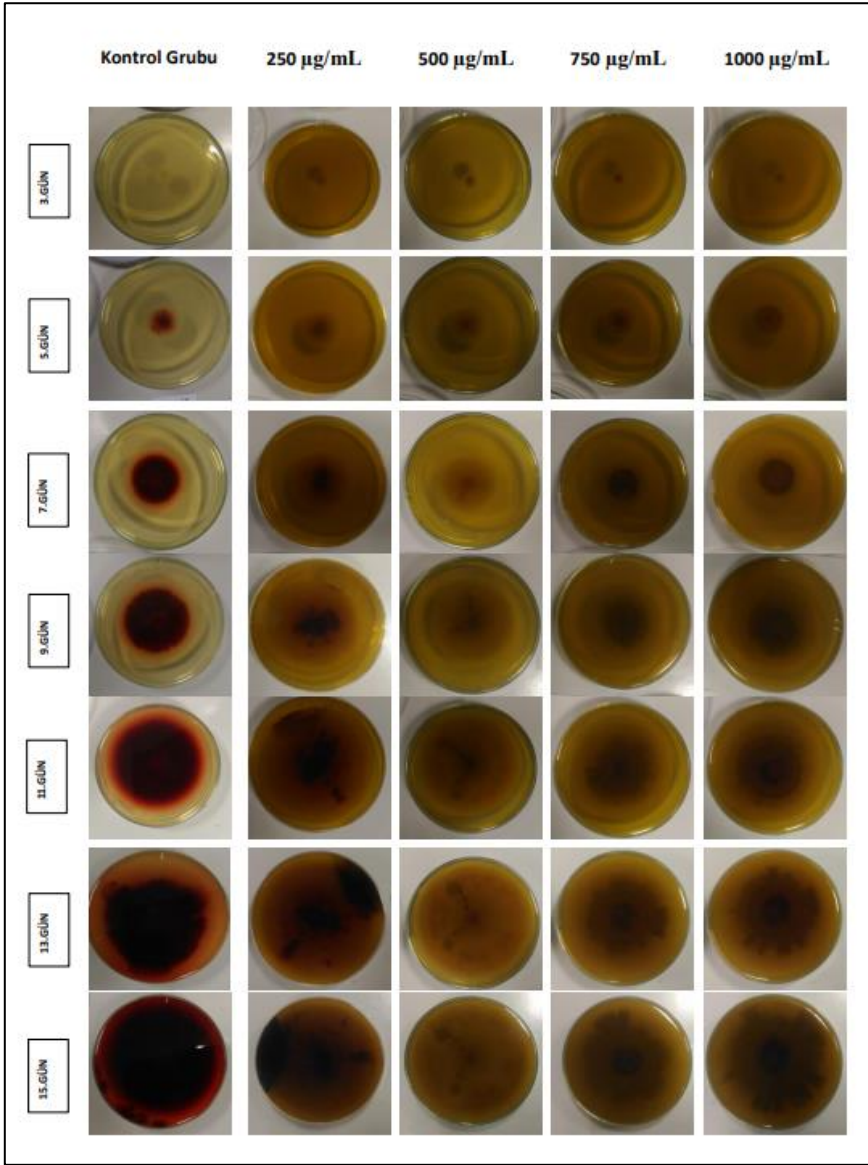
Şekil 3.7: *P. purpurogenum*' da demir elementinin farklı konsantrasyonlarının pigment üretimine etkisi (üstten görünüm).



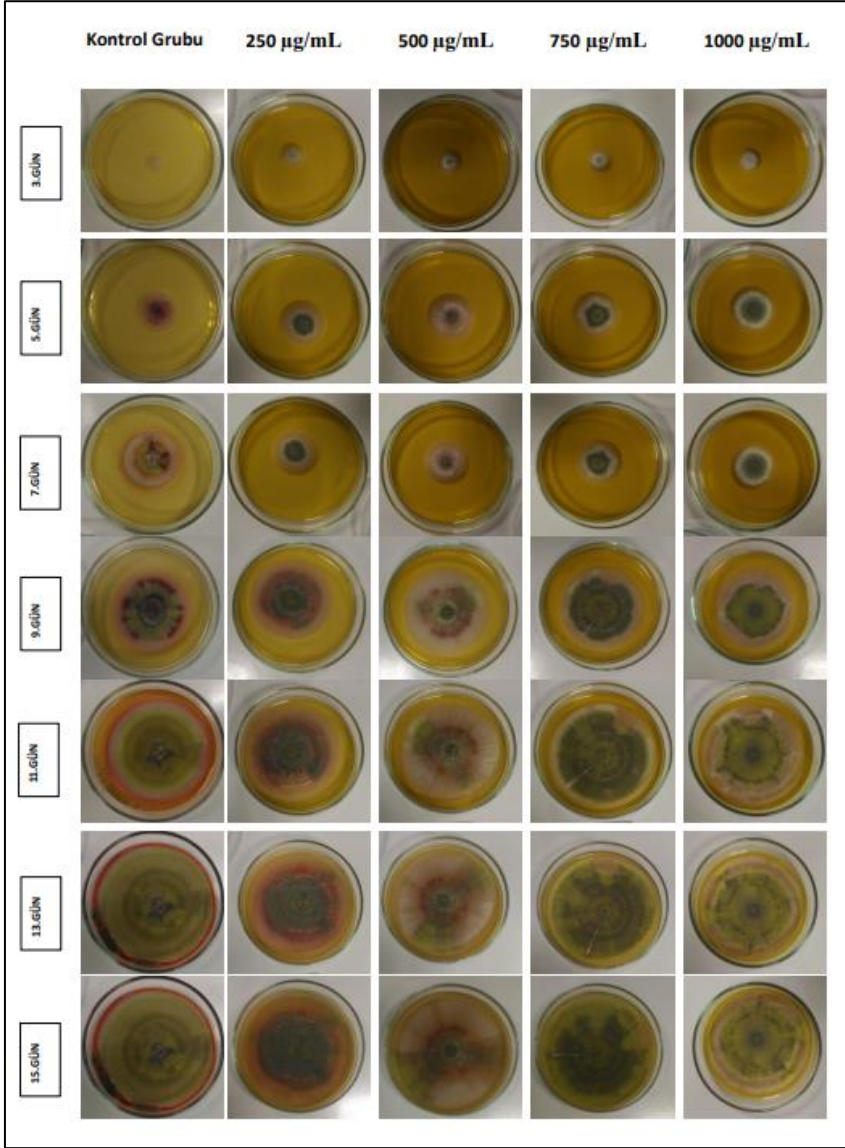
Şekil 3.8: *P. purpurogenum*' da demir elementinin farklı konsantrasyonlarının pigment üretimine etkisi (alttan görünüm).



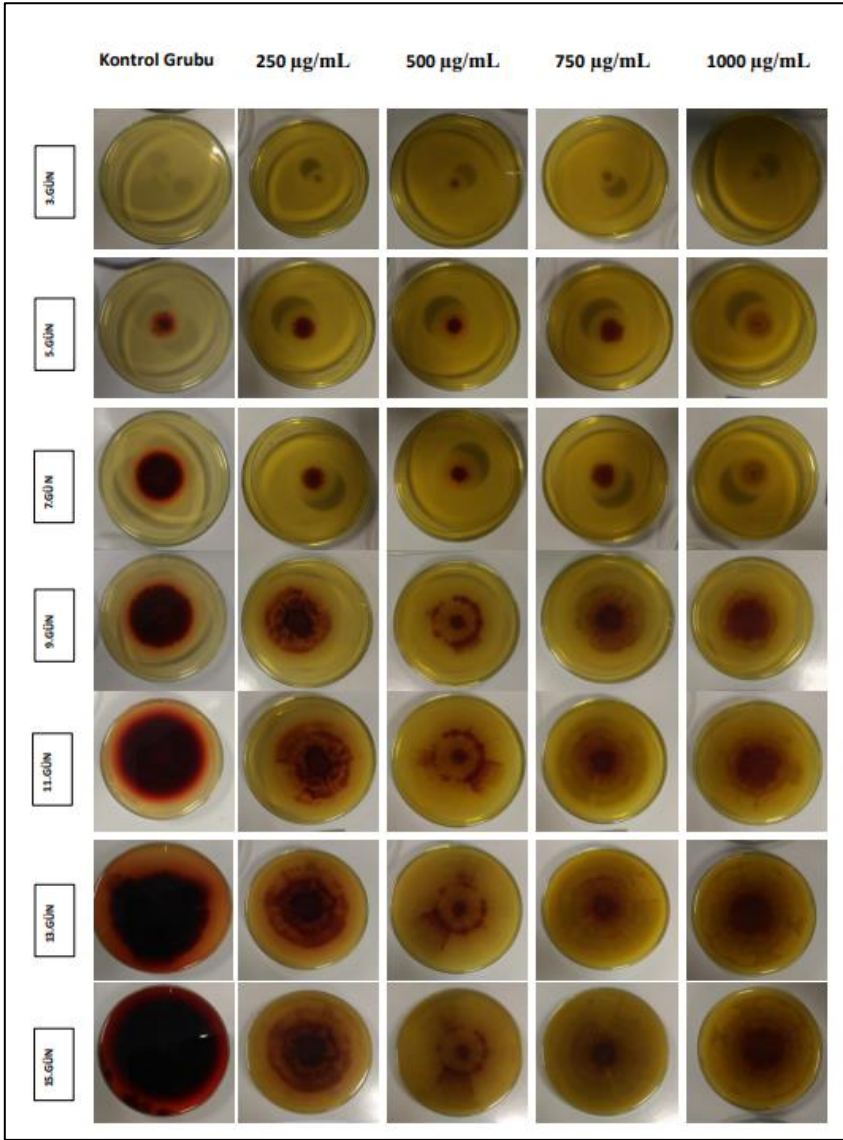
Şekil 3.9: *P. purpurogenum*' da bakır elementinin farklı konsantrasyonlarının pigment üretimine etkisi (üstten görünüm).



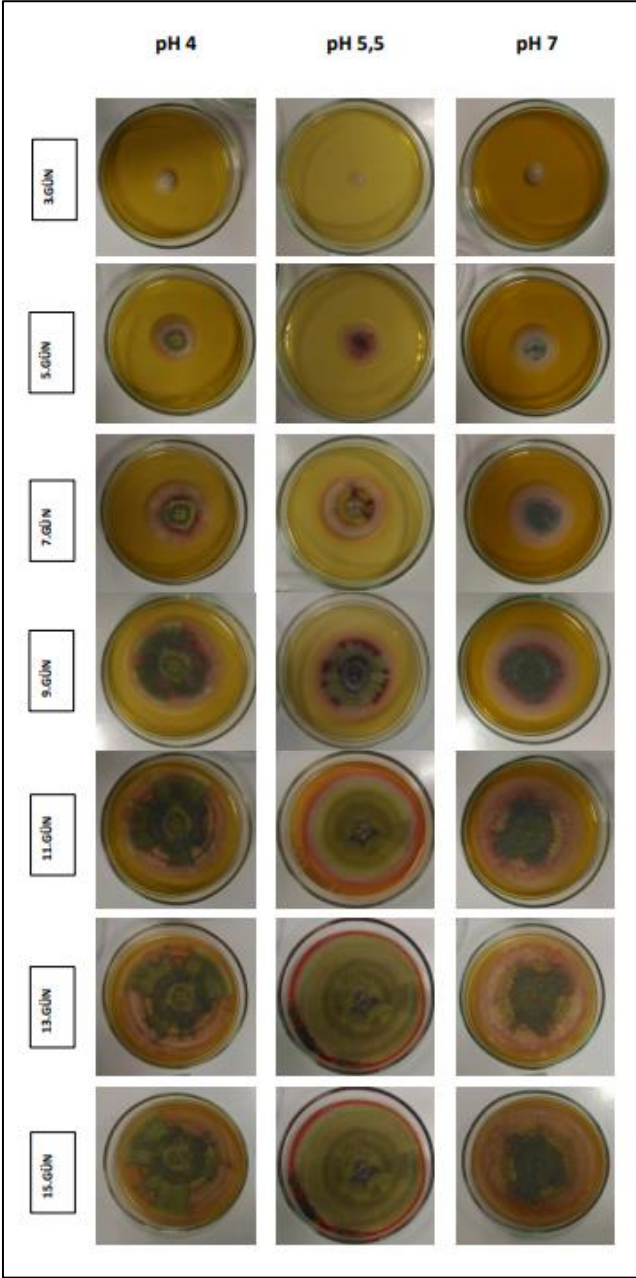
Şekil 3.10: *P. purpurogenum*' da bakır elementinin farklı konsantrasyonlarının pigment üretimine etkisi (alttan görünüm).



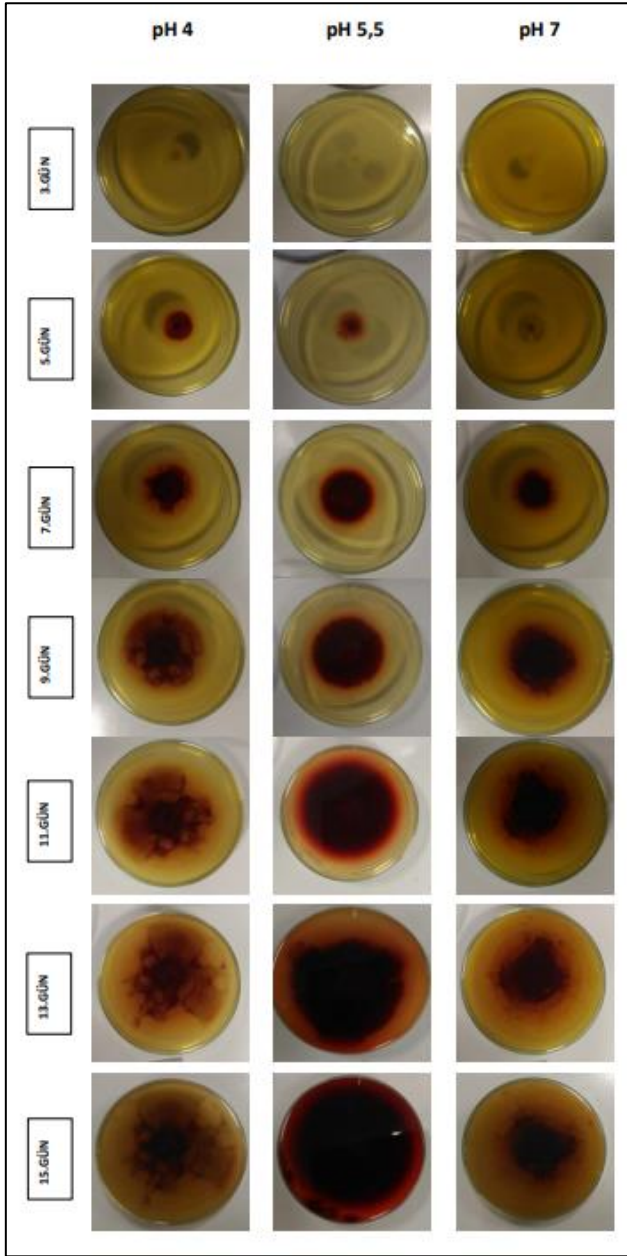
Şekil 3.11: *P. purpurogenum*' da alüminyum elementinin farklı konsantrasyonlarının pigment üretimine etkisi (üstten görünüm).



Şekil 3.12: *P. purpurogenum*' da alüminyum elementinin farklı konsantrasyonlarının pigment üretimine etkisi (alttan görünüm).



Şekil 3.13: *P. purpurogenum*' da farklı pH değerlerinin pigment üretimine etkisi (üstten görünüm).



Şekil 3.14: *P. purpurogenum*' da farklı pH değerlerinin pigment üretimine etkisi (alttan görünüm).

4. TARTIŞMA

Mikrobiyal kaynaklardan pigment üretimi düşük üretim süresine ve büyük ölçekli üretim verimine sahiptir. Buna ek olarak, yapısındaki antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin varlığı ile biyoyoumluluk, daha az toksisite, ekonomiklik ve çevre dostu olma özelliklerinden dolayı oldukça faydalıdır. Funguslar, antibiyotikler ve pigmentler gibi ikincil metabolitlerin üretiminde doğal kaynaklardır (Babitha ve ark. 2007; Qui ve ark. 2010; Torres ve ark. 2016). Bu çalışmada topraktan izole edilen kırmızı renkli pigment üreticisi olan *P. purpurogenum* kullanıldı. Pigment verimini arttırmak için en uygun kültür koşulları (kültür ortamı, sıcaklık, pH, mineraller ve yetiştirme süresi) belirlendi. Sonuçlarımız, *Blakeslea*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Isaria*, *Monascus*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium* ve *Talaromyces* gibi fungus cinslerinin saf kültürlerinin hem katı hem de sıvı ortamda kırmızı pigment ürettiğini gösteren önceki çalışmaların sonuçlarına benzerlik göstermektedir. (Arumugam ve ark., 2014; Chadni ve ark., 2017; Lebeau ve ark., 2017).

Bu çalışmada *P. purpurogenum*'a ait farklı besiyerlerinde pigment oluşumu ait sonuçlar incelendiğinde; en fazla pigment üretimine MEA besiyerinde ulaşılmıştır. Malt agar/broth ve Nutrient agar/broth besi ortamında maya ekstraktı, malt ekstraktı ve pepton önemli nitrojen kaynakları iken, SDA'da sadece pepton nitrojen kaynağı olarak görev yapar (Stanly Pradeep ve ark., 2013). Bu sonuçlar, *P. purpurogenum*'un pigment üretiminde maya ve malt ekstraktının daha etkili olduğunu göstermiştir.

Sıcaklık, mantarların metabolik aktivitesini, büyümelerini ve pigment verimi etkileyen bir diğer önemli faktördür. *P. purpurogenum* pigment üretimi için en uygun sıcaklığın belirlenmesi için çeşitli sıcaklıklarda (25, 28 ve 30°C) yetiştirildi. 28°C test edilen tüm sıcaklıklar arasında MEA besi ortamında maksimum pigment üretimini sağladı. Çok sayıda çalışmada filamentli mantarların çoğunun büyüme ve pigment üretimi için optimum asidik pH'a (5,0-6,0) ihtiyaç duyduğu bildirilmiştir (Cho ve ark.,2002). Farklı pH'larda yapılan optimizasyon çalışmalarında pH değişiminin pigment üretimini değiştirdiği görülmüştür. Ayrıca Tudor ve ark. (2013), yaptığı çalışmada pH değerlerinin sadece mantar gelişimini ve pigment üretimini değil, aynı zamanda pigment üretiminin yoğunluğunu da etkilediğini bildirmiştir. Sastrawidana ve ark. (2016), *P. purpurogenum*'dan üretilen kırmızı pigmentin 30–80 °C'de ve 4,0–8,0 aralığındaki pH değerlerinde stabil olduğunu bulmuşlardır Çalışmamızda fungusun kırmızı pigmentinin renk stabilitesinin, optimum sıcaklık (28°C) ve pH'da (pH 5,5) stabil olduğunu belirlendi.

Biyoelementler çeşitli mikroorganizmalarda pigment üretimini etkileyen önemli faktörlerden biridir. K^+ , Mg^{2+} ve Zn^{2+} gibi elementler biyokütle ve pigment üretimi artışında önemli rol oynamaktadır (Fogarty ve Tobin, 1996). *P. purpurogenum*'un pigment üretiminde uygun metal tuzlarını belirlemek amacıyla çeşitli metal tuzları MEA besiyerine farklı konsantrasyonlarda ilave edildi. Demir elementinin farklı konsantrasyonlarının (1000, 750, 500, 250 $\mu\text{g/mL}$) koloni büyümesi üzerinde etkisinin olmadığı fakat pigment verimini azalttığı gözlenmiştir. Bakır elementinde ise fungusun koloni büyümesinin ve pigment veriminin olumsuz etkilendiği belirlenmiştir.

Alüminyum elementi eklenen besiyerlerinde ise, fungusun koloni büyümesi ve pigment üretiminin çok fazla etkilenmediği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda demir, bakır ve kobalt iyonlarının pigment üretimi üzerindeki olumsuz etkisi, metabolitin hücredeki enerji üretimine dolaylı katkısıyla açıklanmaktadır (An ve ark., 2001).

Bu sonuçlar, koloni büyümesi ve pigment üretim verimlerinin yetiştirme koşullarından (yetiştirme ortamı, sıcaklık, pH, karbon ve nitrojen kaynakları, mineral, havalandırma ve fermantasyon türü) büyük ölçüde etkilendiğini bildiren çalışmaların bulgularıyla desteklenmiştir (Kumar ve ark., 2015; Chadni ve ark., 2017; Pandey ve ark., 2018). Bu sonuçlara ve çalışmamıza paralel olarak Stanly Pradeep ve ark. (2013), *Fusarium* türlerini kullanarak yaptıkları çalışmalarında pigment üretiminin Sıcaklık, pH, farklı mineral kaynakları gibi çeşitli çevresel koşullara ve inkübe edilen süreye bağlı olarak değiştiğini belirtmişlerdir. Ayrıca yine aynı çalışmada besiyerine ilave edilen farklı karbon ve nitrojen kaynaklarının, mineral tuzlarının, amino asit katkılarının koloni gelişimi ve pigment verimini değiştirdiğini gözlenmiştir.

Mantarlar çok sayıda sekonder metabolit üretme yeteneğine sahiptir ve bu durum besin konsantrasyonlarından ışığa kadar değişen çevresel faktörlere bağlıdır. Bu çalışmada farklı mineral tuzları takviyesi, pH, sıcaklık, kültür ortamı ve inkübasyon süresinin pigment biyosentezi üzerindeki etkisi gözlemlendi. *P. purpurogenum*' da ilave edilen demir, bakır ve alüminyum elementlerinin pigment biyosentezini olumsuz etkilediği belirlendi. Kültür ortamı, sıcaklık, pH ve inkübasyon süresi değişikliklerinin pigment üretimini zayıflattığı belirlenirken, maksimum pigment üretimi için gereken koşulların 28°C sıcaklık, pH 5.5, MEA kültür ortamı ve 15.gün olması gerektiği belirlenmiştir.

5. SONUÇ

Fungal pigmentlerin sentetik pigmentlere göre sahip olduğu birçok avantaj, son yıllarda dünya çapında fungal pigmentlere olan talebi arttırmıştır. Bu artan kamu bilinci, eko-güvenlik ve sağlık kaygılarının yanı sıra çevresel ve ekolojik kural ve düzenlemelerin uygulanması, araştırmacıları temiz, çevre dostu biyo-kaynaklardan elde edilen pigmentler üzerinde hem niteliksel hem de niceliksel araştırmalar yapmaya zorlamıştır. Fungusların ekolojik olumsuz etkileri minimum düzeydedir. Bu nedenle, mevcut çevre dostu pigment talebini karşılamak için çeşitli taksonomik fungus gruplarından yeni, güvenli pigmentlerin araştırılmasına ihtiyaç vardır. Çeşitli fungus türleri pigment üreticileri olarak bilinmesine rağmen, çok sayıda fungusun pigment üretme yeteneği sistematik olarak araştırılmamıştır. Bu nedenle, nadir, yeni, güvenli pigmentler için uygun araç ve teknikleri kullanarak fungal pigment çeşitliliğini keşfetmeye büyük bir ihtiyaç vardır.

6. TEŞEKKÜR

Çalışmamız Balıkesir Üniversitesi BAUN/BAP 2015/227 nolu proje ile desteklenmiştir. Ayrıca “Toprak Örneklerinden Pigment Üretici Fungusların İzolasyonu ve Pigment Oluşumuna Etki Eden Faktörlerin Optimizasyonu” başlıklı tezden üretilmiştir (Sinan Güner, 2018, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir).

KAYNAKÇA

- Agurto, M.E.P., Gutierrez, S.M.V., Chen, H.-L., Robinson, S.C. (2017). Wood-rotting fungal pigments as colorant coatings on oil-based textile dyes. *Coatings*, 7,152.
- Akilandeswari, P., Pradeep, B.V. (2016). Exploration of industrially important pigments from soil fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100,1631–1643.
- An, G.H., Jang, B.G., Suh, O.S., Kim, C.J., Song, K.B (2001). Iron (III) decreases astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*). *Food Sci Biotechnol.*, 2001; 10: 204–207.
- Arumugam, G.K., Srinivasan. S.K., Joshi, G., Gopal, D., Ramalingam, K. (2014). Production and characterization of bioactive metabolites from piezotolerant deep sea fungus *Nigrospora* sp. in submerged fermentation. *J Appl Microbiol.*, 118, 99–111.
- Avalos J., Pardo-Medina J., Parra-Rivero, O., Ruger-Herreros, M., Rodriguez-Ortiz, R., Hornero-Mendez, D., Limon, M.C. (2017). Carotenoid biosynthesis in *Fusarium*. *J. Fungi*, 3, 39.

- Babitha, S. (2009). Microbial pigments. In: Nigam P.S., Pandey A., editors. *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization*. Springer; Dordrecht, The Netherlands: pp. 147–162.
- Babitha, S., Soccol, C.R., Pandey, A. (2007). Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigment from jack fruit seed. *Bioresour Technol.*, 98, 1554–1560.
- Bouhri, Y., Aşkun, T., Tunca, B., Deniz, G., Aksoy, S.A., Mutlu, M. (2020). The orange-red pigment from *Penicillium mallochii*: Pigment production, optimization, and pigment efficacy against Glioblastoma cell lines. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.*, 23.
- Cardon, D. (2007). *Natural dyes-sources, tradition, technology and science*. Archetype Publications Ltd., London.
- Chadni, Z., Rahaman, M.H., Jerin, I., Hoque, K.M.F., Reza, M.A. (2017). Extraction and optimization of red pigment production as secondary metabolites from *Talaromyces verruculosus* and potential use in textile industries. *Mycology.*, 8, 48–57.
- Chattopadhyay, P., Chatterjee, S., Sen, S.K. (2008). Biotechnological potential of natural food grade biocolorants. *Afr. J. Biotechnol.*, 7, 2972–2985.
- Cho, Y.J., Park, J.P., Hwang, H.J., Kim, S.W., Choi, J.W., Yun, J.W. (2002). Production of red pigment by submerged culture of *Paecilomyces sinclairii*. *Lett. Appl Microbiol.*, 35(3), 195–202.
- Colombini, M.P., Andreotti, A., Baraldi, C., Degano, I. ve Łucejko, J.J. (2007). Colour fading in textiles: A model study on the decomposition of natural dyes. *Microchemical Journal.*, 85, 174-182.
- Çengel, M. (2004). *Toprak Mikrobiyolojisi*. Ege Ün Zir Fak Yay., 166s., İzmir.
- Darwesh, O.M., Eida, M.F., Matter, I.A. (2018). Isolation, screening and optimization of L-asparaginase producing bacterial strains inhabiting agricultural soils. *Biosci. Res.*, 15, 2802–2812.
- Dawson, T.L. (2009). Biosynthesis and synthesis of natural colours. *Coloration Technology.*, 125,61–73.
- Delazio, A., Israr, A., Klatzky, R. (2017). Cross-modal correspondence between vibrations and colors. 219–224.
- Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R., Paredes-Lopez, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, 40,173–289.

- Downham, A., Collins, P. (2000). Coloring our foods in the last and next millennium. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 35, 5–22.
- Dölen, E. (1992). Tekstil tarihi: Dünyada ve Türkiye’ de tekstil teknolojisinin ve sanayiinin tarihsel gelişimi. Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Yayınları No:92/1, Matbaa Eğitimi Bölümü Yayın No:6, İstanbul.
- Fabre, C.E., Santerre, A.L., Loret, M.O., Baberian, R., Pareilleux, A., Goma, G., Blanc, P.J. (1993). Production and food applications of the red pigments of *Monascus ruber*. *J. Food Sci.*, 58, 1099–1102.
- Flament, F., Hourblin, V., Nouveau, S. (2014). Skin ColorTypes and Indian Skin Characteristics. 47–61.
- Fogarty, R.V., Tobin, J.M. (1996). Fungal melanins and their interactions with metals. *Enz Microb Technol.*, 19: 311–317.
- Fujita, S. (2013). Simple modified method for fungal slide preparation. *Med Mycol J.*, 54(2),141-146.
- Hasenekoğlu, İ. (1989). Toprak Mikrofunguslarının İzolasyon ve Kültür Metodları. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, 94, Erzurum.
- Joshi, V.K., Attri, D., Bala, A., Bhushan, S. (2003). Microbial pigments. *Indian J. Biotechnol.*, 2, 362–369.
- Karadağ, R. (2007). Doğal Boyamacılık, Geleneksel El Sanatları ve Mağazalar İşletme Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- Kumar, A., Vishwakarma, H.S., Singh, J., Dwivedi, S., Kumar, M. (2015). Microbial pigments: Production and their applications in various industries. *Int. J. Phram. Chem. Biol. Sci.*, 5, 203–212.
- Larone D.H. (1995). Medically Important Fungi, A Guide To ,İdentification (3rd Ed).Amer Soc Microbiol, Washington.
- Lebeau, J., Venkatachlam, M., Fouillaud, M., Petit, T., Vinale, F., Dufossé, C.Y. (2017). Production and new extraction method of polyketide red pigments produced by ascomycetous fungi from terrestrial and marine habitats. *J Fungi.*, 3,34.
- Manikprabhu, D., Lingappa, K. (2013). Actinorhodin a natural and attorney source for the synthetic dye to detect acid production of fungi. *Saudi J. Biol. Sci.*, 20,163–168.
- Mapari, S.A.S., Meyer, A.S., Thrane, U., Frisvad, J.C. (2009). Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale. *Microb. Cell Fact.*, 8, 24.

- Mapari, S.A.S., Thrane, A.U., Meyer, A.S. (2010). Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants. *Trends Biotechnol.*, 28, 300–307.
- Numan, M., Bashir S., Mumtaz R., Tayyab S., Rehman N.U., Khan A.L., Shinwari Z.K., Al-Harrasi A. (2018). Therapeutic applications of bacterial pigments: A review of current status and future opportunities. *Biotech.*, 8, 207.
- Ogihara, J., Kato, J., Oishi, K., Fujimoto, Y. (2001). PP-R, 7-(2-Hydroxyethyl)-Monascorubramine, a red pigment produced in the mycelia of *Penicillium* sp. *AZ. J. Biosci. Bioeng.*, 91, 44–47.
- Osman, M.Y., Sharaf, I.A., Osman, H.M.Y., El-Khouly, Z.A., Ahmed, E.I. (2014). Synthetic organic food coloring agents and their degraded products: Effects on human and rat cholinesterases. *Br. J. Biomed. Sci.*, 61, 128–132.
- Pandey, N., Jain, R., Pandey, A., Tamta, S. (2018). Optimisation and characterisation of the orange pigment produced by a cold adapted strain of *Penicillium* sp. (GBPI_P155) isolated from mountain ecosystem. *Mycology* 9, 81–92.
- Pombeiro-Sponchiado, S.R., Sousa, G.S., Andrade, J.C., Lisboa, H.F., Gonçalves, R.C. (2017). Production of melanin pigment by fungi and its biotechnological applications. In: Blumenberg M., editor. *Melanin*. InTechOpen; London, UK. 45–75.
- Pradeep, F.S., Palaniswamy, M., Ravib, S., Thangamanib, A., Pradeep, B.V. (2015). Larvicidal activity of a novel isoquinoline type pigment from *Fusarium moniliforme* KUMBF1201 against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Process Biochem.*, 50, 1479–1486.
- Qui, M., Xie, R., Shi, Y., Chen, H., Wen, Y., Gao, Y., Hu. X. (2010). Isolation and identification of endophytic fungus SX01, a red pigment producer from *Ginkgo biloba* L. *World J Microbiol Biotechnol.*, 26:993–998.
- Ramesh, C., Vinithkumar N.V., Kirubakaran R., Venil C.K., Dufossé L. (2019). Multifaceted applications of microbial pigments: Current knowledge, challenges and future directions for public health implications. *Microorganisms.*, 7,186.
- Rao, M.P.N., Xiao, M., Li, W.J. (2017). Fungal and bacterial pigments: Secondary metabolites with wide application. *Front. Microbiol.*, 8, 1113.
- Ratna, P.B.S. (2012). Pollution due to synthetic dyes toxicity and carcinogenicity studies and remediation. *Int. J. Environ. Sci.*, 3, 940–955.
- Samanta, A.K., Agarwal, P. (2009). Application of natural dyes on textiles. *Indian J. Fibre Text. Res.*, 34, 384–399.
- Sarkar S.L., Saha P., Sultana N., Akter S. (2017). Exploring textile dye from microorganisms, an eco-friendly alternative. *Microbiol. Res. J. Int.*, 18, 1–9.

- Sastrawidana, I.D.K., Maryam, S.Y., Sukarta, I.N. (2016). Natural dyeing of silk and cotton fabric with red pigment from *Penicillium purpurogenus* which is isolated from goat milk contaminated soil. *J Nat Sci Res.*, 6:32–37.
- Stanly Pradeep, F., Shakila Begam, M., Palaniswamy, M., Pradeep, B.V. (2013). Influence of culture media on growth and pigment production by *Fusarium moniliforme* KUMBF1201 isolated from paddy field soil. *World App Sci J.*, 22(10),70–77.
- Teixeira, M.F.S., Martins, M.S., Da Silva, J.C., Kirsch, L.S., Fernandes, O.C.C., Carneiro, A.L.B., De Conti, R., Durrn, N. (2012). Amazonian biodiversity: Pigments from *Aspergillus* and *Penicillium*-characterizations, antibacterial activities and their toxicities. *Curr. Trends Biotechnol. Pharm.*, 6, 300–311.
- Torres, F.A.E., Zaccarim, B.R., Novaes, L.C.L., Jozala, A.F., Santos, C.A., Teixeira, M.F.S., Santos-Ebinuma, V.C. (2016). Natural colorants from filamentous fungi. *Appl Microbial Biotechnol.*, 100, 2511–2521.
- Tudor, D., Robinson, S.C., Cooper, P.A. (2013). The influence of pH on pigment formation by lignicolous fungi. *Int Biodeterior Biodegradation.*, 80:22–28.
- Velmurugan, P., Lee, Y.H., Venil, C.K., Lakshmanaperumalsamy, P., Chae, J.C., Oh, B.T. (2010). Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by five pigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. *J. Biosci. Bioeng.*, 109, 346–350.
- Waksman, S.A. (1922). A Method Counting The Numbers Of Fungi In The Soil. *J.Bact.*7: 339-341.

BÖLÜM 10

GEÇİŞ ŞARTLARI İÇEREN ÇOK-ARALIKLI STURM-LİOUVILLE PROBLEMLERİNİN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ

Prof. Dr. Kadriye AYDEMİR¹

Prof. Dr. Oktay Sh. MUKHTAROV²

Dr. Öğretim Üyesi Merve YÜCEL³

¹Amasya University, Faculty of Arts and Science, Department of Mathematics, Amasya, Turkey. ORCID: 0000-0002-8378-3949

²Gaziosmanpaşa University, Faculty of Arts and Science, Department of Mathematics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Institute of Mathematics and Mechanics, Baku, Azerbaijan, ORCID: 0000-0001-7480-6857

³Çorum Hitit University, Faculty of Arts and Science, Department of Mathematics, Çorum, Turkey. ORCID: 0000-0001-7990-2821

Özet: Bu çalışmada, ortak sınır noktaları olan sonlu sayıda ayrık aralıkta tanımlı diferansiyel denklemler (böyle diferansiyel denklemler çok-aralıklı diferansiyel denklemler olarak adlandırılacaktır) periyodik sınır koşulları ve iç tekil noktada belirtilen ek geçiş şartları ile birlikte incelenmiştir. Bu çalışmanın temel amacı, çok aralıklı Sturm-Liouville denklemlerini içeren sınır değer problemlerinin yeni bir sınıfının özdeğerlerinin ve özfonksiyonlarının belirli özelliklerini araştırmaktır. Belirginlik için üç ayrık aralıkta tanımlı olan

$$A\mathcal{v} := -\mathcal{v}''(x) + q(x)\mathcal{v} = \lambda \mathcal{v}, x \in [a, \xi_1) \cup (\xi_1, \xi_2) \cup (\xi_2, b] \quad (1)$$

üç-aralıklı Sturm-Liouville diferansiyel denklemden,

$$S_1\mathcal{v} := \mathcal{v}(a) - \mathcal{v}(b) = 0 \quad (2)$$

$$S_2\mathcal{v} := \mathcal{v}'(a) - \mathcal{v}'(b) = 0 \quad (3)$$

periyodik sınır şartlarından ve de ortak ξ_1, ξ_2 uç noktalarda verilen

$$S_3\mathcal{v} := \alpha(\xi_1 - 0) + \beta\mathcal{v}(\xi_1 + 0) = 0 \quad (4)$$

$$S_4\mathcal{v} := \delta\mathcal{v}'(\xi_1 - 0) + \gamma\mathcal{v}'(\xi_1 + 0) = 0 \quad (5)$$

$$S_5\mathcal{v} := \alpha\mathcal{v}(\xi_2 - 0) + \beta\mathcal{v}(\xi_2 + 0) = 0 \quad (6)$$

$$S_6\mathcal{v} := \delta\mathcal{v}'(\xi_2 - 0) + \gamma\mathcal{v}'(\xi_2 + 0) = 0 \quad (7)$$

geçiş şartlarından oluşan yeni tip periyodik Sturm-Liouville problemi araştırılmıştır. Burada $q(x)$ $[a, \xi_1)$, (ξ_1, ξ_2) ve $(\xi_2, b]$ aralıklarının her birinde sürekli olan reel değerli fonksiyondur, ve sonlu tek taraflı $q(\xi_i \pm 0) = \lim_{x \rightarrow \xi_i \pm} q(x)$ limiti vardır, $\alpha, \beta, \delta, \gamma$ sıfır olmayan reel sayılardır, λ kompleks özdeğer parametresidir, $\alpha = -\beta, \delta = -\gamma$ olduğu özel durumda, incelenen problem klasik periyodik Sturm-Liouville problemlerine indirgenir. Bu nedenle bu çalışmada elde edilen sonuçlar ilgili klasik sonuçları genişletir ve genelleştirir. Söz konusu problem karesi integrallenebilir fonksiyonların klasik Hilbert uzayında genel olarak kendine eşlenik değildir. Bu çalışmamızda bazı klasik yöntemleri daha da genelleştirerek özdeğerlerin ve özfonksiyonların bazı önemli özellikleri araştırılmıştır.

Giriş: Sturm-Liouville teorisi, çeşitli fiziksel olayların modellenmesinde uzun zamandır önemli bir rol oynamıştır ve günümüzde yeni yeni fiziksel problemlerin çözümü için etkin bir biçimde uygulanmaktadır. Sturm-Liouville teorisinin Fourier serileri, sınır değer problemleri, integral dönüşümleri, özel fonksiyonlar, diferansiyel-integral operatörlerinin spektral teorisi gibi matematiğin yepyeni dallarının temelini oluşturduğu iyi bilinmektedir. Sturm-Liouville sınır değer problemlerinin teorisinde ve uygulamalarında, tanım kümesinin sınırındaki

belirli koşulları sağlayan bir Sturm-Liouville denkleminin özfonksiyonlar olarak adlandırılan bir çözümünü bulmak gerekir. Özellikle sayılabilir sonsuz sayıda reel özdeğer ve özfonksiyonun varlığı için yeterli koşulların elde edilmesine yönelik sürekli bir ilgi vardır. İlk önemli sonuçlar 1836 yılında Sturm tarafından ortaya konmuştur. Bu sonuçlar, fizik, mühendislik ve diğer doğa bilimleri dallarında ortaya çıkan birçok probleme uygulanarak genişletilmiş ve genelleştirilmiştir. Periyodik spektral teoremin tarihi, Sturm ve Liouville'in, belirli sınır koşullarıyla birlikte verilmiş, ikinci mertebeden belirli diferansiyel denklemlerin özdeğerleri üzerindeki araştırmalarıyla başlar. Sturm ve Liouville, 19. yüzyılın ortalarında bu problemin özdeğerlerin asimptotikleri, farklı denklemlerin çözümlerine ilişkin farklı karşılaştırma kriterleri ve özfonksiyonların sıfırlarının davranışları gibi farklı yönlerini incelediler. Sturm-Liouville problemlerinin sayılabilir sonsuz sayıda reel özdeğerler dizisinin varlığı ve bu özdeğerlere karşılık gelen özfonksiyonların tamlığı ile ilgili özellikler hem teorik açıdan önemlidir hem de birçok fizik probleminin çözümü için uygulanan yöntemin temelidir. Periyodik Sturm-Liouville problemleri (PSLP) bir çok fizik ve mühendislik problemlerinin değişkenlerine ayırma yöntemi ile çözümünde ortaya çıkmaktadır. Özellikle de dairesel veya küresel bölgelerdeki fiziksel süreçlerin matematiksel modeli olarak ortaya konulan kısmi diferansiyel denklemler için sınır değer problemlerinin Fourier yöntemi ile çözümü PSLP biçiminde spektral problemin özdeğer ve özfonksiyonların incelenmesini gerektirmektedir. Örneğin, (r, ν) kutupsal koordinat sisteminde

$$\mathbb{G} = \{(r, \nu) \mid 0 \leq \nu < 1, \quad -\pi < \nu \leq \pi\}$$

daireysel bölgedeki kararlaşmış ısı probleminin

$$r^2 \frac{\partial^2 u}{\partial r^2} + r \frac{\partial u}{\partial r} + \frac{\partial^2 u}{\partial \nu^2} = 0, \quad (r, \nu) \in \mathbb{G}$$

biçimindeki Laplace denkleminde ve

$$u(1, \nu) = h(\nu), \quad -\pi < \nu \leq \pi$$

biçimindeki Dirichlet sınır şartlarından oluşan sınır-değer problemi biçiminde ifade edilebildiği bilinmektedir. Eğer Fourier yöntemini uygulayarak $u(r, \nu) = U(r)Q(\nu)$ biçiminde çözüm aranırsa, $Q = Q(\nu)$ fonksiyonu için

$$-Q''(\nu) = \lambda Q, \quad -\pi < \nu < \pi$$

$$Q(-\pi) = Q(\pi), \quad Q'(-\pi) = Q'(\pi)$$

biçiminde en basit periyodik SLP elde edilir. Bu örnek bile PSLP-lerinin çok önemli olduğunu esaslandırmak için yeterlidir. Ayrıca, periyodik Sturm-Liouville problemleri, "bir boyutlu kristaller, bir çubuktaki periyodik ısı akışı, Dünya'nın serbest salınımları vb. problemlerin matematiksel modeli olarak karşımıza çıkmaktadır (örneğin bkz [8], [16], [17]). Liu [19] çalışmasında

$$\begin{cases} s^n(t) = f(t, s(t), x(\alpha_1(t)) \dots, s(\alpha_m(t))), & t \in [0, T] \\ \Delta s^i(t_k) = I_{i,k}(s(t_k), \dots, s^{n-1}(t_k)), & k = 1, \dots, p \end{cases}$$

biçimindeki n. mertebeden impulsive fonksiyonel diferansiyel denkleminin ve

$$s^{(i)}(0) = s^{(i)}(T), \quad i = 0, \dots, n - 1$$

periyodik sınır koşulları ile birlikte tanımladığı periyodik sınır değer probleminin çözümleri için varlık problemlerini araştırmıştır ve esas sonuçların önemini göstermek için örnekler sunmuştur. Wang [21] çalışmasında sabit nokta teoremi kullanılarak zaman ölçeklerinde doğrusal olmayan birinci mertebeden impulsive dinamik denklemlerinden ve periyodik sınır şartlarından oluşan sınır-değer problemleri için bazı spektral sonuçlar elde etmiştir. Bu makalede esas sonuçlara ait iki örnek verilmiştir. Malathi, Mohamed ve Bachok [9] makalesinde birinci mertebeden adi diferansiyel denklemlerin sistemine indirgenme yapılmadan çekim tekniği kullanılarak doğrudan integrasyon (DI) yöntemiyle periyodik Sturm-Liouville (SL) problemlerinin özdeğerleri araştırılmıştır. Bu çalışmada Floquet teorisi, SL problemlerinin aşikar olmayan bir çözümünü bulmak için uygulanır ve çekim teknikleri kullanılarak özdeğerlere yaklaşılr. DI yöntemiyle elde edilen sonuçlar ile birinci mertebeden adi diferansiyel denklemlerin azaltılmasıyla karşılaştırılan hesaplama avantajları sunulmaktadır. Binding, ve Volkmer'in [2] çalışmasında Prüfer açısına dayanan yöntemin periyodik ve antiperiodik Sturm-Liouville problemlerine de uygulanabileceği esaslandırılmıştır. Burghlelea, Saldanha ve Tomei [3] lineer olmayan Periyodik Sturm-Liouville operatörünün dairesel geometrisi ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. [18] makalesinde Sturm-Liouville probleminin özdeğerlerinin t-periyodik sınır şartları ile iyileştirilmesi araştırılmış ve Extranite farkına dayanan Richardson ekstrapolasyonu kullanılarak, özdeğerlerin doğruluğu geliştirilmiştir. [15] çalışmasında geçiş şartları içeren periyodik sınır şartlarıyla verilen bir Sturm-Liouville probleminin özellikleri araştırılmıştır. [1], [10], [13], [14] çalışmalarında regular Sturm-Liouville denklemleri için geçiş şartlı problemler ele alınmıştır. Bu konularda yapılmış olan bazı önemli çalışmalara [4-7], [11-12], [20] kaynaklarını ve bu kaynaklarda atıf yapılmış çalışmaları gösterebiliriz.

Sturm-Liouville Problemleri

Sturm-Liouville problemleri, sınır değer problemleri içinde önemli bir yer kapsamaktadır.

$$a_1(x) \frac{d^2y}{dx^2} + a_2(x) \frac{dy}{dx} + (a_3(x) + \lambda) y = 0 \quad (8)$$

şeklinde verilen ikinci mertebeden lineer adi diferensiyel denklemi gözönüne alalım. Burada $a_1(x)$, $a_2(x)$, $a_3(x)$ fonksiyonları sürekli fonksiyonlardır. Bu denklem, $a_1(x)$, $a_2(x)$, $a_3(x)$ katsayı fonksiyonları üzerine bazı ek şartlar konularak

$$\frac{d}{dx}(p(x) \frac{dy}{dx}) + (q(x) + \lambda s(x)) y(x) = 0$$

Biçiminde kendine eşlenik denkleme dönüştürülebilir. Bunun için $a_1(x) \neq 0$ kabul ederek eşitliğin iki tarafını da $a_1(x)$ 'e böldükten sonra elde edilen eşitlik tekrar

$$p(x) = exp \int \frac{a_2(t)}{a_1(t)} dt \quad \text{ile çarpılır ve daha sonra,} \quad q(x) = \frac{a_3(x)}{a_1(x)} p(x),$$

$$s(x) = \frac{p(x)}{a_1(x)} \quad \text{gösterimlerinden yararlanılırsa}$$

$$\frac{d}{dx}(p(x) \frac{dy}{dx}) + (q(x) + \lambda s(x)) y(x) = 0$$

biçiminde Sturm-Liouville denklemi elde edilir. Genel olarak (1) biçimindeki ikinci mertebeden herhangi bir denklemin Sturm-Liouville denklemine dönüşebilmesi için verilen aralıkta $a_1(x) \neq 0$ ve $\frac{a_2(x)}{a_1(x)}$ fonksiyonunun integrali mevcut olmalıdır.

Regüler ve Singüler Sturm-Liouville Problemleri

Kabul edelim ki sonlu $[a, b]$ aralığında verilmiş

$$\frac{d}{dx}(p(x) \frac{dy}{dx}) + (q(x) + \lambda s(x)) y(x) = 0, \quad x \in [a, b]$$

Sturm-Liouville denklemi,

$$\alpha_1 y(a) + \alpha_2 y'(a) = 0$$

$$\beta_1 y(b) + \beta_2 y'(b) = 0$$

sınır şartlarıyla verilsin. Burada $p(x)$ sürekli diferensiyellenebilir bir fonksiyon, $q(x)$ reel değerli sürekli bir fonksiyon, $\forall x \in [a, b]$ için $p(x) \neq 0$, $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$ reel sabitler, $\alpha_1^2 + \alpha_2^2 \neq 0$, $\beta_1^2 + \beta_2^2 \neq 0$ ve $\lambda \in \mathbb{C}$ ise x ' den bağımsız parametre olsun. Bu tip problemlere Regüler Sturm-Liouville Problemi denir.

Regüler olmayan Sturm-Liouville problemlerine ise Singüler Sturm-Liouville problemleri denir.

Periyodik Sturm-Liouville Problemleri

Sonlu $[a, b]$ aralığında

$$\frac{d}{dx}(p(x) \frac{dy}{dx}) + (q(x) + \lambda s(x)) y(x) = 0, \quad a \leq x \leq b$$

şeklinde verilen Sturm-Liouville denklemi (bu denkleme kendine eşlenik Sturm-Liouville denklemi denir)

$$y(a) = y(b)$$

$$y'(a) = y'(b)$$

sınır şartlarıyla verilmişse, bununla birlikte $p(a) = p(b)$ şartını da sağlıyorsa, elde edilen probleme periyodik Sturm-Liouville Problemi denir.

Anti-Periyodik Sturm-Liouville Problemleri

Kendine eşlenik olan

$$\frac{d}{dx}(p(x) \frac{dy}{dx}) + (q(x) + \lambda s(x)) y(x) = 0, \quad a \leq x \leq b$$

Sturm-Liouville denklemi,

$$y(a) = -y(b)$$

$$y'(a) = -y'(b)$$

sınır şartlarıyla verilmişse, bununla birlikte $p(a) = p(b)$ eşitliğini de sağlıyorsa, elde edilen yeni probleme anti-periyodik Sturm-Liouville problemi denir.

Tanım. Kendine eşlenik biçimde verilen

$$\frac{d}{dx}(p(x) \frac{dy}{dx}) + (q(x) + \lambda s(x)) y(x) = 0$$

diferensiyel denklemden ve

$$\alpha_1 y(a) + \beta_1 y(b) + \alpha'_1 y'(a) + \beta'_1 y'(b) = 0$$

$$\alpha_2 y(a) + \beta_{21} y(b) + \alpha'_2 y'(a) + \beta'_2 y'(b) = 0$$

sınır şartlarından oluşan Sturm-Liouville problemi verilsin. Eğer $\lambda = \lambda_0$ değeri için bu problemin aşikar olmayan $y_0 \neq 0$ çözümü bulunursa, λ_0 sayısına verilen bu problemin özdeğeri $y = y_0(x)$ fonksiyonuna ise bu özdeğere uygun özfonksiyon denir.

Çok Aralıklı Sturm-Liouville Problemleri

Periyodik Sturm-Liouville problemleri (PSLP) bir çok fizik ve mühendislik problemlerinin değişkenlerine ayırma yöntemi ile çözümünde ortaya çıkmaktadır. Özellikle de dairesel veya küresel bölgelerdeki fiziksel süreçlerin matematiksel modeli olarak ortaya konulan kısmi diferensiyel denklemler için sınır değer problemlerinin Fourier yöntemi ile çözümü PSLP biçiminde spektral problemin özdeğer ve özfonksiyonların incelenmesini gerektirmektedir.

Bu çalışmada klasik periyodik Sturm-Liouville sınır değer problemlerinden daha genel olan bir sınır değer probleminin birçok spektral özellikleri incelenmiştir. Klasik Sturm-Liouville problemlerinden farklı olarak incelediğimiz problem ortak uc noktasına sahip olan üç tane ayrıktan tanımlanmıştır ve sol ve sağ aralıktaki çözümler arasındaki iletişim 4(dört) tane ek şartla ifade edilmiştir. Bu şartlar geçiş şartları olarak adlandırılmaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar problemin özel durumlarında klasik periyodik Sturm-Liouville probleminin uygun sonuçları ile çakışmaktadır.

ESAS SONUÇLAR

Teorem 1. Kabul edelim ki, $\begin{vmatrix} \alpha & \beta \\ \gamma & \delta \end{vmatrix} = 0$ eşitliği sağlansın. O halde (1)-(7) üç aralıklı periyodik sınır-değer geçiş probleminin tüm özdeğerleri reeldir.

İspat. $\lambda_0 \in \mathbb{C}$ kompleks sayısı (1)-(7) probleminin keyfi bir özdeğeri olsun. $\text{Im}\lambda_0=0$ olduğunu gösterelim. λ_0 özdeğerine uygun olan özfonksiyonlardan herhangi birini $\psi_0(x)$ ile gösterelim. $q(x)$ reel değerli fonksiyon olduğu için $\overline{\lambda_0} \in \mathbb{C}$ sayısı da (1)-(7) probleminin bir özdeğeridir ve $\overline{\psi_0(x)}$ fonksiyonu da bu özdeğere uygun bir özfonksiyon olur. O halde

$$A\psi_0 = \lambda_0\psi_0 \quad (9)$$

$$S_i\psi_0 = 0, \quad i = 1,2,\dots,6 \quad (10)$$

$$A\overline{\psi_0} = \overline{\lambda_0}\overline{\psi_0} \quad (11)$$

$$S_i\overline{\psi_0} = 0, \quad i = 1,2,\dots,6 \quad (12)$$

eşitlikleri sağlanır. (9) ve (11) deki denklemleri sırası ile $\overline{\psi_0}$ ve ψ_0 ile çarptıktan sonra taraf tarafa çıkarırsak

$$\frac{d}{dx}W(\psi_0, \overline{\psi_0}; x) = (\lambda_0 - \overline{\lambda_0}) |\psi_0(x)|^2 \quad (13)$$

eşitliğini elde ederiz.

(10) eşitliğini $\Omega_1 := [a, \xi_1)$, $\Omega_2 := (\xi_1, \xi_2)$ ve $\Omega_3 := (\xi_2, b]$ aralıklarında integralleyerek elde edilen sonuçları taraf-tarafa toplarsak

$$\begin{aligned} & (\lambda_0 - \overline{\lambda_0}) \left(\int_a^{\xi_1-0} |v_0(x)|^2 dx + \int_{\xi_1+0}^{\xi_2-0} |v_0(x)|^2 dx + \int_{\xi_2+0}^{x_2} |v_0(x)|^2 dx \right) \\ &= W(v_0, \overline{v_0}; x) \Big|_a^{\xi_1-0} + W(v_0, \overline{v_0}; x) \Big|_{\xi_1+0}^{\xi_2-0} + W(v_0, \overline{v_0}; x) \Big|_{\xi_2+0}^b \end{aligned} \quad (14)$$

eşitliğini elde ederiz. $\alpha\delta = \beta\gamma$ olduğundan ve v_0 ve $\overline{v_0}$ fonsiyonları sırası ile (10) ve (12) eşitliklerini sağladığından dolayı

$$W(v_0, \overline{v_0}; a) = W(v_0, \overline{v_0}; b)$$

ve

$$W(v_0, v; \xi_i - 0) = W(v_0, \overline{v_0}; \xi_i + 0)$$

eşitlikleri sağlanır . O halde (14) eşitliğinin sağ tarafının sıfıra eşit olduğu gösterilebilir. Bu durumda

$$\begin{aligned} & (\lambda_0 - \overline{\lambda_0}) \left(\int_a^{\xi_1-0} |v_0(x)|^2 dx + \int_{\xi_1+0}^{\xi_2-0} |v_0(x)|^2 dx \right. \\ & \left. + \int_{\xi_2+0}^{x_2} |v_0(x)|^2 dx \right) = 0 \end{aligned} \quad (15)$$

eşitliğini elde ederiz. $v_0(x)$ özfonksiyon olduğu için (15)- in solundaki ifadenin ikinci parantezinin içindeki ifade sıfırdan farklıdır. Dolayısı ile $\lambda_0 = \overline{\lambda_0}$, yani $\text{Im}\lambda_0 = 0$ elde edilir. İspat bitti.

Theorem 2. Eğer $\begin{vmatrix} \alpha & \beta \\ \gamma & \delta \end{vmatrix} = 0$ ise, bu taktirde herhangi bir özdeğere karşılık gelen en az bir reel değerli özfonksiyon vardır.

İspat. Kabul edelim ki herhangi bir özdeğere karşılık gelen reel değerli özfonksiyon mevcut olmasın. $u(x) = y(x) + iz(x)$ fonksiyonu λ özdeğerine karşılık gelen herhangi bir kompleks değerli özfonksiyon olsun ($z(x)$ özdeş olarak sıfırdan farklı olsun). Üç aralıklı (1)-(7) Sturm-Liouville sınır değer geçiş probleminin tüm katsayıları reel olduğundan, $u(x)$ özfonksiyonunun kompleks eşleniği de aynı λ özdeğerine karşılık gelen özfonksiyondur. Bu taktir de $z(x) = \frac{1}{2i} (u(x) - \overline{u(x)})$ ve $f(x) = \frac{1}{2} (u(x) + \overline{u(x)})$ fonksiyonları da aynı λ

özdeğerine karşılık gelen reel değerli özfonksiyonlardır. Böylece bir çelişki elde edilir. İspat bitti.

Not. Bundan sonra (1)-(7) probleminin tüm özfonksiyonlarını reel değerli fonksiyonlar olarak kabul edebiliriz. Çünkü her $\lambda_0 \in \mathbb{R}$ özdeğerine karşılık gelen $y_0(x)$ özfonksiyonunun $v_0(x) = \text{Re}y_0(x)$, $w_0(x) = \text{Im}y_0(x)$ reel ve sanal kısımları da $\lambda_0 \in \mathbb{R}$ özdeğerine karşılık gelen özfonksiyonlardır.

Tanım. $u(x, \lambda)$ ve $v(x, \lambda)$ fonksiyonları $[a, \xi_1) \cup (\xi_1, \xi_2) \cup (\xi_2, b]$ aralığı üzerinde reel değerli karesi integrallenebilir fonksiyonlar olsun. Eğer

$$\int_a^{\xi_1-0} u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx + \int_{\xi_1+0}^{\xi_2-0} u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx + \int_{\xi_2+0}^b u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx = 0$$

eşitliği sağlanıyorsa $u(x, \lambda)$ ve $v(x, \lambda)$ fonksiyonları ortogonal fonksiyon olarak tanımlanır.

Teorem 3. Eğer $\begin{vmatrix} \alpha & \beta \\ \gamma & \delta \end{vmatrix} = 0$ ise ve λ ile μ sayıları (1)-(7) probleminin iki farklı özdeğeri ise, o halde bu özdeğerlere sırası ile karşılık gelen $u(x, \lambda)$ ve $v(x, \lambda)$ reel değerli özfonksiyonları için

$$\int_a^{\xi_1-0} u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx + \int_{\xi_1+0}^{\xi_2-0} u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx + \int_{\xi_2+0}^b u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx = 0$$

eşitliği sağlanır. Yani $u(x, \lambda)$ ve $v(x, \lambda)$ özfonksiyonları $L_2(a, \xi_1) \oplus L_2(\xi_1, \xi_2) \oplus L_2(\xi_2, b)$ Hilbert uzayında ortogonal fonksiyonlardır.

İspat. Teorem 1-in ispatında uyguladığımız yöntemden yararlanırsak, benzer biçimde

$$\frac{d}{dx} W(u, v; x) = (\lambda - \mu) u(x)v(x) \quad (16)$$

eşitliğini elde ederiz. Bu eşitliğin her iki tarafını $[a, \xi_1)$, (ξ_1, ξ_2) ve $(\xi_2, b]$ aralıklarında integrallersek

$$(\lambda - \mu) \left(\int_a^{\xi_1-0} u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx + \int_{\xi_1+0}^{\xi_2-0} u(x, \lambda) v(x, \lambda) dx \right)$$

$$+ \int_{\xi_2+0}^b u(x, \lambda) \nu(x, \lambda) dx)$$

$$= W(u, \nu; b) - W(u, \nu; \xi_2 + 0) + W(u, \nu; \xi_2 - 0) \\ - W(u, \nu; \xi_1 + 0) + W(u, \nu; \xi_1 - 0) - W(u, \nu; a) \quad (17)$$

elde edilir. (2)-(3) sınır şartlarını uygulayarak

$$W(u, \nu; b) = W(u, \nu; a)$$

ve (4)-(5) geçiş şartlarını kullanarak

$$W(u, \nu; \xi_1 + 0) = u(\xi_1 + 0) \nu'(\xi_1 + 0) - u'(\xi_1 + 0) \nu(\xi_1 + 0) \\ = -\frac{\alpha}{\beta} u(\xi_1 - 0) \left(-\frac{\delta}{\gamma} \nu'(\xi_1 - 0)\right) \\ - \left(-\frac{\alpha}{\beta} u'(\xi_1 - 0) \left(-\frac{\delta}{\gamma} \nu(\xi_1 - 0)\right)\right) \\ = W(u, \nu; \xi_1 - 0)$$

eşitliğini buluruz. Benzer şekilde (6)-(7) geçiş şartlarını kullanarak

$$W(u, \nu; \xi_2 + 0) = W(u, \nu; \xi_2 - 0)$$

bulunur. Bu eşitlikler (17) eşitliğinde yerine yazılırsa ve $\lambda - \mu \neq 0$ olduğu dikkate alınırsa

$$\int_a^{\xi_1-0} u(x, \lambda) \nu(x, \lambda) dx + \int_{\xi_1+0}^{\xi_2-0} u(x, \lambda) \nu(x, \lambda) dx + \int_{\xi_2+0}^b u(x, \lambda) \nu(x, \lambda) dx = 0$$

eşitliğini elde edilir. İspat bitti.

(1)-(7) periyodik sınır-değer geçiş problemine uygun diferensiyel operatörü aşağıdaki biçimde tanımlayalım.

$\oplus H_2^0 := L_2(a, \xi_1) \oplus L_2(\xi_1, \xi_2) \oplus L_2(\xi_2, b)$ direkt toplam uzayında $L : \oplus H_2^0 \rightarrow \oplus H_2^0$ operatörünün $D(L)$ tanım bölgesini aşağıdaki şartları sağlayan tüm $f(x)$ fonksiyonlarından oluşan lineer altuzay olarak tanımlayalım.

- 1) $\Omega_1 = [a, \xi_1)$, $\Omega_2 = (\xi_1, \xi_2)$ ve $\Omega_3 = (\xi_2, b]$ ve $f_i = f|_{\Omega_i}$ olmak üzere $f_i \in W_2^2(\Omega_i)$ ($i=1,2,3$)
- 2) Sonlu $f_1^{(k)}(\xi_1 - 0)$, $f_2^{(k)}(\xi_1 + 0)$, $f_2^{(k)}(\xi_2 - 0)$, $f_3^{(k)}(\xi_2 + 0)$ ($k=0,1$) limitleri mevcuttur.
- 3) $\alpha f_1(\xi_1 - 0) + \beta f_2(\xi_1 + 0) = 0$
 $\delta f_1'(\xi_1 - 0) + \gamma f_2'(\xi_1 + 0) = 0$
 $\alpha f_2(\xi_2 - 0) + \beta f_3(\xi_2 + 0) = 0$
 $\delta f_2'(\xi_2 - 0) + \gamma f_3'(\xi_2 + 0) = 0$

Şimdi L diferensiyel operatörünü $D(L)$ tanım bölgesinde $Ly = -y'' + qy$ kuralı ile tanımlayabiliriz.

Teorem 4. Eğer $\begin{vmatrix} \alpha & \beta \\ \delta & \gamma \end{vmatrix} = 0$ ise o halde (1)-(7) çok aralıklı periyodik sınır-değer geçiş probleminin ürettiği bu diferensiyel operatör $\oplus H_2^0$ Hilbert uzayında kendine eşleniktir.

İspat. İlk önce $D(L)$ tanım bölgesinin $\oplus H_2^0$ Hilbert uzayında her yerde yoğun olduğunu gösterelim, yani $\overline{D(L)} = \oplus H_2^0$ olduğunu gösterelim. $\tilde{W}_2^2(\Omega_i)$ ile Ω_i aralığının uç noktalarının en az bir komşuluğunda sıfıra eşit olan ve de Ω_i aralığında $W_2^2(\Omega_i)$ -nin elemanı olan tüm fonksiyonlar sınıfını gösterelim. Fonksiyonel analiz teorisinden bilindiği gibi $\tilde{W}_2^2(\Omega_i) \subset L_2(\Omega_i)$ lineer alt uzayı her yerde yoğundur, yani $\overline{\tilde{W}_2^2(\Omega_i)} = L_2(\Omega_i)$ eşitliği sağlanır. O halde kolayca gösterebiliriz ki

$$\oplus \tilde{W}_2^2 := \tilde{W}_2^2(\Omega_1) \oplus \tilde{W}_2^2(\Omega_2) \oplus \tilde{W}_2^2(\Omega_3) \subset \oplus H_2^0$$

lineer alt uzayı H_2^0 -da her yerde yoğundur yani $\overline{\oplus \tilde{W}_2^2} = \oplus H_2^0$ eşitliği sağlanır. Ayrıca $\oplus \tilde{W}_2^2 \subset D(L)$ olduğu için $\overline{\oplus \tilde{W}_2^2} \subset \overline{D(L)}$ olur. Böylece $\overline{D(L)} = \oplus H_2^0$ olduğunu göstermiş olduk. Şimdi iki kere kısmi integrasyon uygulayarak kolayca $y, z \in D(L)$ için $\langle Ly, z \rangle_{\oplus H_2^0} - \langle y, Lz \rangle_{\oplus H_2^0} = F(y, z)$

$$\begin{aligned} F(y, z) &:= W(y, z; \xi_1 - 0) + W(y, z; y_2^-) + W(y, z; b) \\ &= -W(y, z; a) - W(y, z; \xi_1 + 0) - W(y, z; y_2^+) \end{aligned}$$

Olduğu gösterilebilir. $D(L)$ – nin tanımından yararlanılırsa her $y, z \in D(L)$ için $F(y, z) = 0$ olduğunu kolayca gösterebiliriz. O halde her $y, z \in D(L)$ için $\langle Ly, z \rangle_{\oplus H_2^0} = \langle y, Lz \rangle_{\oplus H_2^0}$ elde edilir. Ayrıca, L diferensiyel operatörü için $Im \lambda \neq 0$ olacak biçimde her kompleks λ sayının regüler değer olduğunu gösterebiliriz. O halde Fonksiyonel Analizden iyi bilinen teorem gereği L diferensiyel operatörü kendine eşleniktir. İspat bitti.

Şimdi (1)-(7) probleminin karakteristik fonksiyonunu tanımlamak için $\Omega_1, \Omega_2, \Omega_3$ aralıklarının her birinde iki tane çözüm tanımlayacağız. Böyle çözümlere tek aralıklı çözümler diyeceğiz. (1) diferensiyel denklemin Ω_1 aralığında tanımlı olan ve

$$y(a) = 1, y'(a) = 0 \quad (18)$$

başlangıç şartlarını sağlayan bir çözümünü $F_1(x, \lambda)$ ile,

$$y(a) = 0, y'(a) = 1 \quad (19)$$

başlangıç şartlarını sağlayan çözümünü ise $G_1(x, \lambda)$ ile gösterelim. Şimdi bu çözümlerden yararlanarak (1) diferensiyel denklemin Ω_2 aralığında tanımlı olan ve

$$y(\xi_1 + 0) = F_1(\xi_1 - 0, \lambda), y'(\xi_1 + 0) = F_1'(\xi_1 - 0, \lambda) \quad (20)$$

başlangıç şartlarını sağlayan bir çözümünü $F_2(x, \lambda)$ ile,

$$y(\xi_1 + 0) = G_1(\xi_1 - 0, \lambda), y'(\xi_1 + 0) = G_1'(\xi_1 - 0, \lambda) \quad (21)$$

başlangıç şartlarını sağlayan çözümünü ise $G_2(x, \lambda)$ ile gösterelim. Benzer biçimde (1) diferensiyel denklemin Ω_3 aralığında tanımlı ve

$$y(\xi_2 + 0) = F_2(\xi_2 - 0, \lambda), y'(\xi_2 + 0) = F_2'(\xi_2 - 0, \lambda) \quad (22)$$

başlangıç şartlarını sağlayan çözümü $F_3(x, \lambda)$ ile,

$$y(\xi_2 + 0) = G_2(\xi_2 - 0, \lambda), y'(\xi_2 + 0) = G_2'(\xi_2 - 0, \lambda) \quad (23)$$

başlangıç şartlarını sağlayan çözümünü $G_3(x, \lambda)$ ile gösterelim.

Teorem 5. $F_1(x, \lambda)$ ve $G_1(x, \lambda)$ fonksiyonları her $x \in \Omega_i$ için λ kompleks değişkenine göre tüm kompleks düzlemde analitik fonksiyonlardır (yani tam fonksiyonlardır).

İspat. $F_1(x, \lambda)$ ve $G_1(x, \lambda)$ için ispat direkt olarak Titchmars(1962) kaynağında bulunan sonuçtan elde edilir. $F_2(x, \lambda)$, $F_3(x, \lambda)$, $G_2(x, \lambda)$, $G_3(x, \lambda)$ fonksiyonları için ispat Aydemir ve Mukhtarov (2017) kaynağındaki ispata benzer biçimde yapılır.

Teorem 6. $F_i(x)$ ve $G_i(x)$ fonksiyon çifti Ω_i ($i=1,2,3$) aralığında lineer bağımsızdır.

İspat. F_1 ve G_1 fonksiyonlarının lineer bağımsızlığı

$$W(F_1, G_1; x) = W(F_1, G_1; a) = 1 \neq 0$$

olduğu için aşıkardır. Şimdi F_2 ve G_2 fonksiyon çiftinin Ω_2 aralığında lineer bağımsız olduğunu gösterelim. (20) ve(21) başlangıç şartlarından yararlanılırsa

$$\begin{aligned} W(F_2, G_2; x) &= W(F_2, G_2; \xi_1 + 0) \\ &= W(F_1, G_1; \xi_1 - 0) \\ &= W(S_1, T_1; a) = 1 \neq 0 \end{aligned}$$

elde edilir. Buradan sonuç olarak F_2 ve G_2 nin lineer bağımsız olduğu elde edilir. F_3 ve G_3 fonksiyon çiftinin Ω_3 aralığında lineer bağımsız olduğu tamamen benzer biçimde gösterilebilir. İspat bitti.

Sonuç. (1) diferensiyel denkleminin genel çözümü

$$y(x, \lambda) = \begin{cases} A_1 F_1(x, \lambda) + B_1 G_1(x, \lambda), & x \in [a, \xi_1) \\ A_2 F_2(x, \lambda) + B_2 G_2(x, \lambda), & x \in (\xi_1, \xi_2) \\ A_3 F_3(x, \lambda) + B_3 G_3(x, \lambda), & x \in (\xi_2, b] \end{cases}$$

biçimindedir. Burada $A_i, B_i(i=1,2)$ keyfi sabitlerdir.

Tanım. $X(\lambda) = W(F_3(\cdot, \lambda), G_3(\cdot, \lambda); b) - F_3(x_2, \lambda) + G_3'(x_2, \lambda)$

eşitliği ile tanımlı $X(\lambda)$ fonksiyonuna (1)-(7) periyodik sınır-değer geçiş probleminin karakteristik fonksiyonu denir.

Teorem 7. $X(\lambda)$ fonksiyonu tüm kompleks düzlemde analitik fonksiyondur, yani tam fonksiyondur.

İspat. $X(\lambda)$ fonksiyonunun tanımı gereği ve Teorem 5 gereği açıktır.

Teorem 8. $\lambda \in \mathbb{C}$ kompleks sayısının (1)-(7) probleminin özdeğeri olması için gerek ve yeter şart $X(\lambda) = 0$ olmasıdır.

İspat. (1) denkleminin (23) formülü ile ifade edilen genel çözümünü (2)– (7) sınır-geçiş şartlarında yerine yazarsak, $A_1, B_1, A_2, B_2, A_3, B_3$ değişkenlerine göre homojen lineer denklem sistemi elde edilir. Bu denklem sisteminin determinantının $X(\lambda)$ fonksiyonuna eşit olduğu direk hesaplamalarla gösterilebilir. O halde lineer cebirden iyi bilinen teorem gereği bu denklem sisteminin aşıkâr almayan çözümünün olması için gerek ve yeter şart $X(\lambda) = 0$ olmasıdır. İspat bitti.

2. İki aralıklı Sturm-Liouville Problemleri İçin Bazı

Karşılaştırma teoremleri

Birçok fiziksel olayın çeşitli özelliklerinin incelenmesinde, salınımlı ve salınımsız çözümler için yeterli koşulların elde edilmesi, ardışık sıfırlar arasındaki minimum mesafenin ve belirli bir aralıkta yer alan sıfır sayısının tahmin edilmesi gerektiği bilinmektedir. Bu nedenle Sturm karşılaştırma ve salınım teorisi giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Bu teori aynı zamanda tam formda bulamadığımız çözümlerin bazı niteliksel özelliklerini incelemek için de kullanılabilir. Bu nedenle, Sturm teorisi hem teorik açıdan hem de pratik açıdan önemlidir. Ayrıca, matematiksel fiziğin bazı problemlerini incelerken, sadece adi diferansiyel denklemler için değil, kısmi diferansiyel denklemler için de salınımlı ve salınımsız çözümler bulmak gerekir.

Bu bölümde

$$-\frac{d}{dx}\left(k(x)\frac{dy}{dx}\right) + q(x)y = \lambda y, \quad x \in [a, c) \cup (c, b] \quad (24)$$

$$y(a) = y(b) \quad (25)$$

$$y'(a) = y'(b) \quad (26)$$

$$Jy(c) = 0 \quad (27)$$

$$Jy'(c) = \beta y'(c-) \quad (28)$$

ile verilen periyodik iki aralıklı Sturm-Liouville sınır değer geçiş probleminin çözümleri için bazı karşılaştırma teoremleri ispatlanmıştır. Burada $Jf(x) = f(x+) - f(x-)$ eşitliği ile tanımlanan J operatörü süreksizlik operatörüdür, β ise reel katsayıdır. İlk önce yeni bir fonksiyonel uzay tanımlayalım. $C^{(n)}([a, c) \cup (c, b])$ ile $[a, c) \cup (c, b]$ iki aralığında atanımlı olan $[a, c)$ ve $(c, b]$ yarıaçık aralıklarının her birinde n . mertebeye kadar (n . mertebede dahil olmak üzere) sürekli türevlenebilir olan ve sonlu $f(c\pm), f'(c\pm), \dots, f^{(n)}(c\pm)$ limit değerlerine sahip olan tüm $f(x)$ fonksiyonlarının oluşturduğu fonksiyonel uzay gösterilecektir. Tüm çalışma boyunca aşağıdaki şartların sağlanacağı kabul edilecektir.

1. $k(x) \in C^{(1)}([a, c) \cup (c, b])$

2. Her $x \in [a, c) \cup (c, b]$ için $k(x) > 0$
3. $k(a) = k(b)$, $k(c-) > 0$, $k(c+) > 0$
4. $q(x) \in C^{(0)}([a, c) \cup (c, b])$
5. $\beta > 0$, $\lambda \in \mathbb{C}$

Teorem 9. Kabul edelim ki

$$Jk(c) = -\frac{\beta}{\beta + 1}k(c-)$$

eşitliği sağlansın. O halde (24)-(28) iki-aralıklı periyodik Sturm-Liouville sınır değer geçiş probleminin tüm özdeğerleri reeldir.

Teorem 10. Kabul edelim ki $Jk(c) = -\frac{\beta}{\beta + 1}k(c-)$ şartı sağlansın. O halde bu şart altında (24)-(28) iki aralıklı periyodik Sturm-Liouville sınır değer geçiş probleminin $\lambda_1 \neq \lambda_2$ özdeğerlerine karşılık $y_1(x)$ ve $y_2(x)$ özfonksiyonları $L_2[a, c) \oplus (c, b]$ de ortogonaldir yani

$$\langle y_1, y_2 \rangle = \int_a^{c-} y_1(x)\overline{y_2(x)}dx + \int_{c+}^b y_1(x)\overline{y_2(x)}dx=0$$

eşitliği sağlanır.

Teorem 11. “ $k_i \in C^1[a, c) \cup (c, b]$, $g_i \in C[a, c) \cup (c, b]$, sonlu $k_i(c \pm 0) > 0$, $k_i'(c \pm 0) > 0$, $g_i(c \pm 0)$ limit değerleri mevcuttur ve her $x \in [a, c) \cup (c, b]$ için $k_i > 0$ olmak üzere

denklemini, $z(a) = z(b) = 0$ sınır şartları, $z(c+) = z(c-)$ ve $z'(c+) = z'(c-)$ geçiş şartlarıyla verilen problemin sıfırdan farklı bir çözümü $z(x)$ olsun. Benzer şekilde

$$(k_2 y)' + g_2 y = 0$$

denklemini, $y(a) = 0$ sınır şartları, $y(c+) = \alpha y(c-)$ ve $y'(c+) = \beta y'(c-)$ geçiş şartlarıyla verilen problemin sıfırdan farklı bir çözümü $y(x)$ olsun. Eğer

$$Jk_i(c) = -\frac{\beta}{\beta + 1}k_i(c-)$$

eşitliği ve

$$\int_a^{c-} [(k_1 - k_2) (z')^2 + (g_2 - g_1)z^2]dx + \int_{c+0}^b [(k_1 - k_2) (z')^2 + (g_2 - g_1)z^2]dx \geq 0 \quad (29)$$

eşitsizliği sağlanıyorsa bu taktirde $(a, c) \cup (c, b]$ aralığında $y(x)$ çözümünün en az bir sıfırı mevcuttur.

İspat. $\forall x \in (a, c) \cup (c, b]$ için $y(x) \neq 0$ olduğunu kabul edelim. İlk denklem z ile ikinci denklem $\frac{z^2}{y}$ ile çarpılırsa,

$$z((k_1 z')' + g_1 z) = 0 \text{ ve } (z^2/y)((k_2 y')' + g_2 y) = 0$$

eşitlikleri elde edilir. Bu iki eşitlik taraf tarafa çıkarılırsa,

$$(k_1 z')'z - \frac{z^2}{y} (k_2 y')' + (g_1 - g_2)z^2 = 0 \quad (30)$$

eşitliği elde edilir. Buradan,

$$(k_1 z')'z - \frac{z^2}{y} (k_2 y')' = \frac{z}{y} [(k_1 z')'y - (k_2 y')'z] \quad (31)$$

eşitliği göz önüne alınırsa, (30) eşitliği

$$\frac{z}{y} [(k_1 z')'y - (k_2 y')'z] + (g_1 - g_2)z^2 = 0 \quad (32)$$

biçiminde yazılabilir. Şimdi

$$\frac{z}{y} [(k_1 z')'y - (k_2 y')'z] \quad (33)$$

ve

$$\frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z)' \quad (34)$$

ifadelerini karşılaştıralım. (33) deki ifade düzenlenirse,

$$M := [(k_1 z')'y - (k_2 y')'z] = k_1' z' y + k_1 z'' y - k_2' y' z - k_2 y'' z$$

biçiminde yazılabilir. Benzer şekilde (34) ifadesi,

$$N := (k_1 y z' - k_2 y' z)'$$

$$\begin{aligned}
 &= k_1'(yz') + k_1(yz')' - k_2'(y'z) - k_2(y'z)' \\
 &= k_1'yz' + k_1y'z' + k_1yz'' - k_2'y'z - k_2y'z' - k_2y''z \\
 &= M + (k_1 - k_2)y'z'
 \end{aligned}$$

biçiminde yazılabilir. Son eşitlik (32) eşitliğinde yerine yazılırsa,

$$\begin{aligned}
 \frac{z}{y} [(k_1z')'y - (k_2y')'z] + (g_1g_2)z^2 &= \frac{z}{y} M + (g_1 - g_2)z^2 \\
 &= \frac{z}{y} (N + (k_2 - k_1)y'z') + (g_1 - g_2)z^2 \\
 &= \frac{z}{y} (k_1yz' - k_2y'z)' \\
 &\quad + \frac{z}{y} (k_2 - k_1)y'z' + (g_1 - g_2)z^2
 \end{aligned}$$

eşitliği elde edilir. Bu eşitlik a dan c 'ye integrenirse,

$$\begin{aligned}
 \int_a^{c-} \frac{z}{y} (k_1yz' - k_2y'z)' dx + \int_a^{c-} \frac{z}{y} (k_2 - k_1)y'z' dx \\
 + \int_a^{c-} (g_1 - g_2)z^2 dx = 0 \tag{35}
 \end{aligned}$$

elde edilir. Bu integraldeki

$$\begin{aligned}
 \int_a^{c-} \frac{z}{y} (k_1yz' - k_2y'z)' dx &= \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} z y (k_1yz' - k_2y'z) |_{a+\varepsilon}^- \\
 &\quad - \int_a^{c-} (k_1yz' - k_2y'z) \left(\frac{z}{y}\right)' dx
 \end{aligned}$$

ifadesi gözönüne alınır ve (35) eşitliğinde yerine yazılır ve düzenlenirse,

$$\begin{aligned}
 \lim_{\varepsilon \rightarrow 0^+} \frac{z}{y} (k_1yz' - k_2y'z) |_{a+\varepsilon}^- \\
 &= \int_a^{c-} (k_1yz' - k_2y'z) \left(\frac{z}{y}\right)' dx \\
 &\quad - \int_a^{c-} \frac{z}{y} (k_2 - k_1)y'z' dx - \int_a^{c-} (g_1 - g_2)z^2 dx \\
 &= \int_a^{c-} \left[(k_1yz' - k_2y'z) \left(\frac{z}{y}\right)' - \frac{z}{y} (k_2 - k_1)y'z' \right] dx \\
 &\quad - \int_a^{c-} (g_1 - g_2)z^2 dx
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \int_a^{c^-} \left[(k_1 - k_2)(z')^2 + k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 \right] dx \\
 &\quad + \int_a^{c^-} (g_2 - g_1)z^2 dx \\
 &= \int_a^{c^-} [(k_1 - k_2)(z')^2 + (g_2 - g_1)z^2] dx \\
 &\quad + \int_a^{c^-} k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx \tag{36}
 \end{aligned}$$

eşitliği elde edilir. Benzer şekilde (33) eşitliği c' den b' ye integrallenirse,

$$\begin{aligned}
 &\int_{c^+}^b \frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z)' dx + \int_{c^+}^b \frac{z}{y} (k_2 - k_1) y' z' dx \\
 &+ \int_{c^+}^b (g_1 - g_2) z^2 dx = 0 \tag{37}
 \end{aligned}$$

yazılabilir. Bu eşitlikteki ilk integral için,

$$\begin{aligned}
 &\int_{c^+}^b \frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z)' dx \\
 &= (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{c^+}^b - \int_{c^+}^b (k_1 y z' - k_2 y' z) \left(\frac{z}{y} \right)' dx
 \end{aligned}$$

olduğu göz önüne alınır ve bu eşitlik (37) eşitliğinde yerine yazılıp düzenlenirse,

$$\begin{aligned}
 &\frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{c^+}^b \\
 &= \int_{c^+}^b (k_1 y z' - k_2 y' z) \left(\frac{z}{y} \right)' dx - \int_{c^+}^b \frac{z}{y} (k_2 - k_1) y' z' dx \\
 &\quad - \int_{c^+}^b (g_1 - g_2) z^2 dx \\
 &= \int_{c^+}^b \left[(k_1 y z' - k_2 y' z) \left(\frac{z}{y} \right)' - \frac{z}{y} (k_2 - k_1) y' z' \right] dx \\
 &\quad - \int_{c^+}^b (g_1 - g_2) z^2 dx \\
 &= \int_{c^+}^b \left[(k_1 y z' - k_2 y' z) \left(\frac{z'y - zy'}{y^2} \right) - (k_2 - k_1) y' z' \frac{z}{y} \right] dx \\
 &\quad - \int_{c^+}^b (g_1 - g_2) z^2 dx
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \int_{c+}^b \left[(k_1 - k_2)(z')^2 + k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 \right] dx \\
 &+ \int_{c+}^b (g_2 - g_1)z^2 dx \\
 &= \int_{c+}^b [(k_1 - k_2)(z')^2 + (g_2 - g_1)z^2] dx \\
 &+ \int_{c+}^b k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx \quad (38)
 \end{aligned}$$

eşitliği elde edilir. (36) ve (38) eşitlikleri taraf tarafa toplanırsa,

$$\begin{aligned}
 &\frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{a+\varepsilon}^{c-} + \lim_{\varepsilon \rightarrow 0+} \frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{c+}^b \\
 &= \int_a^{c-} [(k_1 - k_2)(z')^2 + (g_2 - g_1)z^2] dx \\
 &+ \int_{c+}^b [(k_1 - k_2)(z')^2 + (g_2 - g_1)z^2] dx \\
 &+ \int_a^{c-} k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx + \int_{c+}^b k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx \quad (39)
 \end{aligned}$$

eşitliği elde edilir. İlk olarak bu eşitliğin sol tarafı incelenirse,

$$\begin{aligned}
 &\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{a+\varepsilon}^{c-} + \frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{c+}^b \\
 &= \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{z(c-)}{y(c-)} (k_1(c-)y(c-)z'(c-) \\
 &\quad - k_2(c-)y'(c-)z(c-)) \\
 &\quad - \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{\alpha z(c-)}{\alpha y(c-)} (k_1(c+)y(c-) \beta z'(c-) \\
 &\quad - k_2(c+) \beta y'(c-)z(c-)) \\
 &= 0
 \end{aligned}$$

eşitliği elde edilir. O halde bu son ifade (39) eşitliğinde yazılırsa,

$$\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{a+\varepsilon}^c + \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{z}{y} (k_1 y z' - k_2 y' z) \Big|_{c+}^b = 0$$

olur. Bu durum dikkate alınır,

$$\int_a^{c^-} [(k_1 - k_2)(z')^2 + (g_2 - g_1)z^2] dx + \int_{c^+}^b [(k_1 - k_2)(z')^2 + (g_2 - g_1)z^2] dx = - \int_a^{c^-} k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx - \int_{c^+}^b k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx$$

bulunur. Son eşitlikte (29) eşitsizliği göz önüne alınırsa,

$$\int_a^{c^-} k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx + \int_{c^+}^b k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx \leq 0 \quad (40)$$

eşitsizliği yazılabilir. Burada ilk olarak kabul edelim ki herhangi bir c sabit sayısı için, $y(x) = cz(x)$ olsun. $z(b) = 0$ olduğu için $y(b) = 0$ olur. Bu ise $y(b) \neq 0$ ile çelişir. Diğer taraftan $y(x) \neq cz(x)$ durumunda ise;

$$\int_a^{c^-} k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx + \int_{c^+}^b k_2 \left(\frac{z'y - zy'}{y} \right)^2 dx > 0$$

olur bu ise (40) ifadesi ile çelişir. O halde $(a, c) \cup (c, b]$ aralığında $y(x)$ ' in en az bir sıfırı vardır.

Kaynaklar

- [1] Aydemir, K., Olğar, H., Mukhtarov, O. S., & Muhtarov, F. (2018). Differential operator equations with interface conditions in modified direct sum spaces. *Filomat*, 32(3), 921-931.
- [2] Binding, P., & Volkmer, H. (2012). A Prüfer angle approach to the periodic Sturm-Liouville problem. *The American Mathematical Monthly*, 119(6), 477-484.
- [3] Burghilea, D., Saldanha, N. C., & Tomei, C. (2009). The geometry of the critical set of nonlinear periodic Sturm-Liouville operators. *Journal of Differential Equations*, 246(8), 3380-3397.
- [4] Çavuşoğlu, S., & Mukhtarov, O. S. (2022, November). Generalized finite difference method for solving two-interval Sturm-Liouville problems with jump conditions. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2483, No. 1). AIP Publishing.
- [5] Çavuşoğlu, S., & Mukhtarov, O. S. A new finite difference algorithm for boundary value problems involving transmission conditions. *e-Journal of Analysis and Applied Mathematics*, 2022(1), 1-13.

- [6] Cavusoglu, S., & Mukhtarov, O. S. (2022). A New treatment of the finite difference method for 2-Interval Sturm-Liouville problems. *Journal| MESA*, 13(1), 217-227.
- [7] Cavusoglu, S., & Mukhtarov, O. S. (2022). Modified Finite Difference Method for solution of two-interval boundary value problems with transition conditions. *Turkish Journal of Mathematics and Computer Science*, 14(1), 98-106.
- [8] Kittel, C. (2005). *Introduction to solid state physics*. John Wiley & sons, inc.
- [9] Malathi, V., Suleiman, M. B., & Taib, B. B. (1998). Computing eigenvalues of periodic Sturm-Liouville problems using shooting technique and direct integration method. *International journal of computer mathematics*, 68(1-2), 119-132.
- [10] Mukhtarov, O. S., Olğar, H., & Aydemir, K. (2015). Resolvent operator and spectrum of new type boundary value problems. *Filomat*, 29(7), 1671-1680.
- [11] Mukhtarov, O. S., Yücel, M., & Aydemir, K. (2020). Treatment a new approximation method and its justification for Sturm–Liouville problems. *Complexity*, 2020, 1-8.
- [12] Mukhtarov, O., Çavuşoğlu, S., & Olğar, H. (2019). Numerical solution of one boundary value problem using finite difference method. *Turkish Journal of Mathematics and Computer Science*, 11, 85-89.
- [13] Olğar, H., Mukhtarov, O. S., Muhtarov, F. S., & Aydemir, K. (2022). The weak eigenfunctions of boundary-value problem with symmetric discontinuities. *Journal of Applied Analysis*, 28(2), 275-283.
- [14] Öztürk, S. N., & Mukhtarov, O. (2023). İki Aralıklı Sturm-Liouville Denklemlerinin Çözümlerinin Salınım ve Ayırma Özellikleri. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 12(1), 37-45.
- [15] Öztürk, S. N., Mukhtarov, O., & Aydemir, K. (2023). Non-classical periodic boundary value problems with impulsive conditions. *Journal of New Results in Science*, 12(1), 1-8.
- [16] Ren, S. Y. (2017). The Periodic Sturm–Liouville Equations. In *Electronic States in Crystals of Finite Size: Quantum Confinement of Bloch Waves* (pp. 21-49). Singapore: Springer Singapore.
- [17] Seitz, F., & Johnson, R. P. (1940). Modern theory of solids. *Uspekhi Fizicheskikh Nauk*, 23(3), 293-315.
- [18] Somali, S., & Oger, V. (2005). Improvement of eigenvalues of Sturm–Liouville problem with t-periodic boundary conditions. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, 180(2), 433-441.

- [19] Yuji, L. I. U. Periodic Boundary Value Problems for Higher Order Impulsive Functional Differential Equations. Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Science Journal of Science, 2(2), 253-272.
- [20] Yücel, M., Muhtarov, F., & Mukhtarov, O. (2022). A New Transformation Method for Solving High-Order Boundary Value Problems. Journal of New Theory, (40), 90-100.
- [21] Wang, D. B. (2012). Periodic boundary value problems for nonlinear first-order impulsive dynamic equations on time scales. Advances in Difference Equations, 2012(1), 1-9.

BÖLÜM 11

VOLTERRA-FREDHOLM İNTEGRO- DİFERANSİYEL DENKLEMİN AYRIŞTIRILMIŞ SERİ ÇÖZÜMÜ

Derya ARSLAN¹

¹Bitlis Eren Üniversitesi, BİTLİS, TÜRKİYE

GİRİŞ

Volterra-Fredholm integro-diferansiyel denklemler bilim ve mühendisliğin çeşitli alanlarında görülmektedir. Bunlar, oşinografi, akışkanlar mekaniği, elektromanyetik teori, finans matematiği, plazma fiziği, nüfus dinamiği, yapay sinir ağları ve biyolojik süreçlerdir [5]. Bu alanlarda ortaya çıkan modeller Volterra-Fredholm integro-diferansiyel denklemlere karşılık gelir. Bu denklemleri analitik olarak çözmek oldukça güçtür. Bu nedenle uygun sayısal yöntemler kullanılmalıdır. Literatürde bunlardan bazıları Adomian ayrıştırma yöntemi, spektral sıralama yöntemi, Legendre dalgacık yöntemi, sonlu farklar yöntemi, Legendre sıralama yöntemi, Bernstein polinomları yöntemi, homotopi pertürbasyon yöntemi v.b. [6-10]. Yine literatürde integro-diferansiyel denklemlerin çözümlerinin varlık ve teklik araştırmaları da yer almaktadır [11].

Singüler pertürbe problemler, diferansiyel denklemdeki en yüksek mertebeli terimin (ε) katsayısının çok küçük bir parametre olmasıyla karakterize edilir. Bu problemlerin yaklaşık çözümleri literatürde yer almaktadır. Burada görülen matematiksel modeller popülasyon dinamiği, akışkanlar dinamiği, ısı taşınım problemi, nanoakışkan, nörobiyoloji, matematiksel biyoloji, visko elastisite ve eş zamanlı kontrol sistemleri vb. alanlardaki birçok uygulamada sıralanabilir [1-5]. Singüler pertürbe denklemdeki ε pertürbasyon parametresi, çözümde sınırsız türevler oluşturur. Bu durumu ortadan kaldırmak için uygun sayısal yöntemler kullanılmalıdır [12-15]. Bu çalışmada nümerik çözümü araştırılan problemin hem singüler pertürbe hem de integro-diferansiyel denklem özelliklerini içermesi analitik çözümün bulunmasını zorlaştırır. Bu nedenle çalışmada, bu zorlukları aşabilmek için Adomian ayrıştırma yöntemi kullanılmıştır. Literatürde ise SPVFIDD çözen farklı birçok çalışma mevcuttur. Son yıllarda pek çok yazar Volterra, Fredholm, Volterra-Fredholm denklemleri ve bulanık Volterra-Fredholm integralleri yaklaşık ve analitik olarak çözmek amacıyla homotopi analiz yöntemi, değiştirilmiş varyasyonel iterasyon yöntemi, Adomian ayrıştırma yöntemi, değiştirilmiş homotopi pertürbasyon yöntemi gibi farklı yöntemler kullanmışlardır [13-15].

Çalışmada aşağıdaki SPVFIDD ve başlangıç durumu ele alınmıştır [13]:

$$\varepsilon \mathbf{y}' + \mathbf{a}(x)\mathbf{y} + \int_0^x \mathbf{K}(x, s)\mathbf{y}(s)ds + \theta \int_0^1 \mathbf{L}(x, s)\mathbf{y}(s)ds = \mathbf{H}(x), (x, s)$$

$$\in (0, 1] \times [0, 1] \quad (1)$$

$$\mathbf{y}(0) = \mathbf{A}, \quad (2)$$

burada $\varepsilon \in (0, 1]$; θ , reel parametre; A , sabit; $H(x)$, $a(x) > 0$; $K(x, s)$ ve $L(x, s)$ sürekli fonksiyonlardır.

2. ADOMIAN AYRIŞTIRMA METODU VE UYGULAMASI

ADM, 1980 yıllarında George Adomian tarafından doğrusal olmayan fonksiyonel denklemleri çözmek için tanıtılmıştır. Çözümler basit bir formülle elde edilen sonsuz kuvvet serileri formundadır [16-18]. ADM' nin yakınsama analizi Cherruault ve Adomian tarafından elde edilmiştir. Yine ADM'nin hata analizi de yapılmıştır [19,20].

ADM genel olarak aşağıdaki biçimde tanımlanır [16-18]:

F , kendisi de lineer olmayan, lineer ve lineer olmayan terimler içeren adi veya kısmi diferansiyel bir operatör olsun ve herhangi verilen fonksiyon ise g olsun:

$$Fy(t) = g(t)$$

denklemini ayrıştırılmış biçimde yazılırsa aşağıdaki denklem oluşur:

$$Ly + Ry + Ny = g \quad (3)$$

burada L verilen diferansiyel denklemin en yüksek mertebeden türevini gösterir ve tersi kolaylıkla alınabilen lineer bir operatördür. R , lineer operatörden kalan lineer kısımdır. N ise verilen diferansiyel denklemdeki lineer olmayan terimdir.

L^{-1} integral operatörü sol taraftan başlayarak (3) denklemine uygulanırsa

$$L^{-1}Ly + L^{-1}Ry + L^{-1}Ny = L^{-1}g,$$

$$L^{-1}Ly = L^{-1}g - L^{-1}Ry - L^{-1}Ny \quad (4)$$

elde edilir.

Burada L ve L^{-1} sırasıyla diferansiyel denklem n-mertebeden ise diferansiyel operatör ve integral operatörü aşağıda verilmiştir:

$$L(.) = \frac{d^n}{dt^n}(.),$$

$$L^{-1}(\cdot) = \left. \int_0^t \int_0^t \dots \int_0^t (\cdot) dt dt \dots dt \right\}, n - \text{kez integral}.$$

Denklem (4)'teki lineer olmayan Ny terimleri şu şekilde tanımlanır:

$$Ny = \sum_{n=0}^{\infty} A_n,$$

burada A_n 'ler Adomian polinomlardır. (4) denkleminde eşitliğin solundaki terim hesaplanırsa

$$y = y(0) + L^{-1}g - L^{-1}Ry - L^{-1}Ny, \quad (5)$$

ayrıştırılmış seri çözüm fonksiyonu elde edilir. Eşitliğin sağındaki iki terim ile

$$y_0 = y(0) + L^{-1}g, \quad (6)$$

fonksiyonu geriye kalanlar ile de

$$y_{n+1} = -L^{-1}R y_n - L^{-1}A_n, n = 0, 1, 2, 3, \dots \quad (7)$$

tekrar bağıntısı kullanılarak

$$y_1 = -L^{-1}R y_0 - L^{-1}A_0,$$

$$y_2 = -L^{-1}R y_1 - L^{-1}A_1,$$

...

fonksiyonları bulunur. y_1, y_2, y_3, \dots fonksiyonları aşağıda verilen seri toplamında yazılırsa

$$\begin{aligned} & y(t) \\ &= \sum_{n=0}^{\infty} y_n = y_0 + y_1 + y_2 + y_3 + \dots \end{aligned} \quad (8)$$

yaklaşık seri çözüm elde edilir.

Şimdi de ADM'nin yakınsama analizi ifade edilirse

Tanım 2.1.

$\forall i \in N$ için

$$\alpha_i = \begin{cases} \frac{\|y_{i+1}\|}{\|y_i\|}, & \|y_i\| \neq 0 \\ 0, & \|y_i\| = 0, \end{cases} \quad (9)$$

olarak tanımlanır [19,20].

Sonuç 2.1.

$0 \leq \alpha_i < 1$ için yaklaşık seri çözümü tam çözüme yakınsaktır [19,20].

ADM Uygulaması:

Verilen diferansiyel denklem lineer diferansiyel operatör yardımıyla operatör formunda yazılır. Doğrusal olmayan terimleri doğrusallaştırmak için Adomian polinomları kullanılır. Tekrarlama ilişkisi elde edilir. (8) serisinde y_0, y_1, y_2, \dots yazılarak seri çözümü bulunur.

Örnek 1:

$$\begin{aligned} \varepsilon y'(x) + y(x) + \int_0^x \sin(x-s)y(s)ds + \int_0^1 sy(s)ds = \sin(x), \quad 0 < x \\ \leq 1, \end{aligned} \quad (10)$$

$$y(0) = 1, \quad (11)$$

(10)-(11) probleminin tam çözümü yoktur.

Adomian ayrıştırma metodu çözüm prosedürüne göre, (10)-(11) problemi için ilk olarak diferansiyel ve integral operatörleri sırasıyla şu şekildedir:

$$L(.) = \frac{d}{dt}(.), \quad L^{-1}(.) = \int_0^x (.) dx.$$

Buradaki diferansiyel operatör kullanılarak (10) denklemi operatör formda yazılırsa

$$L(\varepsilon y') = -y - \int_0^x \sin(x-s)y(s)ds - \int_0^1 sy(s)ds + \sin(x),$$

denklemi bulunur. Bu denkleme yukarıda verilen integral operatörü soldan başlayarak uygulanırsa aşağıdaki denklem elde edilir:

$$L^{-1}L(\varepsilon y') = L^{-1} \left(-y - \int_0^x \sin(x-s)y(s)ds - \int_0^1 sy(s)ds + \sin(x) \right), \quad (12)$$

(12) eşitliğinin solundaki terim heaplanır ve değerini bulup yerine koyulursa aşağıdaki denklem elde edilir:

$$\begin{aligned} \varepsilon y(x) = \varepsilon - \int_0^x y(x)dx \\ - \int_0^x \left(\int_0^x \sin(x-s)y(s)ds \right) dx - \int_0^x \left(\int_0^1 sy(s)ds \right) dx \\ + \int_0^x \sin(x)dx, \quad (13) \end{aligned}$$

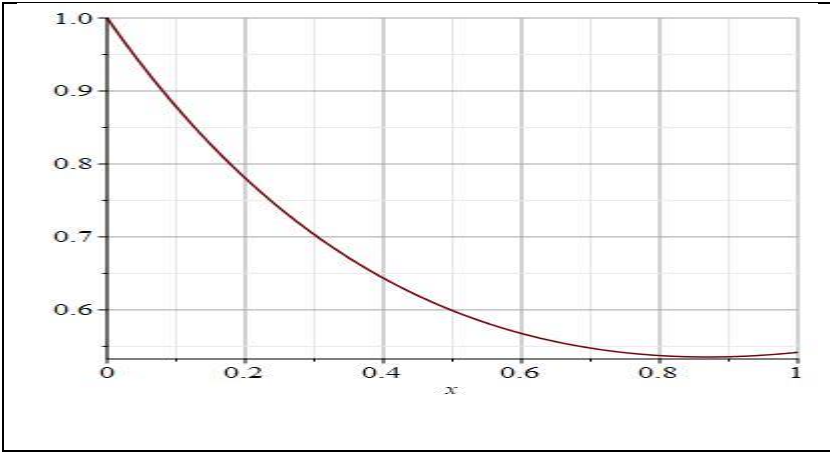
(13) denklemi (12) denkelminde yazılırsa aşağıdaki ayrıştırılmış serisi çözüm fonksiyonu elde edilir.

$$y_0 = 1 + \frac{1}{\varepsilon} \left(\int_0^x \sin(x) dx \right),$$

$$y_{n+1} = \frac{1}{\varepsilon} \left(- \int_0^x y_n dx - \int_0^x \left(\int_0^x \sin(x-s) y_n ds \right) dx - \int_0^x \left(\int_0^1 s y_n ds \right) dx \right), n = 0,1,2, \dots$$

Bu tekrar bağıntısından elde edilen ayrıştırma serisinin y_n terimleri (9) seri çözüm fonksiyonunda yerine konulursa aşağıdaki yaklaşık seri çözümü bulunur.

$$\begin{aligned} y_{yaklaşık}(x) = & 13486.02291x - 19437.90450\sin(x) - 21568.64277x^2 \\ & + 775.0316871\sin(x)x^2 - 13.08720089\cos(x)x^4 \\ & + 0.00006261685495\sin(x)x^7 + 17.81535472x^5 \\ & + 743.4709767x^4 - \dots \end{aligned}$$



Şekil 1. $\varepsilon=0.9$ için ADM çözüm eğrisi

Örnek 1'i $\varepsilon=0,9$ için ADM kullanarak çözecek bir algoritma oluşturulmuştur. Bu algoritma uygun bir matematik programı ile çözümlenerek sayısal sonuçlar yalnızca 10 iterasyonla elde edilmiştir. Şekil 1'de de yaklaşık çözüm eğrileri verilmiştir.

Ayrıca Tanım 2.1 ve Sonuç 2.1'e göre Örnek 1'in ADM ile yakınsaklık ispatı aşağıdaki şekildedir:

$$\alpha_0 = \frac{y_1}{y_0} = 0.9831550086 < 1, \quad \alpha_1 = \frac{y_2}{y_1} = 0.9327008217 < 1,$$

$$\alpha_2 = \frac{y_3}{y_2} = 0.7761223562 < 1, \quad \alpha_3 = \frac{y_4}{y_3} = 0.7348173396 < 1,$$

$$\alpha_4 = \frac{y_5}{y_4} = 0.7270890849 < 1, \quad \alpha_5 = \frac{y_6}{y_5} = 0.7264725677 < 1, \dots$$

Buradan anlaşılır ki; Örnek 1'in yaklaşık çözüm sonuçları, $\alpha_i = \frac{y_{i+1}}{y_i} < 1$, $i = 0, 1, 2, \dots$ şartını sağlandığı için yakınsaklık sağlanmıştır.

SONUÇ

Singüler pertürbe özellikli Volterra-Fredholm integral diferansiyel denklemin başlangıç değer problemi ADM ile yalnızca 10 iterasyon kullanılarak hızlı bir şekilde çözülmüştür. Yaklaşık çözüm grafik ile gösterilmiştir. Yakınsama analizi yapılmıştır. Yani α_i , $i=0,1,2,\dots$ değerlerinin 1'den küçük olduğu bulunmuştur. Tüm bu sonuçlara göre yöntem kararlı, güvenilir, zaman açısından ekonomik ve kullanışlıdır. Bu sonuçlara göre literatüre katkı sağlamak amacıyla ADM'nin gecikmeli, bulanık ve kesirli mertebedeki integral denklemlerine de uygulanabileceği önerilir.

KAYNAKLAR

- [1] Roos, H.G., Stynes, M., & Tobiska, L. (2008). *Robust numerical methods for singularly perturbed differential equations*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- [2] Doolan, E.R. Miller, J.J.H., & Schilders, W.H.A. (1980). *Uniform numerical methods for problems with initial and boundary layers*. Dublin: Boole Press.
- [3] Amiralıyev, G.M., & Amiralı, I. (2018). *Nümerik analiz teori ve uygulamalarla*. Ankara: Seçkin Yayıncılık.
- [4] Farrell, P.A.A., Hegarty, F.J.J., Miller, O'Riordan, H.E., & Shishkin, G.I. (2000). *Robust computational techniques for boundary layers*. New York: Chapman Hall/CRC.
- [5] Diekmann, O. (1978). Thresholds and travelling waves for the geographical spread of infection. *J. Math. Biol.*, 6 (2), 109-130.
- [6] Banifatemi, E., Razzaghi, M., & Youse, S. (2007). Two-dimensional Legendre wavelets method for the mixed Volterra-Fredholm integral equations. *J. Vib. Control*, 13, 1667-1675.
- [7] Brunner, H. (2018). *Numerical analysis and computational solution of integro-differential equations*. Contemporary Computational Mathematics, Springer, Cham. 2018.

- [8] Gülsu, M., Öztürk, Y., & Sezer, M. (2010). A new collocation method for solution of mixed linear integro-differential-difference equations. *Appl. Math. Comput.*, 216, 2183- 2198.
- [9] Maturi, D.A., & Simbawa, M. (2020). The modified decomposition method for solving Volterra Fredholm integro-differential equations using Maple. *Int. J. GEOMATE*, 18, 84-89.
- [10] Raftari, B., (2010). Numerical solutions of the linear Volterra integro-differential equations: Homotopy perturbation method and finite difference method. *World Appl. Sci. J.*, 9, 7-12.
- [11] Hamoud, A.A., & Ghadle, K.P. (2018). Existence and uniqueness of the solution for Volterra-Fredholm integro-differential equations. *J. Sib. Fed. Univ. - Math. Phys.*, 11, 692-701.
- [12] O'Malley, R.E. (1991). *Singular perturbations methods for ordinary differential equations*. New York: Springer-Verlag.
- [13] Durmaz, M.E., Yapman, Ö., Kudu, M., & Amiraliyev, G.M. (2023). An efficient numerical method for a singularly perturbed Volterra-Fredholm integro-differential equation. *Hacettepe Journal of Mathematics & Statistics*. 52, 326 – 339.
- [14] Dawood, L.A., Hamoud, A.A., & Mohammed, N.M. (2020). Laplace discrete decomposition method for solving nonlinear Volterra-Fredholm integro-differential equations. *J. Math. Computer Sci.*, 21, 158-163.
- [15] Mbroh, N.A., Oukouomi Noutchie, S.C., & M'pika Massoukou, R.Y. (2020). A second order finite difference scheme for singularly perturbed Volterra integro-differential equation. *Alex. Eng. J.*, 59, 2441-2447, 2020.
- [16] Adomian, G. (1992). A review of the decomposition method and some recent results for nonlinear equation. *Math. Comput. Model.*, 13, 17, 1992.
- [17] Adomian, G., & Rach, R. (1993). Analytic solution of nonlinear boundary-value problems in several dimensions by decomposition. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 174, 118-137.
- [18] Adomian, G. (1994). *Solving Frontier problems of physics: The decomposition method*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- [19] Cherruault, Y., & Adomian, G. (1993). Decomposition methods a new proof of convergence. *Mathematical and Computer modelling*, 18, 103- 106.
- [20] Cherruault, Y. (1989). *Convergence of Adomian's method*. *Kybernetes*, 18, 31–38.
- [21] El-Kalla, I. (2007). Error analysis of Adomian series solution to a class of non-linear differential equations. *Appl. Math E-Notes*, 7, 214-221.

BÖLÜM 12

V NEWTONYEN OLMAYAN MODÜLÜS FONKSİYONU ÜZERİNE

Murat Erdem YILMAZ¹
Prof. Dr. Birsen SAĞIR²

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye, Matematik Bölümü
ORCID:0000-0002-1921-3298

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye, Matematik Bölümü
ORCID:0000-0001-5954-2005

1. GİRİŞ

M.Grossman ve R.Katz 1967-1970 yılları arasında Newtonyen olmayan kalkülüs (*-kalkülüs) adı verilen yeni bir hesap tarzı kurmuşlardır. Öncelikle klasik hesap, geometrik hesap, kuadratik ve harmonik hesap içeren kalkülüsün bir sınıfını tanımlamışlardır.

α , reel sayılar kümesinin $P, R \subset \mathbb{R}(N)$ alt kümeleri arasında birebir ve örten bir fonksiyon olsun. $\mathbb{R}(N) = \{\alpha(s) : s \in \mathbb{R}\}$ olmak üzere aşağıda

verilen işlemler ve sıralama ile birlikte $\alpha: P \rightarrow R \subset \mathbb{R}(N)$ fonksiyonu üreteç adını alır ve α -aritmetik adı verilen bir aritmetik tanımlar.

Her $j, k \in \mathbb{R}(N)$ için

$$\begin{array}{ll} \alpha\text{-toplama} & j \dot{+} k = \alpha\{\alpha^{-1}(j) + \alpha^{-1}(k)\} \\ \alpha\text{-çıkarma} & j \dot{-} k = \alpha\{\alpha^{-1}(j) - \alpha^{-1}(k)\} \\ \alpha\text{-çarpma} & j \dot{\times} k = \alpha\{\alpha^{-1}(j) \times \alpha^{-1}(k)\} \\ \alpha\text{-bölme } (k \neq \dot{0}) & j \dot{/} k = \alpha\{\alpha^{-1}(j) / \alpha^{-1}(k)\} \\ \alpha\text{-sıralama} & j \dot{<} k \Leftrightarrow \alpha^{-1}(j) < \alpha^{-1}(k) \end{array}$$

Keyfi seçilmiş θ ve β üreteç fonksiyonları yardımıyla *-kalkülüs aritmetiklerin sıralı ikilisi (θ -aritmetik, β -aritmetik) olarak tanımlanmıştır. Fonksiyonların tanım kümesi *-kalkülüse göre θ -aritmetik üzerinde, değer kümesi β -aritmetik üzerindedir.

$\dot{0} \dot{<} s$ olan sayılar θ -pozitif, $s \dot{<} \dot{0}$ olanlar ise θ -negatif sayılardır. θ -bir sayısı $\dot{1} = \theta(1)$ olarak gösterilir. θ -tamsayılar, $\dot{0}$ sayısından ardışık olarak $\dot{1}$ sayısının θ -toplamasıyla ve $\dot{0}$ sayısından ardışık olarak $\dot{1}$ sayısının θ -çıkarmasıyla elde edilir.

θ -tamsayılar

$$\dots, \theta(-2), \theta(-1), \theta(0), \theta(1), \theta(2), \dots$$

şeklinindedir. Her bir k tamsayısı θ -aritmetiğine göre $\dot{k} = \alpha(k)$ ile gösterilir. Eğer \dot{k} bir θ -pozitif tamsayı ise

$$\dot{k} = \dot{1} \underbrace{\dot{+} \dot{1} \dot{+} \dots \dot{+} \dot{1}}_{k\text{-adet}}$$

olarak yazılır.

W kümesindeki her $m < n$ sayısı için $m \leq s \leq n$ koşulunu sağlayan $s \in W$ sayılarının kümesi θ -aralık olarak adlandırılır ve $[m, n]$ ile gösterilir. $[m, n]$ θ -aralığı $n - m$ θ -uzunluğa sahiptir.

Exp fonksiyonu ile üretilen aritmetiğe geometrik aritmetik denir. Geometrik aritmetiğe göre bazı semboller ve işlemler m ve n keyfi pozitif reel sayılar olmak üzere Tablo 1.1.'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Geometrik Aritmetik

Üreteç	exp
Evreni(realım)	\mathbb{R}^+
Geometrik sıfır	1
Geometrik bir	e
m ile n nin geometrik toplamı	$\exp\{\ln m + \ln n\} = m \cdot n$
m ile n nin geometrik farkı	$\exp\{\ln m - \ln n\} = m/n$
m ile n nin geometrik çarpımı	$\exp\{\ln m \cdot \ln n\} = m^{\ln n} = n^{\ln m}$
m ile n nin geometrik bölümü ($n \neq 1$)	$\exp\{\ln m / \ln n\} = m^{1/\ln n}$
Geometrik sıralama	Klasik sıralama ile özdeş
Geometrik pozitif sayılar	1 den büyük sayılar
Geometrik negatif sayılar	1 den küçük sayılar
Geometrik aralıklar	Pozitif aralıklarla özdeş

$[m, n]$ geometrik uzunluğu	n/m
-----------------------------	-------

Her $x \in \mathbb{R}$ için $q_p: \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}_q \subseteq \mathbb{R}$ fonksiyonu ve onun ters fonksiyonu q_p^{-1} olmak üzere

$$q_p(x) = \begin{cases} x^{\frac{1}{p}}, & x > 0 \\ 0, & x = 0 \\ -(-x)^{\frac{1}{p}}, & x < 0 \end{cases} \quad \text{ve} \quad q_p^{-1}(x) = \begin{cases} x^p, & x > 0 \\ 0, & x = 0 \\ -(-x)^p, & x < 0 \end{cases}$$

şeklinde tanımlanan q -üreteç fonksiyonlarına sırasıyla p .kök ve p .kuvvet üreteçleri denir. Bu üreteçler yardımıyla q_p -aritmetik diye adlandırılan bir alt $\theta(x) = q_p(x)$ sınıfı elde edilir (Grossman, 1979).

$p = 2$ ve $p = -1$ durumlarında sırasıyla q -kuadratik aritmetik ve q -harmonik aritmetik elde edilir.

$\mathbb{R}(N) = \{\theta(k): k \in \mathbb{R}\}$ kümesine Newtonyen olmayan reel sayı kümesi denir. Newtonyen olmayan reel sayı kümesi $\mathbb{R}(N)$ için $(+)$ toplama ve (\times) çarpma ikili işlemleri ile \leq sıralama bağıntısı aşağıdaki gibi tanımlanır.

$$\begin{aligned} \dot{+}: \mathbb{R}(N) \times \mathbb{R}(N) &\rightarrow \mathbb{R}(N) \\ (j, k) &\rightarrow j \dot{+} k = \theta\{\theta^{-1}(j) + \theta^{-1}(k)\} \\ \dot{\times}: \mathbb{R}(N) \times \mathbb{R}(N) &\rightarrow \mathbb{R}(N) \\ (j, k) &\rightarrow j \dot{\times} k = \theta\{\theta^{-1}(j) \times \theta^{-1}(k)\} \\ \dot{\leq}: j, k \in \mathbb{R}(N), j &\dot{\leq} k \Leftrightarrow \theta^{-1}(j) \leq \theta^{-1}(k) \end{aligned}$$

Teorem 1.1. $(\mathbb{R}(N), \dot{+}, \dot{\times}, \dot{\leq})$ tam sıralı cisimdir (Duyar & Erdoğan , 2016).

$h, j, k, t \in \mathbb{R}(N)$ olmak üzere aşağıdaki eşitsizlikler vardır:

1. $h \dot{\leq} j$ ise $h \dot{+} k \dot{\leq} j \dot{+} k$ ve $h \dot{-} k \dot{\leq} j \dot{-} k$,
2. $h \dot{\leq} j$ ve $k \dot{\leq} t$ ise $h \dot{+} k \dot{\leq} j \dot{+} t$ ve $h \dot{-} t \dot{\leq} j \dot{-} k$,
3. $h \dot{\leq} j$ ve $0 \dot{<} k$ ise $h \dot{\times} k \dot{\leq} j \dot{\times} k$ ve $\frac{h}{k} N \dot{\leq} \frac{j}{k} N$,

$$4. \dot{0} \dot{<} h, j \text{ ve } h \dot{\leq} j \text{ ise } \frac{1}{j}N \dot{\leq} \frac{1}{h}N,$$

$$5. h \dot{\leq} j \text{ ise } \dot{0} \dot{-} j \dot{\leq} \dot{0} \dot{-} h$$

$k \in \mathbb{R}(N)_\theta$ olmak üzere $k^{p\theta} = \theta\{[\theta(k)]^p\}$ ve $\sqrt[p]{k}^\theta = \theta\left(\sqrt[p]{\theta^{-1}(k)}\right)$ ile tanımlıdır.

$W \subset \mathbb{R}(N)$ kümesindeki bir k sayısının Newtonyen olmayan mutlak değeri $|k|_N$ ile gösterilir.

$$|k|_N = \begin{cases} k, & k \dot{>} \dot{0} \\ \dot{0}, & = \dot{0} \\ \dot{0} \dot{-} k, & k \dot{<} \dot{0} \end{cases}$$

şeklinde tanımlanır.

$h, j, k, t \in \mathbb{R}(N), d \in \mathbb{N}$ ve $k, t \neq \dot{0}$ olmak üzere aşağıdaki eşitlikler vardır.

$$1. \frac{h}{k}N \dot{+} \frac{j}{t}N = \frac{(h \dot{\times} t) \dot{+} (j \dot{\times} k)}{k \dot{\times} t}N,$$

$$2. \frac{h}{k}N \dot{-} \frac{j}{t}N = \frac{(h \dot{\times} t) \dot{-} (j \dot{\times} k)}{k \dot{\times} t}N,$$

$$3. \frac{h}{k}N \dot{\times} \frac{j}{t}N = \frac{h \dot{\times} j}{k \dot{\times} t}N,$$

$$4. j \neq \dot{0} \text{ olmak üzere } \frac{\frac{h}{k}N}{\frac{j}{t}N} = \frac{h}{k}N \dot{\times} \frac{t}{j}N \frac{h \dot{\times} t}{k \dot{\times} j}N,$$

$$5. \left(\frac{h}{k}N\right)^{pN} = \frac{h^{pN}}{k^{pN}}N,$$

$$6. (h \dot{\times} j)^{pN} = h^{pN} \dot{\times} j^{pN},$$

$$7. h^{2N} \dot{-} j^{2N} = (h \dot{-} j) \dot{\times} (h \dot{+} j)$$

$h, j \in \mathbb{R}(N)$ olmak üzere aşağıdaki özellikler vardır:

$$1. |h|_N \dot{\leq} j \Leftrightarrow \dot{0} \dot{-} j \dot{\leq} h \dot{\leq} j,$$

$$2. |h \dot{\times} j|_N = |h|_N \dot{\times} |j|_N,$$

3. $j \neq \dot{0}$ olmak üzere $\left| \frac{h}{j} N \right|_N = \frac{|h|_N}{|j|_N} N$ dir.

4. $|h \dot{+} j|_N \leq |h|_N \dot{+} |j|_N$

5. $||h|_N \dot{-} |j|_N|_N \leq |h \dot{-} j|_N$

Önerme 1.2. $s, t \in \mathbb{R}(N)$ için aşağıdaki eşitsizlik vardır:

$$\frac{|s \dot{+} t|_N}{\dot{1} \dot{+} |s \dot{+} t|_N} N \leq \frac{|s|_N}{\dot{1} \dot{+} |s|_N} N \dot{+} \frac{|t|_N}{\dot{1} \dot{+} |t|_N} N$$

Teorem 1.3. $0 < r \leq 1$ ve $h, j \geq \dot{0}$ ise

$$(h \dot{+} j)^{rN} \leq h^{rN} \dot{+} j^{rN}$$

eşitsizliği vardır.

θ ve β keyfi seçilmiş üreteçler ve $*$ (yıldız) ise aritmetiklerin sıralı ikilisi (θ -aritmetik, β -aritmetik) olarak tanımlansın. Tablo 1.2.'deki semboller ilerleyen kısımlarda kullanılacaktır.

Tablo 1.2. *-Kalkülüs

	θ -aritmetik	β -aritmetik
Evreni(realm)	$\psi = \mathbb{R}_\alpha$	$\phi = \mathbb{R}_\beta$
Toplama	$\dot{+}$	$\ddot{+}$
Çıkarma	$\dot{-}$	$\ddot{-}$
Çarpma	$\dot{\times}$	$\ddot{\times}$
Bölme	$\dot{/}$	$\ddot{/}$
Sıralama	$\dot{<}$	$\ddot{<}$

*-Kalkülüse göre fonksiyonların tanım kümesi θ -aritmetik üzerinde, değer kümesi β -aritmetik üzerindedir. Aşağıdaki üç özelliği sağlayan izomorfizm, θ -aritmetikten β -aritmetiğe giden tek bir ι (iota) fonksiyonu ile belirlidir.

1. ι birebirdir.
2. $\iota \psi$ den ϕ ye örtendir.

3. ψ kümesindeki herhangi h ve j sayıları için;

$$\begin{aligned}\iota(h+j) &= \iota(h) \dot{+} \iota(j), \\ \iota(h-j) &= \iota(h) \dot{-} \iota(j), \\ \iota(h \times j) &= \iota(h) \dot{\times} \iota(j), \\ \iota(h/j) &= \iota(h) \dot{/} \iota(j), \quad j \neq \dot{0}, \iota(j) \neq \dot{0} \\ h \dot{<} j &\Leftrightarrow \iota(h) \dot{<} \iota(j)\end{aligned}$$

$\theta: \mathbb{R} \rightarrow \psi, \beta: \mathbb{R} \rightarrow \phi$ olduğundan ι izomorfizma fonksiyonu her $s \in \psi$ için $\iota(s) = \beta\{\theta^{-1}(s)\}$ olarak yazılır ve her k tamsayısı için $\iota(\dot{k}) = \dot{k}$ dir.

θ ve β üreteçlerinin özel olarak seçimiyle klasik, geometrik, anageometrik, bigeometrik, quadratik, anaquadratik ve biquadratik kalkülüs Tablo 1.3’de verilmiştir (Grossman, 1979).

Tablo 1.3. Özel Kalkülüsler

Kalkülüs	θ	β
Klasik	I	I
Geometrik	I	exp
Anageometrik	exp	I
Bigeometrik	exp	exp
Qadratik	I	q_p
Anaquadratik	q_p	I
Biquadratik	q_p	q_p

$X \subset \mathbb{R}_\theta, g: X \rightarrow \mathbb{R}_\beta$ bir fonksiyon ve $k \in X$ noktası verilsin. Herhangi $\varepsilon > 0$ sayısına karşılık $|j \dot{-} k|_\theta < \delta$ olan her $j \in X$ için $|g(j) \dot{-} g(k)|_\beta < \varepsilon$ olacak

şekilde en az bir $\delta = \delta(\varepsilon) > 0$ sayısı bulunabiliyorsa g fonksiyonuna $k \in X$ noktasında $*$ -süreklidir denir (Sağır&Erdoğan, 2016).

Bir g fonksiyonunun $k \in X$ noktasında $*$ -sürekliliği için gerekli ve yeterli şart $k \in X$ noktasının g fonksiyonunun tanım kümesinin elemanı ve $*$ - $\lim_{j \rightarrow k} g(j) = g(k)$ olmasıdır (Sağır&Erdoğan, 2016).

Bir g fonksiyonunun $k \in X$ noktasında $*$ -sağdan sürekliliği için gerekli ve yeterli şart $k \in X$ noktasının g fonksiyonunun tanım kümesinin elemanı ve $*$ - $\lim_{x \rightarrow k^+} g(x) = g(k)$ olmasıdır (Sağır&Erdoğan, 2016).

Bir $g: X \subset \mathbb{R}_\theta \rightarrow \mathbb{R}_\beta$ fonksiyonu $j_1 < j_2$ olmak üzere her $j_1, j_2 \in X$ için $g(j_1) < g(j_2)$ ($g(j_1) > g(j_2)$) oluyorsa, g fonksiyonuna $*$ -artan($*$ -azalan) fonksiyon denir (Duyar&Erdoğan, 2018).

$\mathbb{R}(N)$ Newtonyen olmayan reel sayılar kümesinde θ -artı (pozitif) sonsuz $+\infty = \lim_{k \rightarrow \infty} \theta(k)$, θ -eksi (negatif) sonsuz ise $-\infty = \lim_{k \rightarrow -\infty} \theta(k)$ olarak tanımlanır.

Bu tanımdan yola çıkarak $\mathbb{R}(N)$ Newtonyen olmayan reel sayılar kümesi, $\mathbb{R}(N) = \{\theta(k): k \in \mathbb{R}\} = (-\infty, +\infty)$ şeklinde θ -açık aralık olarak da ifade edilebilir (Duyar&Erdoğan, 2018).

Çakmak ve Başar (2012) Newtonyen olmayan kalkülüse göre reel dizi uzaylarını, Duyar vd. (2015) Newtonyen olmayan reel eksen üzerinde topolojik ve cebirsel özelliklerini, Güngör (2020) geometrik özelliklerini çalışmıştır. Newtonyen olmayan kalkülüse göre son zamanlarda yapılan diğer çalışmalar Duyar ve Erdoğan (2016); Duyar ve Oğur (2017); Oğur ve Demir (2019); Güngör (2022); Rohman ve Eryılmaz (2023); Işık ve Eryılmaz(2023); Değirmen ve Duyar(2023) dır.

Modülüs Fonksiyonu kavramı ilk kez 1953'te Nakano tarafından tanımlanmıştır. Daha sonraları Maddox (1986), Ruckle (1973) çalışmalarında geliştirilmiştir.

Bu çalışmada literatürde henüz rastlanmayan Newtonyen olmayan modülüs fonksiyonu tanımlanmış ve bazı özellikleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçları destekleyici örnekler verilmiştir.

2. BULGULAR VE TARTIŞMA

2.1. Newtonyen Olmayan Modülüs Fonksiyonu

Tanım 2.1.1. $h: [\dot{0}, \dot{+\infty}) \rightarrow [\ddot{0}, \dot{+\infty})$ fonksiyonu aşağıdaki koşulları sağlıyorsa bu fonksiyona Newtonyen olmayan modülüs (*-modülüs) fonksiyonu denir.

Her $\dot{\eta}, \dot{\omega} \in [\dot{0}, \dot{+\infty})$ için

I. $h(\dot{\eta}) = \ddot{0} \Leftrightarrow \dot{\eta} = \dot{0}$

II. $h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) \leq h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega})$

III. h , *-artandır.

IV. $h, \dot{0}$ noktasında sağdan *-süreklidir.

Örnek olarak 2.1.1.Tanımındaki **II.** koşulunu geometrik, anageometrik, bigeometrik, biquadratik(QQ), anaquadratik(QI) ve quadratik(IQ) kalkülüslerine göre irdeleyelim:

Geometrik modülüse göre $\alpha = I$ ve $\beta = \exp$ olduğundan

$$\dot{\eta} = I(\eta) = \eta, \dot{\omega} = I(\omega) = \omega \text{ olup}$$

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) &= h(\eta \dot{+} \omega) = h(\eta + \omega) \text{ ve} \\ h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= \exp\{\ln(h(\eta)) + \ln(h(\omega))\} \\ &= \exp\{\ln(h(\eta) \cdot h(\omega))\} = h(\eta) \cdot h(\omega) \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(\eta + \omega) \leq h(\eta) \cdot h(\omega)$$

elde edilir.

Anageometrik modülüse göre $\alpha = \exp$ ve $\beta = I$ olduğundan $\dot{\eta} = \exp(\eta) = e^\eta, \dot{\omega} = \exp(\omega) = e^\omega$ olup

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) &= h(e^\eta \dot{+} e^\omega) = h(e^\eta \cdot e^\omega) \text{ ve} \\ h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= I\{I^{-1}(h(e^\eta)) + I^{-1}(h(e^\omega))\} \end{aligned}$$

$$= I\{(h(e^\eta) + h(e^\omega))\} = h(e^\eta) + h(e^\omega)$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(e^\eta \cdot e^\omega) \preceq h(e^\eta) + h(e^\omega)$$

elde edilir.

Bigeometrik modülüse göre $\alpha = \exp, \beta = \exp$ olduğundan

$$\dot{\eta} = \exp(\eta) = e^\eta, \dot{\omega} = \exp(\omega) = e^\omega \text{ olup}$$

$$h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) = h(e^\eta \dot{+} e^\omega) = h(e^\eta \cdot e^\omega) \text{ ve}$$

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= \exp\{\ln(h(e^\eta)) + \ln(h(e^\omega))\} \\ &= \exp\{\ln(h(e^\eta) \cdot h(e^\omega))\} = h(e^\eta) \cdot h(e^\omega) \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(e^\eta \cdot e^\omega) \preceq h(e^\eta) \cdot h(e^\omega)$$

elde edilir.

Biquadratik (QQ) modülüse göre $\alpha = q_p, \beta = q_p$ olup $\dot{\eta} = \dot{\omega} = \dot{0}$ alınırsa $q_p(0) = 0$ dır.

$$h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) = h(\dot{0} \dot{+} \dot{0}) = h(0 \dot{+} 0) = h(0 + 0) = h(0) \text{ ve}$$

$$h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) = q_p\{q_p^{-1}(h(0)) + q_p^{-1}(h(0))\} = q_p\{0 + 0\} = 0$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(0) \preceq 0$$

elde edilir. $\dot{\eta} = \dot{0}, \dot{\omega} \succ \dot{0}$ alınırsa bu durumda $q_p(\dot{0}) = 0, \dot{\omega} = q_p(\omega) = \omega^{1/p}, q_p^{-1}(\omega) = \omega^p$ ve $q_p^{-1}(\eta) = 0$ olup h *-artan olduğundan

$$h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) = h(\dot{0} \dot{+} \omega^{1/p}) = h(\omega^{1/p}) \text{ ve}$$

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= q_p\{q_p^{-1}(h(0)) + q_p^{-1}(h(\omega^{1/p}))\} \\ &= q_p\{0 + h^p(\omega^{1/p})\} = q_p\{h^p(\omega^{1/p})\} \\ &= h(\omega^{1/p}) \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(\omega^{1/p}) \preceq h(\omega^{1/p})$$

elde edilir. $\dot{\eta}, \dot{\omega} \in (\dot{0}, \dot{+\infty})$ alınırsa bu durumda $\dot{\omega} = q_p(\omega) = \omega^{1/p}$, $\dot{\eta} = q_p(\eta) = \eta^{1/p}$, $q_p^{-1}(\omega) = \omega^p$ ve $q_p^{-1}(\eta) = \eta^p$ olup

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) &= h(\eta^{1/p} \dot{+} \omega^{1/p}) = h((\eta + \omega)^{1/p}) \text{ ve} \\ h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= q_p \left\{ q_p^{-1} \left(h(\eta^{1/p}) \right) + q_p^{-1} \left(h(\omega^{1/p}) \right) \right\} \\ &= q_p \left\{ h^p(\eta^{1/p}) + h^p(\omega^{1/p}) \right\} = \left[h^p(\eta^{1/p}) + h^p(\omega^{1/p}) \right]^{1/p} \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h \left((\eta + \omega)^{\frac{1}{p}} \right) \lesseqgtr \left[h^p \left(\eta^{\frac{1}{p}} \right) + h^p \left(\omega^{\frac{1}{p}} \right) \right]^{\frac{1}{p}}$$

elde edilir.

Anaquadratik (QI) modülüse göre $\alpha = q_p, \beta = I$ olup $\dot{\eta} = \dot{\omega} = \dot{0}$ alınırsa $q_p(0) = 0$ dır.

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) &= h(\dot{0} \dot{+} \dot{0}) = h(0 \dot{+} 0) = h(0 + 0) = h(0), \\ h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= I \{ I^{-1}(h(0)) + I^{-1}(h(0)) \} = I \{ 0 + 0 \} = 0 \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(0) \lesseqgtr 0$$

elde edilir. $\dot{\eta} = \dot{0}, \dot{\omega} \dot{>} \dot{0}$ alınırsa bu durumda $q_p(\dot{0}) = 0$, $\dot{\omega} = q_p(\omega) = \omega^{1/p}$ h^* -artan olduğundan

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) &= h(\dot{0} \dot{+} \omega^{1/p}) = h(\omega^{1/p}) \text{ ve} \\ h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= I \left\{ I^{-1}(h(0)) + I^{-1} \left(h(\omega^{1/p}) \right) \right\} = I \{ 0 + h(\omega^{1/p}) \} \\ &= h \left(\omega^{\frac{1}{p}} \right) \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(\omega^{1/p}) \lesseqgtr h(\omega^{1/p})$$

elde edilir. $\dot{\eta}, \dot{\omega} \in (\dot{0}, \dot{+\infty})$ alınırsa bu durumda $\dot{\omega} = q_p(\omega) = \omega^{1/p}$, $\dot{\eta} = q_p(\eta) = \eta^{1/p}$ olup

$$h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) = h(\eta^{1/p} \dot{+} \omega^{1/p}) = h((\eta + \omega)^{1/p}) \text{ ve}$$

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= I \left\{ I^{-1} \left(h(\eta^{1/p}) \right) + I^{-1} \left(h(\omega^{1/p}) \right) \right\} \\ &= I \{ h(\eta^{1/p}) + h(\omega^{1/p}) \} = h(\eta^{1/p}) + h(\omega^{1/p}) \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h((\eta + \omega)^{1/p}) \dot{\leq} h(\eta^{1/p}) + h(\omega^{1/p})$$

elde edilir.

Quadratik (IQ) modülüse göre $\alpha = I, \beta = q_p$ olup $\dot{\eta} = \dot{\omega} = \dot{0}$ alındığında

$$h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) = h(\dot{0} \dot{+} \dot{0}) = h(0 \dot{+} 0) = h(0 + 0) = h(0) \text{ ve}$$

$$h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) = q_p \{ q_p^{-1}(h(0)) + q_p^{-1}(h(0)) \} = q_p \{ 0 + 0 \} = 0$$

Bu ikisi birleştirilirse

$$h(0) \dot{\leq} 0$$

elde edilir. $\dot{\eta} = \dot{0}, \dot{\omega} \dot{>} \dot{0}$ durumunda

$$h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) = h(\dot{0} \dot{+} \dot{\omega}) = h(0 + \omega) = h(\omega) \text{ ve}$$

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= q_p \{ q_p^{-1}(h(0)) + q_p^{-1}(h(\omega)) \} \\ &= q_p \{ 0 + h^p(\omega) \} = q_p \{ h^p(\omega) \} = h(\omega) \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirildiğinde

$$h(\omega) \dot{\leq} h(\omega)$$

elde edilir. $\dot{\eta}, \dot{\omega} \in (\dot{0}, \dot{+}\infty)$ durumunda ise $\dot{\eta} = I(\eta) = \eta, \dot{\omega} = I(\omega) = \omega$, h *-artan olup

$$h(\dot{\eta} \dot{+} \dot{\omega}) = h(\eta \dot{+} \omega) = h(\eta + \omega) \text{ ve}$$

$$\begin{aligned} h(\dot{\eta}) \dot{+} h(\dot{\omega}) &= q_p \{ q_p^{-1}(h(\eta)) + q_p^{-1}(h(\omega)) \} \\ &= q_p \{ h^p(\eta) + h^p(\omega) \} = [\{ h^p(\eta) + h^p(\omega) \}]^{1/p} \end{aligned}$$

Bu ikisi birleştirildiğinde

$$h(\eta + \omega) \dot{\leq} [\{ h^p(\eta) + h^p(\omega) \}]^{1/p}$$

elde edilir.

Tanım 2.1.2. (*-sınırlı fonksiyon) : $h: \mathbb{R}_\alpha \rightarrow \mathbb{R}_\beta$ bir fonksiyon olsun. Her $s \in \mathbb{R}_\alpha$ için $|h(s)|_\beta \dot{\leq} \iota(\dot{P})$ olacak şekilde bir $\dot{P} \dot{>} \dot{0}$ sayısı varsa h fonksiyonuna *-

sınırlı fonksiyon denir. Burada $\iota(\dot{P}) = \ddot{P}$ olarak da alınabilir. Aksi halde *-sınırsız fonksiyon adını alır.

Tanım 2.1.3. $h: \mathbb{R}_\alpha \rightarrow \mathbb{R}_\beta$ fonksiyonu verilsin. Eğer verilen her $E \succ \ddot{0}$ sayısına karşılık $s \succ P$ olan her $s \in \mathbb{R}_\alpha$ için $h(s) \succ E$ olacak şekilde bir $P \succ \dot{0}$ sayısı varsa h nin $+\infty$ daki limiti $+\infty$ dur denir ve bu durum $*-\lim_{s \rightarrow +\infty} h(s) = +\infty$ şeklinde gösterilir.

Newtonyen olmayan modülüs fonksiyonları *-sınırlı veya *-sınırsız olabilir. Bununla ilgili aşağıdaki iki örnek verilsin:

Örnek 2.1.4. $0 < r \leq 1$ için $h: [\dot{0}, +\infty) \rightarrow [\ddot{0}, +\infty)$, $h(\dot{s}) = [\iota(\dot{s})]^{r\beta}$ ile tanımlı h fonksiyonu *-sınırsız Newtonyen olmayan modülüs fonksiyonudur:

$$\text{I. } h(\dot{s}) = [\iota(\dot{s})]^{r\beta} = \ddot{0} \Rightarrow (\dot{s})^{r\beta} = \ddot{0} \Rightarrow \beta\{[\beta^{-1}(\dot{s})]^r\} = \ddot{0} \Rightarrow \beta(s^r) = \beta(0) \Rightarrow s^r = 0 \Rightarrow s = 0 \Rightarrow \alpha(s) = \alpha(0) \Rightarrow \dot{s} = \dot{0}$$

bulunur.

Tersine $\dot{s} = \dot{0}$ olsun. Bu durumda

$$h(\dot{0}) = [\iota(\dot{0})]^{r\beta} = (\ddot{0})^r = \beta\{[\beta^{-1}(\ddot{0})]^r\} = \beta\{0^r\} = \beta\{0\} = \ddot{0}$$

elde edilir.

II. Teorem 1.3. gereği

$$[\iota(\dot{s}) + \iota(\dot{t})]^{r\beta} \preceq [\iota(\dot{s})]^{r\beta} + [\iota(\dot{t})]^{r\beta}$$

olup, böylece *-modülüs fonksiyonu olmanın **II.** koşulu sağlanır.

III. Her $\dot{s}, \dot{t} \in [\dot{0}, +\infty)$ için $\dot{s} \prec \dot{t}$ olsun. ι , *-artan fonksiyon olduğundan $\iota(\dot{s}) \prec \iota(\dot{t})$ olduğunda

$$[\iota(\dot{s})]^{r\beta} \prec [\iota(\dot{t})]^{r\beta}$$

olup, h *-artandır.

IV. Herhangi $\varepsilon \succ \ddot{0}$ sayısına karşılık $\dot{s} \prec \delta$ olan her $\dot{s} \in [\dot{0}, +\infty)$ için $[\iota(\dot{s})]^{r\beta} \prec \varepsilon$ olacak şekilde en az bir $\delta = \delta(\varepsilon) \succ \dot{0}$ sayısının varlığı gösterilirse istenen elde edilir.

Bunun için ι fonksiyonunun *-artan özelliği kullanılırsa

$$\dot{s} \prec \delta \Rightarrow \iota(\dot{s}) \prec \iota(\delta) \Rightarrow [\iota(\dot{s})]^{r\beta} \prec [\iota(\delta)]^{r\beta}$$

olup $\delta = \iota^{-1} \left\{ \sqrt[r]{\varepsilon^{-\beta}} \right\}$ alınırsa istenen elde edilir.

Herhangi $E \succ \ddot{0}$ sayısına karşılık bir $P \succ \dot{0}$ sayısı vardır öyle ki $\dot{s} \succ P$ olan her $\dot{s} \in [\dot{0}, +\infty)$ için $[\iota(\dot{s})]^{r\beta} \succ E$ olduğunu gösterelim:

Keyfi $E \succ \ddot{0}$ sayısını alalım. $\dot{s} \succ P$ olmak üzere $\dot{s} \geq \dot{0}$ sayısını alalım. ι fonksiyonunun özelliği kullanılırsa

$$\dot{s} \succ P \Rightarrow \iota(\dot{s}) \succ \iota(P) \Rightarrow [\iota(\dot{s})]^{r\beta} \succ [\iota(P)]^{r\beta} = E$$

olup $P = \iota^{-1} \left\{ \sqrt[r]{E^{-\beta}} \right\}$ alınırsa $[\iota(\dot{s})]^{r\beta} \succ E$ olur. Dolayısıyla h , *-sınırsız Newtonyen olmayan modülüs fonksiyonudur.

Örnek 2.1.5. $h: [\dot{0}, +\infty) \rightarrow [\ddot{0}, +\infty)$, $h(\dot{s}) = \frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{1}) + \iota(\dot{s})} \beta$ ile tanımlı h fonksiyonu *-sınırlı Newtonyen olmayan modülüs fonksiyonudur:

ι fonksiyonunun özellikleri kullanılırsa

$$\text{I. } h(\dot{s}) = \frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{1}) + \iota(\dot{s})} \beta = \ddot{0} = \beta(0) = \iota(\dot{0}) \Rightarrow \iota(\dot{s}) = \iota(\dot{0}) \Rightarrow \dot{s} = \dot{0}$$

bulunur.

Tersine $\dot{s} = \dot{0}$ olsun. Bu durumda

$$\iota(\dot{s}) = \iota(\dot{0}) = \beta(0) = \ddot{0} \Rightarrow h(\dot{0}) = \ddot{0}$$

elde edilir.

II. Önerme 1.2. gereği

$$\frac{\dot{s} + \dot{t}}{\dot{1} + (\dot{s} + \dot{t})} \alpha \leq \frac{\dot{s}}{\dot{1} + \dot{s}} \alpha + \frac{\dot{t}}{\dot{1} + \dot{t}} \alpha$$

olup, böylece *-modülüs fonksiyonu olmanın **II.** koşulu sağlanır.

III. Her $\dot{s}, \dot{t} \in [\dot{0}, +\infty)$ için $\dot{s} < \dot{t}$ iken $h(\dot{s}) < h(\dot{t})$ olduğunu gösterelim:

Aksi halde $h(\dot{s}) \geq h(\dot{t})$ olsun. Bu durumda

$$\begin{aligned} \frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{1}) + \iota(\dot{s})} \beta &\geq \frac{\iota(\dot{t})}{\iota(\dot{1}) + \iota(\dot{t})} \beta \\ \frac{\iota(\dot{1}) + \iota(\dot{s})}{\iota(\dot{s})} \beta &\leq \frac{\iota(\dot{1}) + \iota(\dot{t})}{\iota(\dot{t})} \beta \\ \frac{\iota(\dot{1})}{\iota(\dot{s})} \beta + \dot{1} &\leq \frac{\iota(\dot{1})}{\iota(\dot{t})} \beta + \dot{1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{1})}\beta &\stackrel{\cdot}{\geq} \frac{\iota(\dot{t})}{\iota(\dot{1})}\beta \\ \iota(\dot{s}) &\stackrel{\cdot}{\geq} \iota(\dot{t}) \\ \dot{s} &\stackrel{\cdot}{\geq} \dot{t}\end{aligned}$$

olur ki bu $\dot{s} < \dot{t}$ ile çelişir. Dolayısıyla $h(\dot{s}) < h(\dot{t})$ olup $h, *$ -artandır.

IV. Herhangi $\varepsilon > \dot{0}$ sayısına karşılık $\dot{s} < \delta$ olan her $\dot{s} \in [\dot{0}, +\infty)$ için $\frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{1})+\iota(\dot{s})}\beta < \varepsilon$ olacak şekilde en az bir $\delta = \delta(\varepsilon) > \dot{0}$ sayısının varlığını gösterelim:

Bunun için ι fonksiyonunun özelliği kullanılırsa

$$\dot{s} < \delta \text{ iken } \iota(\dot{s}) < \iota(\delta) \text{ olup } \frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{1})+\iota(\dot{s})}\beta < \iota(\dot{s}) < \iota(\delta)$$

bulunur. $\delta = \iota^{-1}\{\varepsilon\}$ seçilirse istenen elde edilir.

$$\begin{aligned}\text{Her } \dot{s} \in [\dot{0}, +\infty) \text{ için } \left| \frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{1})+\iota(\dot{s})}\beta \right|_{\beta} &\stackrel{\cdot}{\leq} \left| \frac{\iota(\dot{s})}{\iota(\dot{s})}\beta \right|_{\beta} \\ &\stackrel{\cdot}{\leq} \dot{1}\end{aligned}$$

olduğundan $h, *$ -sınırlı Newtonyen olmayan modülüs fonksiyonudur.

Tanım 2.1.6. β aritmetiğe göre bir \dot{b} elemanının yine β aritmetiğe göre \dot{s} kuvveti, \dot{b} nın β aritmetiğe göre s_{β} kuvveti olarak tanımlanır ve $(\dot{b})^{\dot{s}} = (\dot{b})^{s_{\beta}}$ olarak yazılır.

Tanım 2.1.7. ($*$ -Üstel Fonksiyon): $h: \mathbb{R}_{\alpha} \rightarrow \mathbb{R}_{\beta}^{+}$, $\dot{b} \in \mathbb{R}_{\beta}^{+} - \{\dot{1}\}$ olmak üzere $h(\dot{s}) = (\dot{b})^{\dot{s}} = (\dot{b})^{s_{\beta}}$ ile tanımlı h fonksiyonuna $*$ -üstel fonksiyon denir.

Önerme 2.1.8. $\dot{b} \in \mathbb{R}_{\beta}^{+} - \{\dot{1}\}$ ve $\dot{m}, \dot{n} \in \mathbb{R}_{\beta}$ olmak üzere $h(\dot{s}) = (\dot{b})^{\dot{s}}$ ile tanımlı $*$ -üstel fonksiyon aşağıdaki özellikleri sağlar:

$$\text{i. } (\dot{b})^{\dot{m}} \times (\dot{b})^{\dot{n}} = (\dot{b})^{\dot{m}+\dot{n}} \text{ ve } \frac{(\dot{b})^{\dot{m}}}{(\dot{b})^{\dot{n}}}\beta = (\dot{b})^{\dot{m}-\dot{n}}$$

ii. $\dot{b} > \dot{1}$ için h $*$ -artan, $\dot{0} < \dot{b} < \dot{1}$ için h $*$ -azalan bir fonksiyondur.

İspat: i. $\dot{m}, \dot{n} \in \mathbb{Z}_{\beta}^{+}$ için

$$(\dot{b})^{\dot{m}} \times (\dot{b})^{\dot{n}} = \underbrace{(\dot{b} \times \dot{b} \dots \times \dot{b})}_{m\text{-defa}} \times \underbrace{(\dot{b} \times \dot{b} \dots \times \dot{b})}_{n\text{-defa}} = (\dot{b})^{\dot{m}+\dot{n}}$$

elde edilir. Diğer taraftan benzer mantıkla

$$\frac{(\ddot{b})^{\ddot{m}}}{(\ddot{b})^{\ddot{n}}} \beta = \underbrace{(\ddot{b} \ddot{x} \ddot{b} \dots \ddot{x} \ddot{b})}_{m-\text{ defa}} / \underbrace{(\ddot{b} \ddot{x} \ddot{b} \dots \ddot{x} \ddot{b})}_{n-\text{ defa}} = (\ddot{b})^{\ddot{m}-\ddot{n}}$$

dir. $\ddot{m}, \ddot{n} \in \mathbb{R}_\beta$ olduğunda eşitliğin ispatı klasik kalkülüsteki ispata benzer yapılabilir.

ii. $\ddot{b} \succ \ddot{1}$, $\dot{s}, \dot{t} \in \mathbb{R}_\alpha$ ve $\dot{s} < \dot{t}$ için

$$h(\dot{t}) = (\ddot{b})^{\dot{t}} = (\ddot{b})^{\dot{t}-\dot{s}} \times (\ddot{b})^{\dot{s}} \succ (\ddot{b})^{\dot{s}} \Rightarrow (\ddot{b})^{\dot{t}} \succ (\ddot{b})^{\dot{s}}$$

olduğundan h *-artandır.

$\ddot{0} < \ddot{b} < \ddot{1}$ için $\dot{s} < \dot{t}$ olsun.

$$h(\dot{t}) = (\ddot{b})^{\dot{t}} = (\ddot{b})^{\dot{t}-\dot{s}} \times (\ddot{b})^{\dot{s}} < (\ddot{b})^{\dot{s}}$$

olup h *-azalandır.

Tanım 2.1.9. (*-Logaritma Fonksiyonu): $\dot{b} \in \mathbb{R}_\alpha^+ - \{\dot{1}\}$ ve $\ddot{b} \in \mathbb{R}_\beta^+ - \{\ddot{1}\}$

olmak üzere $*\log: \mathbb{R}_\alpha^+ \rightarrow \mathbb{R}_\beta$, $*\log_b \dot{s} = \dot{t}: \Leftrightarrow \dot{s} = (\ddot{b})^{\dot{t}\beta}$ ile tanımlı fonksiyona *-kalkülüse göre logaritma fonksiyonu denir ve $*\log$ ile gösterilir.

*-Kalkülüse göre üstel fonksiyonun özellikleri kullanılırsa aşağıdaki önerme kolayca elde edilir.

Önerme 2.1.10. $\dot{b} \in \mathbb{R}_\alpha^+ - \{\dot{1}\}$ ve $\ddot{b} \in \mathbb{R}_\beta^+ - \{\ddot{1}\}$, $\dot{m}, \dot{n} \in \mathbb{R}_\alpha^+$ olmak üzere $*\log$ fonksiyonu aşağıdaki özelliklere sahiptir:

i. $*\log_b \dot{1} = \ddot{0}$ ve $*\log_b \dot{b} = \ddot{1}$

ii. $*\log_b(\dot{m} \times \dot{n}) = *\log_b \dot{m} + *\log_b \dot{n}$ ve

$$*\log_b \left(\frac{\dot{m}}{\dot{n}} \alpha \right) = *\log_b \dot{m} - *\log_b \dot{n}$$

iii. $*\log$ fonksiyonu $\dot{b} > \dot{1}$ için *-artan $\ddot{0} < \ddot{b} < \ddot{1}$ için *-azalan bir fonksiyondur.

İspat: i. $*\log_b \dot{1} = \dot{t}$ olsun. Bu durumda $(\ddot{b})^{\dot{t}\beta} = \dot{1}$ olur. Buradan $\dot{t} = \ddot{0}$ elde edilir.

Diğer taraftan $*\log_b \dot{b} = \dot{t}$ olsun. Buradan $(\ddot{b})^{\dot{t}\beta} = \ddot{b}$ olup

$\dot{t} = \ddot{1}$ elde edilir.

ii. $*\log_b \dot{m} = \dot{k}$ ve $*\log_b \dot{n} = \dot{l}$ olsun. Buradan

$$(\ddot{b})^{k\beta} = \ddot{m} \text{ ve } (\ddot{b})^{l\beta} = \ddot{n}$$

yazılır. Eşitlikler taraf tarafa β -çarpılırsa

$$\ddot{m}\ddot{x}\ddot{n} = (\ddot{b})^{k\beta}\ddot{x}(\ddot{b})^{l\beta} = (\ddot{b})^{k+l\beta} \Rightarrow \ddot{k}+\ddot{l} = * \log_{\ddot{b}}(\ddot{m}\ddot{x}\ddot{n})$$

elde edilir.

Benzer mantık \ddot{m} ve \ddot{n} için β -bölme yapılırsa

$$\frac{\ddot{m}}{\ddot{n}}\beta = \frac{(\ddot{b})^{k\beta}}{(\ddot{b})^{l\beta}}\beta = (\ddot{b})^{k-l\beta} \Rightarrow \ddot{k}-\ddot{l} = * \log_{\ddot{b}}\left(\frac{\ddot{m}}{\ddot{n}}\right)\alpha$$

elde edilir.

iii. $\ddot{b} > \ddot{1}, \ddot{m}, \ddot{n} \in \mathbb{R}_{\alpha}^+, \ddot{m} < \ddot{n}$ olsun. ι ve $*$ -üstel fonksiyonun özellikleri kullanılır ve $* \log_{\ddot{b}} \ddot{m} = \ddot{t} \Leftrightarrow (\ddot{b})^{t\beta} = \ddot{m}$ ve

$$* \log_{\ddot{b}} \ddot{n} = \ddot{p} \Leftrightarrow (\ddot{b})^{p\beta} \text{ alınır}$$

$$\ddot{m} < \ddot{n} \Rightarrow \iota(\ddot{m}) < \iota(\ddot{n}) \Rightarrow \ddot{m} < \ddot{n} \Rightarrow (\ddot{b})^{t\beta} < (\ddot{b})^{p\beta} \Rightarrow \ddot{t} < \ddot{p}$$

$$\Rightarrow * \log_{\ddot{b}} \ddot{m} < * \log_{\ddot{b}} \ddot{n}$$

olup $* \log$ $*$ -artan bir fonksiyondur.

Benzer mantık ile $\ddot{0} < \ddot{b} < \ddot{1}$ için $* \log$ fonksiyonunun $*$ - azalanlığı kolayca ispatlanabilir.

Örnek 2.1.11. $\ddot{b} > \ddot{1}$ için $h: [\ddot{0}, +\infty) \rightarrow [\ddot{0}, +\infty)$,

$h(\ddot{s}) = * \log_{\ddot{b}}(\ddot{1}+\ddot{s}) = \ddot{t}$ ile tanımlı h fonksiyonu $*$ -modülüs fonksiyondur:

$*$ -logaritma fonksiyonunun tanımına göre

$$h(\ddot{s}) = * \log_{\ddot{b}}(\ddot{1}+\ddot{s}) = \ddot{t} \Leftrightarrow (\ddot{b})^{t\beta} = \ddot{1}+\ddot{s}$$

yazılır. Buna göre

$$\mathbf{I.} \quad h(\ddot{s}) = \ddot{0} \Rightarrow * \log_{\ddot{b}}(\ddot{1}+\ddot{s}) = \ddot{0}$$

$$\Rightarrow (\ddot{b})^{0\beta} = \ddot{1}+\ddot{s}$$

$$\Rightarrow \ddot{1} = \ddot{1}+\ddot{s} \Rightarrow \ddot{0} = \ddot{s} \Rightarrow \ddot{0} = \ddot{s}$$

Tersine $s = 0$ olsun. Bu durumda

$$h(0) = {}^* \log_b(1+0) = {}^* \log_b 1 = 0$$

elde edilir.

II. Her $s, t \in [0, +\infty)$, $b > 1$ için ${}^* \log$ özellikleri kullanılırsa

$$\begin{aligned} 1+s+t &\leq (1+s) \times (1+t) \\ {}^* \log_b(1+s+t) &\leq {}^* \log_b[(1+s) \times (1+t)] \\ &= {}^* \log_b(1+s) + {}^* \log_b(1+t) \end{aligned}$$

elde edilir.

III. Her $s, t \in [0, +\infty)$ için $s < t$ olsun. $b > 1$ için ${}^* \log$ fonksiyonu * -artan bir fonksiyon olduğundan

$$\begin{aligned} s < t &\Rightarrow 1+s < 1+t \\ &\Rightarrow {}^* \log_b(1+s) < {}^* \log_b(1+t) \end{aligned}$$

olup h , * -artandır.

IV. Herhangi $\varepsilon > 0$ sayısına karşılık $s < \delta$ olan her $s \in [0, +\infty)$ için $|{}^* \log_b(1+s)|_\beta < \varepsilon$ olacak şekilde en az bir $\delta = \delta(\varepsilon) > 0$ sayısı bulunmalı:

Bunun için $b > 1$ olduğunda ${}^* \log$ fonksiyonu * -artan olduğundan

$$\begin{aligned} 1+s &< 1+\delta \\ {}^* \log_b(1+s) &< {}^* \log_b(1+\delta) \\ |{}^* \log_b(1+s)|_\beta &< |{}^* \log_b(1+\delta)|_\beta \end{aligned}$$

yazılır. Burada $\delta = (b)^\varepsilon - 1$ alınırsa istenen elde edilir.

KAYNAKÇA

- Çakmak, A. F. & Başar, F. (2012). Some new results on sequence spaces with respect to non-Newtonian calculus. *Journal of Inequalities and Applications*, 228,1-12.
- Deeb, W. & Hussein, D. (1980). Results on $L(f)$ spaces. *Arabian Journal For Science And Engineering*, 5(2), 113-116.
- Duyar, C., Sağır, B. & Oğur, O. (2015). Some basic topological properties on non-Newtonian real line. *British Journal of Mathematics and Computer Science*, 9(4), 300-307.
- Duyar, C. & Erdoğan, M. (2016). On non-Newtonian real number eeries. *IOSR Journal of Mathematics*, 12(6), IV, 34-48. doi: 0.9790/5728-1206043448.

- Duyar, C. & Oğur, O. (2017). A note on topology of non-Newtonian real numbers. *Journal of Mathematics*. 13(6), 11-14.
- Erdoğan, M., & Duyar, C. (2018). Non-Newtonian improper integrals. *Journal of Science and Arts*, 18(1), 49-74.
- Grossman, M. & Katz, R. (1972). *Non-Newtonian calculus*, 1st ed., Lee Press, Pigeon Cove Massachussets.
- Grossman, M. (1979). An introduction to non-Newtonian calculus. *International Journal of Mathematical Educational in Science and Technology*, 10(4), 525-528.
- Güngör, N. (2020). Some geometric properties of the non-Newtonian sequence spaces $l_p(N)$. *Mathematica Slovaca*, 70(3), 689-696. doi: 10.1515/ms-2017-0382.
- Güngör, N. (2022). A note on linear non-Newtonian Volterra integral equations. *Mathematical Sciences*, 16(4), 373-387. <https://doi.org/10.1007/s40096-021-00427-z>.
- Işık, G. & Eryılmaz, İ. (2023). *Newtonian olmayan cisimler üzerinde tanımlı lineer uzayların bazı özellikleri*. N. Kaya (Ed.), Fen Bilimlerinde Özgün Disiplinlerarası Araştırmalar (s. 139168), Klaipeda: SRA Academic Publishing. ISBN 978-625-7148-78-8.
- Maddox, I. J. (1986). Sequence spaces defined by a modulus. *Mathematical Proceeding of the Cambridge Philosophical Society*, 100, 161-166.
- Nakano, H. (1953). Concave modular. *Journal of the Mathematical Society of Japan*, 5, 2949.
- Oğur, O. & Demir, S. (2019). On non-Newtonian measure for α -closed sets. *New Trends in Mathematical Sciences*. 7(2), 202-207.
- Rohman, M. & Eryılmaz, İ. (2023). Some basic results in v -normed spaces. *Indonesian Journal of Mathematics and Applications*, 1-1, 1-8 doi.org/10.21776/ub.ijma.2023.001.01.1
- Ruckle, W. H. (1973). FK -Spaces in which the sequence of coordinate vectors is bounded. *Canadian Journal of Mathematics*, 25, 973-978.
- Sağır, B. & Erdogan, F. (2020). On non-Newtonian power series and its applications. *Konuralp Journal of Mathematics*, 8 (2), 294-303.

BÖLÜM 13

TEKİL HÜCRE PROTEOMİĞİ ÇALIŞMALARINDA ÖRNEK HAZIRLAMA

Doç. Dr. Can YILMAZ¹
Doç. Dr. Metin KONUŞ²

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, ORCID: 0000-0002-0028-6614, cyilmaz@yyu.edu.tr (*): Sorumlu yazar

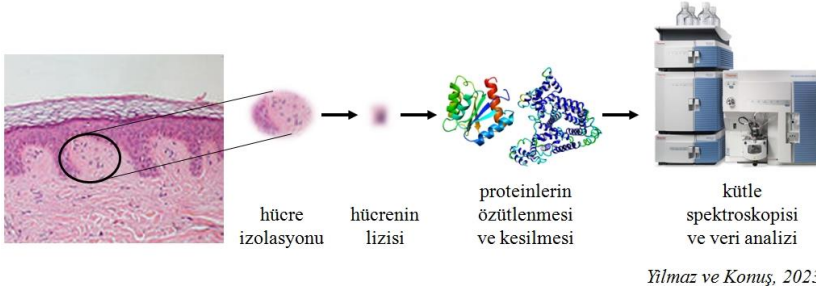
² Hitit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, ORCID: 0000-0002-9953-1375

1. Tekil Hücre Proteomiğine Giriş

Karmaşık biyolojik sistemler, çevrelerini algılayan ve onlara yanıt veren çok sayıda bireysel hücreden oluşur. Çoğu sistem çeşitli heterojen hücreler içerir ve bu nedenle sistemin bütününe anlayabilmek için bu bireysel ve çeşitli hücreleri ayrı ayrı, yani tek hücreli ölçümler yoluyla tanımamız gerekir. Proteinler hücresel işlevlerin çoğunu yerine getirdiğinden, tek tek hücreler içindeki proteinlerin miktarının belirlenmesi hücreyi karakterize etmek için önemlidir. Kütle spektrometresi bazlı proteomik çalışmalar biyolojik bir örnek içindeki proteinlerin profilinin yüksek verimle çıkarılmasını sağlar; ve hücre biyolojisi ve biyomedikal araştırmalar için bunun ne derece değerli olduğu literatürdeki artan yayın sayısı ile kanıtlanmaktadır (Aebersold & Mann, 2016; Lundberg & Borner, 2019). Geleneksel bir proteomik iş akışında örnekteki tüm hücreler birlikte analiz edilir ve dolayısıyla hücre popülasyonlarının ortalamaları ölçülmüş olur. Bu durum sadece bireysel hücreler arasında var olan ve belirlemek istediğimiz farklılıkları birbirlerine karıştırmakla kalmaz, aynı zamanda tüm hücreleri içeren homojenatta az miktarda bulunan, aslında belirli bir hücre tipine özgü proteinlerin tespitini de oldukça zorlaştırır (Specht & Slavov, 2018). Bu sorunları çözmek için araştırmacılar, **tekil hücre proteomiği (THP)** alanındaki imkanları hızla geliştirmektedirler.

THP (Şekil 1), tekil hücre biyolojisi alanında bir devrim yaratmış, bir dönüm noktası olmuştur. Tekil hücre seviyesinde, nükleik asitler öngörülebilir şekilde davranır, ancak aynı hücrenin proteomu geniş bir yelpazede farklı kimyalara, etkileşimlere, dinamiklere ve bolluğa sahiptir. Gözlemlenen proteomik değişimlerin transkriptomik değişimlerle tam bir korelasyon içerisinde olmadığını, yani aralarında zayıf bir ilişki olduğunu da artık biliyoruz (Ahmad & Budnik, 2023). Tekil hücre transkriptom analizleri hücre fenotipi hakkında bilgi sağlarken, protein ekspresyonu hücre durumunu belirler. Dahası, proteinlerin tekil olarak miktarlarının, protein-protein etkileşimlerinin ve proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonlarının pek çok hastalık ve bu hastalıklarda kullanılan ilaçlara verilen yanıtlar tarafından nasıl değiştirildiğini anlamak tedavi taktiklerini mutlaka daha da geliştirecektir. Bu nedenle biyokimyacılar proteinlerin tekil hücre analiziyle yakından ilgilenmektedirler, çünkü farklı hücre tiplerinden oluşan dokuların bütünsel analizi hücreler arası farklılıkları gizleyerek elde edilen verilerin yorumlanmasını zorlaştırmaktadır (Mansuri, Williams, & Nairn, 2023). Tekil hücre analizi, heterojen örneklerden mevcut olan hücre tiplerini ve bunların alt popülasyonlarını bütünsel ifade farklılıklarına göre ayırt etmeyi amaçlar. Tekil hücreler ile gerçekleştirilen kapsamlı transkriptom çalışmaları, heterojenliğin bireysel hücrelerin doğasına

özgü olduğunu ve stokastik (rastgele) etkilerden kaynaklandığını göstermiştir (Ctortecka & Mechtler, 2021). Bununla birlikte, proteinler ve özellikle translasyon sonrası düzenlemeler, hücre işlevselliğinin ve hücre kimliğinin ana itici gücüdür. Proteinlerdeki bu türden değişimler hücrelerde çok hızlı şekilde gerçekleşir ve ne amaçla gerçekleştirildiklerini mRNA ölçümlerinden çıkarmak yerine doğrudan protein ölçümleri yapmak daha uygundur. Diğer yandan, tekil hücrelerde RNA ve proteom düzeylerini karşılaştıran yakın tarihli bir çalışma, transkriptomun daha değişken olmasına rağmen bu defa proteomun stabil olduğunu gösterdi; bu, translasyonun düzenlenmesinin kritik olduğunu ve tekil hücre düzeyinde araştırılmasının gerekliliğini işaret ediyor (Chung et al., 2021). Bu türden araştırmalar, hücre heterojenite göz önüne alındığında, özellikle herhangi bir hastalıkta translasyonun düzenlenmesinin daha iyi anlaşılmasını sağlamak adına THP'nin tekil hücre RNA-dizilemesi (scRNA-seq) için gerekli ve tamamlayıcı bir araç olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.



Şekil 1. THP için genel protokol şeması.

Hüresel çeşitlilik ve heterojenlik bütünsel bir proteomik yaklaşımla ele alınamaz; çünkü bu türden bir yaklaşım aynı anda binlerce hücrenin protein ifadesini analiz ederken çoğu durumda tekil hücreler arasındaki önemli farklılıkların üzerini örten "ortalama" bir protein ekspresyon profili oluşturur. Bir hücredeki protein çeşitliliği ve her bir proteinin miktarı tekil hücrelerde birbirlerinden çok farklı değişimler sergileyebilir çünkü hücrelerin apoptoz ve hücre çoğalması mekanizmaları sırasında hücre kaderini kontrol edecek şekilde protein profillerinde değişiklikler meydana gelir. Hücreden hücreye farklılıkları gözlemleyebilmek, örneğin bir hastalığın biyolojisini doğru anlamak için kritik öneme sahiptir. Ayrıca canlı hücrelerde protein ekspresyonu değişikliklerini dinamik bir şekilde incelemek için bütünsel proteomik yaklaşım uygun değildir; bu yaklaşım halihazırda sabitlenmiş ve işlenmiş hücre agregatlarını kullandığından, bu amaçla yalnızca THP'yi kullanabiliriz. Buna ek olarak, nadir

hücre popülasyonlarının incelenmesi bütünsel proteomik yaklaşımda erişilebilir değildir; çünkü kanser kök hücreleri gibi nadir hücreleri tespit etme hassasiyetine sahip değildir. Nadir hücrelerin hastalığıdaki rolü yalnızca THP teknikleriyle ele alınabilir (Mansuri et al., 2023).

Bağıklık tepkisinin modülasyonu ve düzenleyici kontrolüne dayalı yeni onko-immünoterapi yöntem ve uygulamaları için potansiyel hedeflerin belirlenmesini ancak kanserin hücrel ve moleküler mekanizmalarının anlaşılmasıyla mümkün olabilir. Tümörü oluşturan hücrelerin genomları nokta mutasyonları veya kromozomal değişiklikler yoluyla genelde birden fazla bölgede bozulmuştur. Bu nedenle, normal hücre çoğalmasını ve homeostazisini düzenleyen sinyal yolları kanser hücrelerinde kusurlu vaziyettedir, ve farklı kanser tipleri çok çeşitli genotiplere sahiptir (Végyári, Rodriguez, & Zubarev, 2022).

Bu heterojen hücre popülasyonlarında, birlikte hareket eden çok çeşitli proteinler hücrel kararları verirler. Böyle karmaşık sistemleri karakterize etmek, binlerce tekil hücre aracılığıyla binlerce proteindeki değişimlerin ölçülmesini gerektirir. Sonuç olarak, tekil hücre protein analizi için yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir; ve ancak bu yöntemler tekil hücrelerin transkriptom ve metabolom analizi ile birleştirildiğinde kantitatif sistem biyolojisinin geliştirilmesi için önemli verilerin sağlanmasına yardımcı olacaktır. Örneğin, bahsedilen bu karmaşıklık ve çeşitlilik nedeniyle kanser hücrelerinin ilaçlara verdiği tepkiler de heterojendir ve tekil hücre düzeyinde proteom analizi gerektirir. Bu konuda yapılmış bir çalışma, günümüzde artık THP tekniklerinin ilaçların hedef proteinler üzerindeki etkilerini ele alacak kadar niceliksel olduğunu ve dolayısıyla tekil hücreli kimyasal proteomiklerin yolunu açtığını göstermiştir (Arias-Hidalgo et al., 2022).

Kütle spektrometresi (KS) bazlı proteom profilleri oluşturarak, genomik veya transkriptomik ölçümlerle elde edilemeyen biyolojik fonksiyonlara ve biyolojik fonksiyonlardaki bozukluklara ilişkin bilgilere ulaşılmaktadır. Proteomik analizlerin tekil hücrelere ve hatta "küçük boyutlu" diğer örneklerle uygulanabilecek şekilde geliştirilmesi, normal metabolizmaya ve hastalık süreçlerine katkıda bulunacak çeşitli hücre tiplerinin rollerine dair keşiflerin yanı sıra doku haritalaması ve mikroçevrenin karakterizasyonu için mekansal bilginin eldesi gibi pek çok gelişmenin kapısını aralamıştır (Couvillion et al., 2019). Proteinler için amplifikasyon tekniklerinin olmayışı göz önüne alındığında, daha fazla protein türünü tespit sınırlarının üzerine çıkaracak şekilde analitik yöntemlerin her yönüyle geliştirilmesi ve protein ekspresyonuna ilişkin daha kapsamlı bir görünüm sağlamak için tek hücre başına binlerce proteine kadar

çıkabilecek şekilde optimize edilmesi gerekmektedir. Bu optimizasyon çabası hücre izolasyonundan ve numune hazırlama aşamasından başlayıp KS ölçümü ve veri işleme aşamasına kadar baştan sona tüm basamaklara yayılmalıdır; çünkü en nihayetinde tekil hücre proteomik çalışmalarını başarılı kılacak şey ancak bütün bu çabalarla elde edilen ilerlemelerin birleşimidir (Kelly, 2020).

2. Örnek Hazırlama Stratejileri

Standart tabandan yukarı (bottom-up) proteomik,

- hücre özütlemesi ve lizisi
- protein özütlemesi ve çözdürülmesi
- disülfid bağlarının indirgenmesi ve sisteinlerin alkilasyonu
- proteinlerin peptidlere sindirimi
- örneklerin temizlenmesi ve ardından kromatografik ayırma
- ve son adımda KS edinimini içeren çok adımlı bir prosedürü kapsar.

Bu işlemler, beklenen kayıpların sonraki analizleri etkileyemeyeceği şekilde ama aynı zamanda mikrogram boyutlarında örnek girişi için optimize edilmiştir. Ancak, tekil hücre proteomikinde, bir hücrenin yaklaşık 200 pikogram protein içerdiği göz önüne alındığında, örnek hazırlama sırasında kayıpları en aza indirmek çok daha kritik hale gelmiştir (Ctorteccka & Mechtler, 2021).

Son yıllarda, tuzlar, deterjanlar ve hücre kalıntıları gibi özellikle son basamakta gürültüye sebep olan kalıntıları uzaklaştırmanın yanı sıra tek küvette/kapta tüm prosedürün tamamlanmasının becerebileceği derecede basitleştirmeyi sağlayacak çeşitli nanoteknolojik stratejiler geliştirildi. Bu yöntemler arasında afinite-temelli analizler, elektroforetik yaklaşımlar, membran filtrasyonu ve protein çöktürmesi yer alır; örneğin,

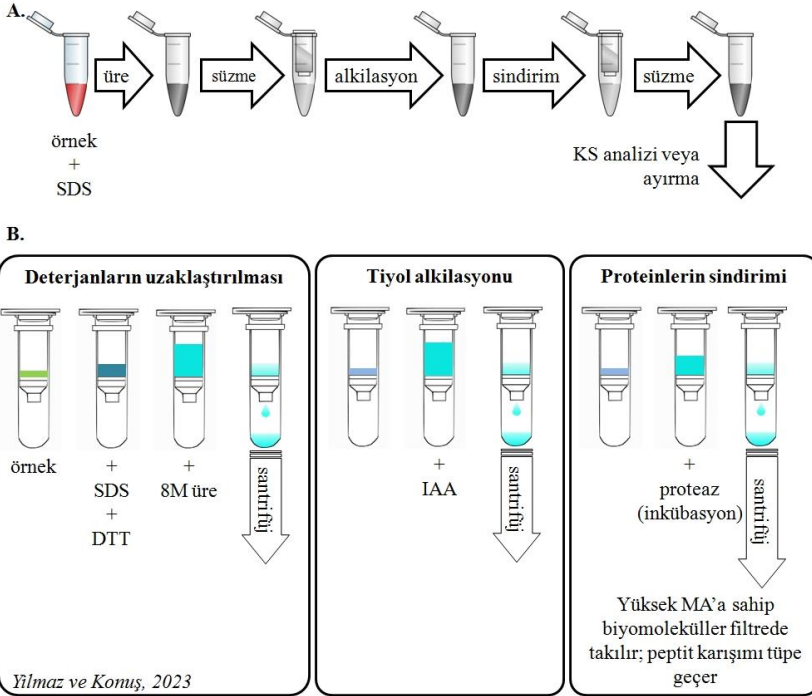
- filtre-destekli örnek hazırlama (FASP)
- in-StageTip sindirimi (iST)
- tek kapta katı fazda geliştirilmiş örnek hazırlama (SP3)

örnek miktarını optimize etmeleri ve analit geri kazanımını maksimuma çıkarmaları nedeniyle giderek daha popüler hale geldi³ (Sielaff et al., 2017).

³ in-StageTip gibi ticari isimleriyle tanınan metot ve sarflar ile FASP ve SP3 gibi terim kısaltmaları, metni anlamayı zorlaştıracağından Türkçeleştirilmemiştir/Türkçe karşılıklarına göre oluşturulmamıştır.

FASP, (tuzlar ve lipidler dahil) çoğu kirletici maddenin belirli bir moleküler ağırlık ayırma sınırı özelliğine sahip ultrafiltrasyon cihazı aracılığıyla, santrifüj yoluyla uzaklaştırılmasını sağlarken, SP3 ve iST'nin her ikisi de iş akışını basitleştirerek örnek kaybını en aza indiren "tek kap" yaklaşımlardır.

FASP (Şekil 2) ile peptitlerin indirgenmesi ve alkilasyonu, sindirimi ve son aşamada MS uyumlu solventlere elüsyonu aynı moleküler ağırlık ayırma sınırına sahip filtre ünitesi içerisinde gerçekleştirilmektedir. Filtre yatağındaki, hazırlama hacimlerdeki ve örnek işleme adımlarındaki bu esaslı azaltma, açıkta kalan yüzeyleri ve dolayısıyla spesifik olmayan soğurucu (adsorptif) kayıpları en aza indirir. Bu büyüklükteki spesifik olmayan soğurucu peptid kayıpları, tekil hücre örneğini hazırlamada daha da kritik hale gelmektedir. Örnek hacimlerinin ve açıkta kalan yüzeylerin azaltılması veya bu tür yüzeylerin ön koşullaması bu nedenle önemli kabul edilmektedir (Z. Zhang, Dubiak, Huber, & Dovichi, 2020).

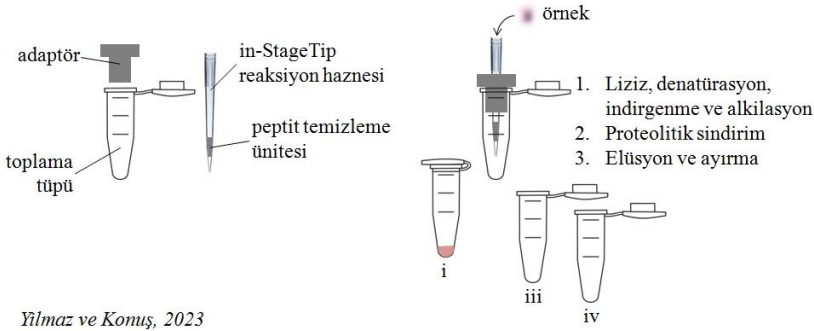


Şekil 2. (A) FASP prosedürünün basitleştirilmiş şeması. (B) FASP prosedürünün temel üç aşaması ve kullanılan kimyasallar.

FASP yalnızca örnek işleme adımlarının sayısını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda filtre ünitesi yüksek moleküler ağırlıklı bileşenleri (yani proteinleri), düşük moleküler ağırlıklı kirlere/istenmeyen bileşiklerden ve kütle spektroskopisinde gürültüye sebep olacak deterjanlardan ayırır. Güçlü deterjanlar

(örneğin, sodyum dodesil sülfat, SDS) veya özütleme tamponları (örneğin, üre), KS analizleri için örnek hazırlama iş akışlarında önemli bir zorluk olan proteinlerin etkili şekilde çözünmesini kolaylaştırır (Wiśniewski, Zougman, Nagaraj, & Mann, 2009).

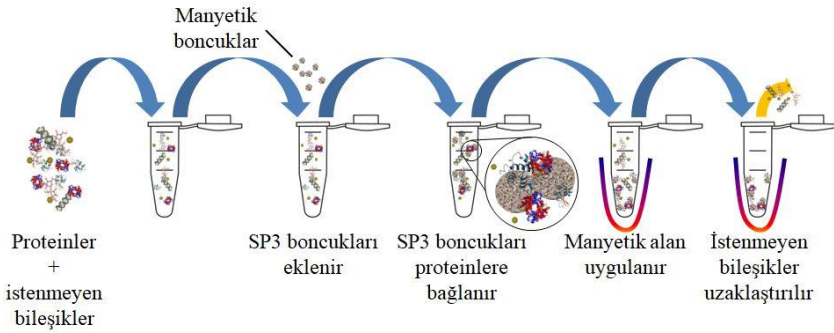
Geleneksel iyonik deterjanlar, proteinlerin üçüncül yapılarını bozar ve protein kümelenmesini (agregasyonunu) önlerler, ancak iyonizasyonu baskırlar ve kromatografik ayrılmayı sekteye uğrattırır, bu nedenle de SK-KS (sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi) analiziyle uyumlu değildir. İyonik olmayan deterjanlar ise protein çözünürlüğünde iyonik olanlar kadar etkili değildir; ancak bazı iyonik olmayan deterjanlar düşük konsantrasyonlarda KS uyumludur. Proteomik iş akışları için özel olarak geliştirilmiştir asitle parçalanabilen deterjanlar, örnek hazırlama sırasında tam potansiyellerini sergilerken, KS analizinden önce zararsız yan ürünlere dönüştürülebilirler (Behnke & Urner, 2023). Hücrelerin lizisi ve protein çözünürlüğünün sağlanmasında oldukça etkili olan deterjanlar sıklıkla peptid kayıplarına, sapmalara ve kirletici maddelerin örneğe karışmasına sebep olan tampon değişimleri gerektirmektedir. Filtre destekli örnek hazırlama teknikleri, tampon değişimlerini ve örnek temizleme adımlarını örnek hazırlama ile birleştirerek bu türden kayıpları en aza indirmeyi hedeflemektedir (Ctorteccka & Mechtler, 2021).



Şekil 3. in-StageTip protokolünün basitleştirilmiş şeması.

In-StageTip (iST) protokolü eşzamanlı şekilde lize, proteinlerin çözülmesine, indirgemeye, alkilasyona ve enzimatik sindirime olanak tanır (Şekil 3). Örnek hazırlama protokolünün tamamı tek bir reaksiyon haznesinde gerçekleştirilirken, daha az pipetleme adımı, azaltılmış örnek hacmi ve peptid elüsyonu öncesinde istenmeyen bileşiklerin giderilmesi gibi avantajları da beraberinde getirir (X. Zhang, Sadowski, & Punyadeera, 2020).

SP3, hidrofilik katmanlardaki proteinleri yakalamak için yüzeyi işlevselleştirilmiş paramanyetik boncukların bulunduğu tek bir haznede gerçekleştirilir; ve ardından boncukların manyetik bir alan içinde sabitlenmesi sağlanır (Şekil 4). Kaotropik ajanlar ve deterjanlar da dahil olmak üzere kirletici/istenmeyen maddeler bir sonraki basamakta (etanol ve asetonitril gibi) organik çözücülerle yıkanarak çıkarılabilir. SP3, proteomik analizin devam edecek basamaklarına geçmeden evvel, hücre veya doku lizisini, proteinlerin çözündürülmesini ve enzimatik sindirimi kolaylaştırmak amacıyla yaygın olarak kullanılan (deterjanlar, kaotropik ajanlar, tuzlar, tamponlar, asitler ve çözücüler gibi) bileşenlerin değişimi veya uzaklaştırılması için hidrofilik bir etkileşim mekanizması sunarak daha "saf" bir örneği hazır hale getirir.



Yılmaz ve Komuş, 2023

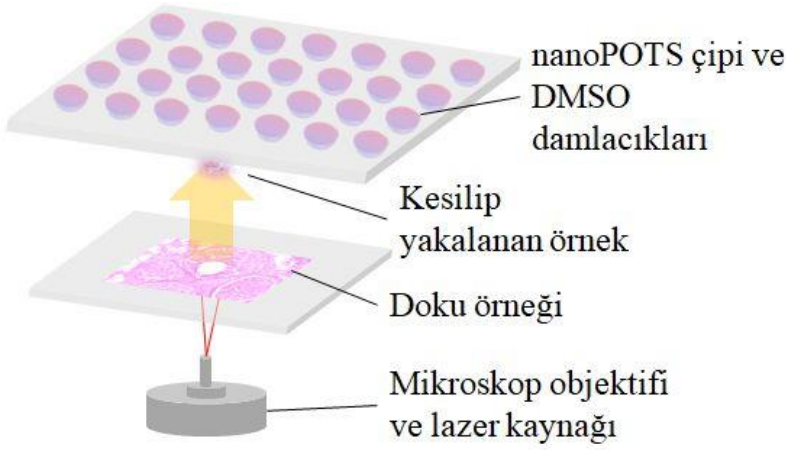
Şekil 4. SP3 yönteminde manyetik boncukların çalışma prensibi.

SP3 protokolü seçici olmayan protein bağlama ve temizleme (yıkama) olmak üzere iki adımdan oluşur. Bu adımlar hidrofilik boncukların yüzeyinde etanol ile yaratılan sıvı sarılıminin kullanımı ve saflaştırılmış malzemenin sulu koşullarda elüsyonu yoluyla gerçekleştirilmektedir. Alternatif yaklaşımların aksine SP3, basitleştirilmiş tek hazneli bir protokoldür. Bu yöntem girdi miktarından bağımsız olarak proteinlerin neredeyse kayıpsız geri kazanımını sağlar ve kullanılan tampon çözeltilerin içerisindeki pek çok kimyasalla uyumlu şekilde kullanılabilir (Hughes et al., 2018).

Hem SP3 hem de iST yöntemlerinin, yalnızca 1 µg protein işlendiğinde bile yüksek kapasite ve hassaslık ile tekrarlanabilirlik ve doğruluk sunduğu gösterilmiştir. Tekil hücre proteomiği açısından bakılınca, düşük hücre girişi olan örneklerde bütünsel ve geniş kapsamlı iş akışları için elzem olan etkili örnek temizleme ve protein özütleme adımlarına pek gerek kalmadığından, daha basit

bir hazırlama protokolü ihtiyacı görmektedir. Bununla birlikte, düşük miktardaki örneklerde kayıplar daha önemlidir ve temizleme adımları, örnekler arasında değişkenlik ortaya çıkardığı için otomasyonu karmaşık hale getirmektedir. Bu adımlardan kaçınılması, verim ve tutarlılık artırılırken kayıplar azaltılabilir.

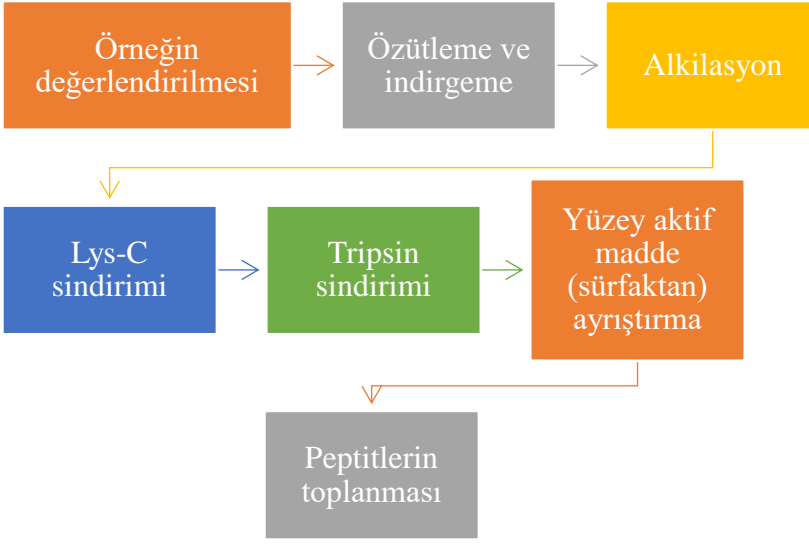
Eser miktarlardaki protein örnekleri için minyatürleştirme ve örnek analizine hazırlık tek haznede nano-damlacık işleminin geliştirilmesi ile başarıyla birleştirilmiş ve basitleştirilmiştir (**nanoPOTS**) (Kelly, 2020). NanoPOTS, nano-damlacık reaksiyon hazneleri olarak görev yapan ve hidrofobik bir yüzeye çevrelenmiş, fotolitografik olarak desen verilmiş, hidrofilik desteklerle mikrofabrike edilmiş cam yongalardır (Şekil 5).



Yılmaz ve Konuş, 2023

Şekil 5. nanoPOTS uygulamasının ilk aşaması olan lazer yakalamalı mikrodiseksiyon.

Örnek hazırlama protokollerinin ilk aşamaları ortaktır ve eşzamanlı olarak hücrelerin lizisini, protein denatürasyonunu ve indirgemeyi içerir. Bunu sisteinlerin alkilasyonu ve LysC ve trypsin ile protein sindirimi takip eder (Şekil 6).



Şekil 6. nanoPOTS protokolünün basitleştirilmiş şeması.

Minimal ProteOmik örnek hazırlama Prosedürü (mPOP), kültürde yetiştirilen memeli hücrelerinin saf su damlacıkları içindeki bir donma-ısıtma döngüsü ile parçalanmasını gerçekleştirir. Bu yöntem, KS ile uyumlu bir sindirim tamponu kullanarak örnek hazırlamaya olanak tanır; böylece temizleme adımlarını da ortadan kaldırır. mPOP örnek hazırlama işleminin PZR termodöngüleyicilerle eşleştirilmesine olanak tanır ve diğer yöntemlerdeki gerekli minimum örnek hacimlerini 10 μL 'den 1 μL 'ye kadar azaltarak eş zamanlı olarak 96/384 kuyucuklu mikropalakalarda örnek hazırlanmasına olanak tanır. Böylece çoklu örnek işleme verimini 100 kattan fazla artırır.

Tekil hücre proteomiği alanında daha fazla ilerleme kaydedilmesini sağlayacak şekilde, yüksek verimli karakterizasyona yönelik minyatürleştirilmiş ve büyük ölçüde paralel bir örnek hazırlama yöntemi geliştirildi: otomatik **nano-ProteOmik örnek hazırlama Prosedürü (nPOP)**. Bu yeni prosedür, hücreleri 20 nL'den daha düşük hacimlerde ayrı ayrı izole etmek için piezo akustik dağıtıma dayandığından ve protokolün tüm adımlarını florokarbon kaplı bir yüzey üzerinde küçük damlacıklar halinde gerçekleştirdiğinden, toplu etkileri azaltırken deneysel tekrar sayısını arttırmayı mümkün kılar. Bu yöntemdeki örnek hazırlama iş akışı, hücre izolasyonunu, lizisini ve protein sindirimini, ardından peptitlerin etiketlenmesini ve örneklerin gruplandırılmasını içerir.

3. Zorluklar ve Fırsatlar

Kullanılan cihazlar ve örnek hazırlama iş akışlarındaki büyük ilerlemeler sayesinde ilk memeli tekil hücre ölçümleri 2018'de yayınlandı. Geçtiğimiz yıllarda hızla artan sayıda yayın, çeşitli teknolojik tıkanıklıkları rapor ederken, aynı zamanda çeşitli hücre tipleri, mikro parçalara ayrılmış dokular ve sınıflandırılmış alt popülasyonlar için biyolojik uygulanabilirliği de göstermektedir (Budnik, Levy, Harmange, & Slavov, 2018).

Tekil hücre proteomiğinde örnek hazırlama bir dizi avantajın yanısıra (Tablo 1) pek çok zorluk içermektedir. Toplama metotlarının, tekrarlanabilir şekilde, örnek başına bir hücreyi yakalayabilecek şekilde optimize edilmesi gerekir. Kirleticilerin ortamdaki daha etkin bir şekilde uzaklaştırılması gerekir. En nihayetinde, tüm bu süreçlerin ölçeğinin büyütülmesi gerekmektedir. Bir başka zorluk, eski yöntemlerle özütlenmiş örnekler toplu şekilde işlendiğinde ortaya çıkar. Bu örneklerde sıklıkla KS analiziyle uyumlu olmayan kimyasallar kullanıldığından, yalnızca KS uyumlu reaktifleri kullanan temiz örnekler hazırlanmalı veya örneklerden uyumsuz reaktifler çıkarılmalıdır.

Tablo 1. Tekil hücre proteomiği için kullanılan bazı örnek hazırlama metotları.

Örnek Hazırlama Metotları	Protokol	Avantajları
Filtre-destekli örnek hazırlama (FASP)	Proteinler bir filtre membranında tutulur ve enzimatik sindirim için hazır durumdadır. Üretilen peptitler santrifüjleme yoluyla toplanır.	Bu teknik, SDS ve diğer düşük molekül ağırlıklı kirleticiler maddelerin uzaklaştırılmasına olanak sağlar.
in-StageTip sindirimi (iST)	Bir StageTip'te bütün örnek hazırlama işlemi tamamlanır. Nihai peptit, katı faz özütlemesiyle elde edilir/toplanır.	Filtre zarına gerek duyulmaz.
Tek kapta katı fazda geliştirilmiş örnek hazırlama (SP3)	Peptitleri manyetik bir alan içinde yakalamak için işlevselleştirilmiş paramanyetik boncuklar kullanılarak gerçekleştirilir.	Farklı organik solventlerle yıkayarak kirleticiler maddelerin etkili bir şekilde uzaklaştırılması mümkündür.

Minimal ProteOmik örnek hazırlama Prosedürü (mPOP)	Temizleme adımlarını ortadan kaldıran ve kullanılan örnek hacmini en aza indiren KS uyumlu sindirim tamponu kullanılır.	PCR termodöngüleriyle örnek hazırlamanın otomatikleştirilmesini mümkün kılarak birçok farklı örneğin paralel olarak işlenmesine olanak tanır.
Nano-ProteOmik örnek hazırlama Prosedürü (nPOP)	Küçük hacimler kullanarak tek tek hücreleri izole etmek için bir piezo akustik cihaz kullanılır.	Yüksek verim için minyatürleştirilmiş ve büyük ölçüde paralel bir yöntemdir.

Örnek hazırlama işleminde hacimlerin azaltılması, adsorpsiyon kayıplarının en aza indirilmesi ve örnek konsantrasyonlarının artırılması açısından yararlı olabilir. Böylece örneğin trypsin ve diğer reaktiflerle reaksiyonu daha verimli hale getirilebilir. İşlemlerin genellikle manuel olarak gerçekleştirildiği geleneksel örnek hazırlama metodlarının iş akışını standartlaştırmak için en başta otomatik örnek işleme gereklidir. Cihazın tüm hacmin karıştırılmasına ve işlenmesine izin verdiği, standardize edilmiş bir tesisat sistemi, büyük hacimlerin işlenmesine olanak tanıyarak maliyetlerin azalmasına ve teşhis doğruluğunun artmasına yol açacaktır (Kelly, 2020).

Tekil hücre proteomiği için gerekli yöntemlerin ve cihazların bir kısmı yaygın olarak mevcutken; diğerleri ise daha az sayıda enstitü ve araştırma merkezlerinde bulunabilmektedir. Örneğin, floresanla aktive hücre sınıflandırma yoluyla tek hücre izolasyonunu gerçekleştiren yöntemler gelişmiş ülkelerde çoğu araştırma tesisinde yaygın olarak mevcuttur. Bu yöntemler aynı anda birkaç yüz farklı tekil hücreyi değerlendirmeyi mümkün hale getirmektedir. Alternatif olarak, binlerce işlemi aynı anda gerçekleştirebilecek son teknoloji yöntemler de mevcuttur. Bununla birlikte, böylesine en ileri yöntemler doğal olarak KS kullanımını gerektirir ve ne yazık ki ticari MS enstrümantasyonu gelişmiş ülkelerin araştırma birimleri için bile pahalı olabilmektedir.

Kaynakça

- Aebersold, R., & Mann, M. (2016). Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. *Nature*, 537(7620), 347–355. <https://doi.org/10.1038/NATURE19949>
- Ahmad, R., & Budnik, B. (2023). A review of the current state of single-cell proteomics and future perspective. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/S00216-023-04759-8>
- Arias-Hidalgo, C., Juanes-Velasco, P., Landeira-Viñuela, A., García-Vaquero, M. L., Montalvillo, E., Góngora, R., ... Fuentes, M. (2022). Single-Cell Proteomics: The Critical Role of Nanotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12). <https://doi.org/10.3390/IJMS23126707>
- Behnke, J. S., & Urner, L. H. (2023). Emergence of mass spectrometry detergents for membrane proteomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415(18), 3897–3909. <https://doi.org/10.1007/S00216-023-04584-Z>
- Budnik, B., Levy, E., Harmange, G., & Slavov, N. (2018). SCoPE-MS: mass spectrometry of single mammalian cells quantifies proteome heterogeneity during cell differentiation. *Genome Biology*, 19(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13059-018-1547-5/FIGURES/4>
- Chung, H., Parkhurst, C. N., Magee, E. M., Phillips, D., Habibi, E., Chen, F., ... Regev, A. (2021). Joint single-cell measurements of nuclear proteins and RNA in vivo. *Nature Methods*, 18(10), 1204–1212. <https://doi.org/10.1038/S41592-021-01278-1>
- Couvillion, S. P., Zhu, Y., Nagy, G., Adkins, J. N., Ansong, C., Renslow, R. S., ... Metz, T. O. (2019). New mass spectrometry technologies contributing towards comprehensive and high throughput omics analyses of single cells. *The Analyst*, 144(3), 794–807. <https://doi.org/10.1039/C8AN01574K>
- Ctortecka, C., & Mechtler, K. (2021). The rise of single-cell proteomics. *Analytical Science Advances*, 2(3–4), 84–94. <https://doi.org/10.1002/ANSA.202000152>
- Hughes, C. S., Moggridge, S., Müller, T., Sorensen, P. H., Morin, G. B., & Krijgsveld, J. (2018). Single-pot, solid-phase-enhanced sample preparation for proteomics experiments. *Nature Protocols* 2018 14:1, 14(1), 68–85. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0082-x>
- Kelly, R. T. (2020). Single-cell Proteomics: Progress and Prospects. *Molecular & Cellular Proteomics* : MCP, 19(11). <https://doi.org/10.1074/MCP.R120.002234>

- Lundberg, E., & Borner, G. H. H. (2019). Spatial proteomics: a powerful discovery tool for cell biology. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 20(5), 285–302. <https://doi.org/10.1038/S41580-018-0094-Y>
- Mansuri, M. S., Williams, K., & Nairn, A. C. (2023). Uncovering biology by single-cell proteomics. *Communications Biology*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/S42003-023-04635-2>
- Sielaff, M., Kuharev, J., Bohn, T., Hahlbrock, J., Bopp, T., Tenzer, S., & Distler, U. (2017). Evaluation of FASP, SP3, and iST Protocols for Proteomic Sample Preparation in the Low Microgram Range. *Journal of Proteome Research*, 16(11), 4060–4072. <https://doi.org/10.1021/ACS.JPROTEOME.7B00433>
- Specht, H., & Slavov, N. (2018). Transformative Opportunities for Single-Cell Proteomics. *Journal of Proteome Research*, 17(8), 2565–2571. <https://doi.org/10.1021/ACS.JPROTEOME.8B00257>
- Végvári, Á., Rodriguez, J. E., & Zubarev, R. A. (2022). Single-Cell Chemical Proteomics (SCCP) Interrogates the Timing and Heterogeneity of Cancer Cell Commitment to Death. *Analytical Chemistry*, 94(26), 9261–9269. <https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.2C00413>
- Wiśniewski, J. R., Zougman, A., Nagaraj, N., & Mann, M. (2009). Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nature Methods* 2009 6:5, 6(5), 359–362. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1322>
- Zhang, X., Sadowski, P., & Punyadeera, C. (2020). Evaluation of sample preparation methods for label-free quantitative profiling of salivary proteome. *Journal of Proteomics*, 210. <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2019.103532>
- Zhang, Z., Dubiak, K. M., Huber, P. W., & Dovichi, N. J. (2020). Miniaturized Filter-Aided Sample Preparation (MICRO-FASP) Method for High Throughput, Ultrasensitive Proteomics Sample Preparation Reveals Proteome Asymmetry in *Xenopus laevis* Embryos. *Analytical Chemistry*, 92(7), 5554–5560. <https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.0C00470>
- Aebersold, R., & Mann, M. (2016). Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. *Nature*, 537(7620), 347–355. <https://doi.org/10.1038/NATURE19949>
- Ahmad, R., & Budnik, B. (2023). A review of the current state of single-cell proteomics and future perspective. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/S00216-023-04759-8>
- Arias-Hidalgo, C., Juanes-Velasco, P., Landeira-Viñuela, A., García-Vaquero, M. L., Montalvillo, E., Góngora, R., ... Fuentes, M. (2022). Single-Cell Proteomics: The Critical Role of Nanotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12). <https://doi.org/10.3390/IJMS23126707>

- Behnke, J. S., & Uner, L. H. (2023). Emergence of mass spectrometry detergents for membrane proteomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415(18), 3897–3909. <https://doi.org/10.1007/S00216-023-04584-Z>
- Budnik, B., Levy, E., Harmange, G., & Slavov, N. (2018). SCoPE-MS: mass spectrometry of single mammalian cells quantifies proteome heterogeneity during cell differentiation. *Genome Biology*, 19(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13059-018-1547-5/FIGURES/4>
- Chung, H., Parkhurst, C. N., Magee, E. M., Phillips, D., Habibi, E., Chen, F., ... Regev, A. (2021). Joint single-cell measurements of nuclear proteins and RNA in vivo. *Nature Methods*, 18(10), 1204–1212. <https://doi.org/10.1038/S41592-021-01278-1>
- Couvillion, S. P., Zhu, Y., Nagy, G., Adkins, J. N., Ansong, C., Renslow, R. S., ... Metz, T. O. (2019). New mass spectrometry technologies contributing towards comprehensive and high throughput omics analyses of single cells. *The Analyst*, 144(3), 794–807. <https://doi.org/10.1039/C8AN01574K>
- Ctorteccka, C., & Mechtler, K. (2021). The rise of single-cell proteomics. *Analytical Science Advances*, 2(3–4), 84–94. <https://doi.org/10.1002/ANSA.202000152>
- Hughes, C. S., Moggridge, S., Müller, T., Sorensen, P. H., Morin, G. B., & Krijgsveld, J. (2018). Single-pot, solid-phase-enhanced sample preparation for proteomics experiments. *Nature Protocols* 2018 14:1, 14(1), 68–85. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0082-x>
- Kelly, R. T. (2020). Single-cell Proteomics: Progress and Prospects. *Molecular & Cellular Proteomics* : MCP, 19(11). <https://doi.org/10.1074/MCP.R120.002234>
- Lundberg, E., & Borner, G. H. H. (2019). Spatial proteomics: a powerful discovery tool for cell biology. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 20(5), 285–302. <https://doi.org/10.1038/S41580-018-0094-Y>
- Mansuri, M. S., Williams, K., & Nairn, A. C. (2023). Uncovering biology by single-cell proteomics. *Communications Biology*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/S42003-023-04635-2>
- Sielaff, M., Kuharev, J., Bohn, T., Hahlbrock, J., Bopp, T., Tenzer, S., & Distler, U. (2017). Evaluation of FASP, SP3, and iST Protocols for Proteomic Sample Preparation in the Low Microgram Range. *Journal of Proteome Research*, 16(11), 4060–4072. <https://doi.org/10.1021/ACS.JPROTEOME.7B00433>
- Specht, H., & Slavov, N. (2018). Transformative Opportunities for Single-Cell Proteomics. *Journal of Proteome Research*, 17(8), 2565–2571. <https://doi.org/10.1021/ACS.JPROTEOME.8B00257>

- Végvári, Á., Rodriguez, J. E., & Zubarev, R. A. (2022). Single-Cell Chemical Proteomics (SCCP) Interrogates the Timing and Heterogeneity of Cancer Cell Commitment to Death. *Analytical Chemistry*, 94(26), 9261–9269. <https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.2C00413>
- Wiśniewski, J. R., Zougman, A., Nagaraj, N., & Mann, M. (2009). Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nature Methods* 2009 6:5, 6(5), 359–362. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1322>
- Zhang, X., Sadowski, P., & Punyadeera, C. (2020). Evaluation of sample preparation methods for label-free quantitative profiling of salivary proteome. *Journal of Proteomics*, 210. <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2019.103532>
- Zhang, Z., Dubiak, K. M., Huber, P. W., & Dovichi, N. J. (2020). Miniaturized Filter-Aided Sample Preparation (MICRO-FASP) Method for High Throughput, Ultrasensitive Proteomics Sample Preparation Reveals Proteome Asymmetry in *Xenopus laevis* Embryos. *Analytical Chemistry*, 92(7), 5554–5560. <https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.0C00470>

BÖLÜM 14

KUANTUM ÇOKLU CİSİM PROBLEMİNDE YAPAY SİNİR AĞLARI YÖNTEMİNİN KULLANIMI

*Çağrı Kemal ERDAL¹
Prof. Dr. Ülfet ATAV²*

¹ Selçuklu Bilim ve Sanat Merkezi, Orcid: 0009-0004-9894-492X

² Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü

Orcid: 0000-0002-2367-6666

1 Kuantum Çok Cisim Problemi için Yapay Sinir Ağları

1.1 Giriş

1.1.1 Kuantum Mekaniği Üzerine Kısa Bir Özet

Kuantum dinamikleri klasik dinamiklerden çok farklıdır. En büyük matematiksel farklılık, klasik mekanikte bir sistemin herhangi bir zamanda alabileceği tek bir olası yapılandırma olmasıdır. Eğer bir top fırlatılırsa, yere düşene kadar havada tek bir fiziksel yörünge izleyecektir. Zamanın her noktasında topun tek bir konumu, tek bir hızı, tek bir enerjisi ve tek bir açısal momentumu vardır. Kuantum mekaniğinde durum artık böyle değildir. Top artık bu fiziksel ölçülerden herhangi biri için iyi tanımlanmış bir değere sahip değildir. Bunun yerine, topun sahip olabileceği tüm değerler hakkında bilgi içeren bir sistemin dalga fonksiyonuna sahiptir. Sistem ölçüldüğünde, her biri dalga fonksiyonu tarafından tanımlanan bir olasılığa sahip çok çeşitli fiziksel konfigürasyonlardan herhangi birinde olabilir. Bu fonksiyon, sistemin alabileceği her konfigürasyon için bir değere sahip olan ve bu konfigürasyonla ilgili tüm fiziksel bilgileri taşıyan tek bir kompleks değerli fonksiyon sistemidir. Beyzbol topunun tek bir açısal momentuma ve konuma sahip olması yerine, kuantum mekaniğinde topun dalga fonksiyonu her bir açısal momentum ve konum kombinasyonu için bir kompleks sayıya sahip olacaktır. Burada önemli bir ayrım, dalga fonksiyonunun mutlaka tek değişkenli bileşenlere ayrılabilir olmamasıdır. Top saat yönünde döndüğünde ve sağa uzak olduğunda yüksek bir değere sahip olabilir ve top saat yönünün tersine döndüğünde ve sola uzak olduğunda yüksek bir değere sahip olabilir, ancak diğer konfigürasyonlarda çok küçük olabilir. Dalga fonksiyonunun değeri sadece tek tek değişkenler üzerindeki etkisinin bir ürünü değildir.

1.1.2 Operatörler

Bilgi, operatörler kullanılarak dalga fonksiyonundan çıkarılır. Klasik mekanikte momentum değerini bulmak için nesnenin konumunun türevini alır ve kütle ile çarpılır. Ancak kuantum mekaniğinde, üzerinde çalışabileceğimiz benzersiz bir konum değerimiz yoktur. Bunun yerine, hesaplamalarımızı dalga fonksiyonundan bilgi elde edecek şekilde değiştirmeliyiz. Bu da lineer cebirden fikirlerin kullanılmasını gerektirir.

Dalga fonksiyonunun önemli bir özelliği, çözümlerin yeni çözümler üretmek için bir araya getirilebilmesidir. Bu çözümler doğrusal işlem kurallarına uyar, dolayısıyla kuantum mekaniğinin bir anlamda doğrusal olduğunu söyleyebiliriz. Bu, dalga fonksiyonunu bir sistem için olası tüm dalga fonksiyonlarını içeren bir vektör uzayında bir vektör olarak ele alabileceğimiz anlamına gelir. Operatörler, vektör uzayındaki dalga fonksiyonlarını diğer dalga fonksiyonlarına eşleyen matrislerin rolünü üstlenir. Bu operatörlerin özdeğerleri, söz konusu operatör uygulandığında gözlemlenebilecek fiziksel değerlerdir.

Bu alanın doğrusal cebirsel yapısı, vektörlerin ve matrislerin tanımlanmasını kolaylaştıran bir notasyona uygundur. Bu nedenle Dirac'ın bra-ket notasyonu kuantum mekaniksel sistemleri tanımlamak için standart bir yöntemdir.

Bu sistemin üç temel ögesi bralar, ketler ve operatörlerdir. Ketler, durumların vektör uzayında vektörleri temsil eder. Yani, eğer dalga fonksiyonu $\Psi(x)$, \mathbb{R} 'den \mathbb{C} 'ye bir fonksiyon ise $\Psi(x)$ 'e karşılık gelen durum ket $|\Psi\rangle$ 'dir. Eğer ket bir sütun vektörünün fonksiyon versiyonunu temsil ediyorsa, bra bir satır vektörünün yerini alır. Bra'yı bir ket ile çarpmak ($\langle\Psi|\Psi\rangle$ olarak yazılır) bize iki durumun iç çarpımını verir. Sonlu sayıda ayrık serbestlik derecesine sahip sistemler için (bizim ilgileneceğimiz sistem türü), noktasal çarpım ile aynıdır. Sürekli sistemler için, genellikle $(-\infty, +\infty)$ aralığında bir integral şeklini alır. Operatörler hem bra'lar hem de ket'ler üzerine etki edebilir. Bir ket üzerindeki bir O operatörü $|O\Psi\rangle$ veya $O|\Psi\rangle$ olarak yazılabilir. Dahası, bu gösterim bize bir durum üzerindeki bir operatörün beklenti değerini yazmanın uygun bir yolunu sunar. Bu, $\langle\Psi^*|O|\Psi\rangle$ olarak yazılabilir, burada Ψ^* kompleks eşleniği gösterir. Kompleks eşleniği almak, operatörün tüm gözlemlenebilir operatörlerin yaptığı gibi belirli kurallara uyduğu (Hermityen olduğu) varsayılırsa verilen değer gerçek olmasını sağlar.

Basit bir örnek verelim. Ψ Fonksiyonumuz Gauss fonksiyonu $G(x)$ 'e benziyor ve x 'in beklenti (istatistiksel olarak ortalama) değerini bilmek istiyoruz. Bu bir çan eğrisi olduğundan, ortalama değer tam ortada, 0'da olmasını beklemeliyiz. Ancak tam hesaplamayı gerçekleştirmek için $\langle G(x)^*|x|G(x)\rangle$ 'i bulmamız gerekir. x bir operatör olarak sadece fonksiyonu x ile çarpar, yani $x|G(x)\rangle = |x*G(x)\rangle$, G sürekli olduğundan, iç çarpım gerçel doğru üzerinde bir integral ile verilecektir. Buradan $\int_{-\infty}^{+\infty} G(x)^*xG(x)d(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} x|G|^2(x)d(x) = 0$ olur ki bu da zaten beklenen değerd.

Sistemimizin fiziksel bir sistem gibi davranabilmesi için öncelikle ψ üzerinde onu yalnızca fiziksel çözümlerle sınırlayacak kısıtlamalara ihtiyacı vardır. İlk kısıtlama, beklenti değerlerini tanımlama şeklimizden doğal olarak ortaya çıkar. Eğer $\langle\Psi^*|O|\Psi\rangle$, ψ üzerinde O 'nun beklenen değeri ise, o zaman $\langle\Psi^*|1|\Psi\rangle = \langle\Psi^*|1|\Psi\rangle$, 1'in beklenen değeridir. Bunun açıkça 1 olması gerektiğinden, tüm fiziksel dalga fonksiyonları ψ için $\langle\Psi^*|\Psi\rangle = 1$ olduğunu biliyoruz.

Diğer ana kısıtlama Schrödinger denkleminde gelmektedir:

$$i\hbar\frac{\partial}{\partial t}\Psi = -\frac{\hbar^2}{2m}\nabla^2\Psi + V\Psi$$

Bu denklem Newton'un kuantum mekaniği yasaları gibi çalışır ve sistem için hareket denklemlerini sağlar. Bu denklemin sezgisi klasik enerji denkleminde gelmektedir. Klasik olarak, $E = p^2/2m + U$, burada E enerji, p momentum ve U potansiyeldir. Kuantumda bu değerler operatörlerle değiştirilir. Denklem sol tarafı $i\hbar\frac{\partial}{\partial t}$ enerji operatörüdür. Momentum, momentum operatörü $p = -i\hbar\nabla$ ile

değiştirilir. Son olarak potansiyel enerji V potansiyeli ile değiştirilir. Denklemin sağ tarafı (Ψ üzerinde bir operatör olarak ele alındığında) Hamiltonyen, \hat{H} olarak adlandırılır. Bir durumun yalnızca enerji operatörünün bir öz vektörü olduğunda zamandan bağımsız veya durağan olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu bize zamandan bağımsız Schrödinger denklemi $E\psi = \hat{H}\psi$ verir. (Gösterimde çoğunlukla zamana bağlı dalga fonksiyonunu temsil etmek için büyük Ψ , zamandan bağımsız dalga fonksiyonunu temsil etmek için ise küçük ψ harfi kullanılır.) Enerji operatörü Hamiltonyen'e eşit olduğundan, bu, çözümlerimiz için bir temel olarak kullanmak üzere Hamiltonyen'in öz durumlarını arayabileceğimiz anlamına gelir. Bunun oluşturduğu vektör uzayına Hilbert uzayı denir ve bir sonraki bölümde tartışılacaktır. Tüm "süperpozisyonlar", enerji öz durumlarının doğrusal bir kombinasyonu olan durumlar, zaman içinde deterministik olarak gelişir. Dolayısıyla, bu problemlerin çözülmesinin en yaygın yolu, önce enerji öz durumlarının listesini bulmak, sonra bunlardan durumu oluşturmak ve son olarak da enerji durumlarının etkileşiminden durumun zaman içindeki değişimini bulmaktır.

Son kısıtlama dalga fonksiyonunun sürekliliği ve düzgünlüğü ile ilgilidir. Dalga fonksiyonu her zaman sürekli. Ayrıca, potansiyelin sonludan sonsuza gittiği noktalar dışında her yerde düzgün olmalıdır. Son olarak, potansiyelin süreksiz olduğu durumlar dışında dalga fonksiyonu iki kez türevlenebilir olmalıdır.

1.2 Hilbert Uzayı

Fizik açısından bir Hilbert uzayı, $\langle ., . \rangle$ çarpımına ve $\|v\| = \sqrt{\langle v, v \rangle}$ ile tanımlanan bir norma sahip bir vektör uzayıdır. Teknik olarak, bir tamlık koşulu da vardır, ancak bu koşul fiziksel olarak gerçekleştirilebilir tüm sistemler için geçerlidir, bu nedenle fizikçiler matematiksel bir ispat olmadan geçerli olduğunu varsayabilirler. Hilbert uzayları kuantum mekaniği için önemlidir çünkü fiziğin durumları ve operatörleri temsil etmek için vektörleri ve matrisleri kullanmasına izin verir. Bu, bu nesnelere aritmetik işlemler yapmayı ve farklı durumlar arasında ortogonalite gibi özellikleri göstermeyi kolaylaştırır. Bununla birlikte, çok sayıda parçacık içeren sistemler gibi bazı pratik durumlarda Hilbert uzayları ile çalışmak zor olabilir. Bunun nedeni, böyle bir sonuç uzayının safça beklenebileceği gibi parçaların doğrudan toplamı değil, bu parçaların tensör çarpımı olmasıdır. İki parçacıklı bir sistem ele alalım. Her parçacığın spini $1/2$ 'dir, yani $+1/2$ (spin yukarı veya $|\uparrow\rangle$) veya $-1/2$ (spin aşağı veya $|\downarrow\rangle$) açısal momentuma sahip olabilir. Böyle bir sistemin dört olası konfigürasyonu vardır: $|\uparrow\uparrow\rangle, |\downarrow\downarrow\rangle, |\uparrow\downarrow\rangle$ ve $|\downarrow\uparrow\rangle$. Bu dört durum, sistemin tüm olası durumları için bir baz seti oluşturur. Dolayısıyla, bu durumların doğrusal kombinasyonları olan durumlar oluşturmak da mümkündür.

$|\Psi\rangle = \frac{1}{\sqrt{2}}|\downarrow\uparrow\rangle + \frac{1}{\sqrt{2}}|\uparrow\downarrow\rangle$ şeklinde bir durum tanımlayalım. Bu durum, $\Psi(|\uparrow\uparrow\rangle)$ ve $\Psi(|\downarrow\downarrow\rangle)$ sıfır olmayan bir dalga fonksiyonuna sahip olacaktır, çünkü $|\Psi\rangle$ her iki duruma da ortogonal değildir, yani durumun spinlerini ölçmek ya $|\downarrow\uparrow\rangle$

durumunu ya da $|\uparrow\downarrow\rangle$ durumunu üretebilir. Ancak, durumu $|\uparrow\uparrow\rangle$ veya $|\downarrow\downarrow\rangle$ konfigürasyonunda gözlemlene şansı yoktur, bu nedenle

$$\Psi(\uparrow\uparrow) = \Psi(\downarrow\downarrow) = 0$$

olur. Normalde spinlerden bir dalga fonksiyonuna sahip olarak bahsedilmez, ancak bir sistem üzerinde sinir ağı kullanmak için sistemi bir durum veya vektör yerine bir fonksiyon açısından tanımlanması gerekir. Spinleri bir dalga fonksiyonu ile tanımlamak, dalga fonksiyonundan uyarlanan bir notasyondur. (Giuseppe Carleo and Matthias Troyer, 2017)

Bu sisteme üçüncü bir parçacık eklemeyi seçersek, bunun yerine sekiz gözlemlenebilir konfigürasyona sahip oluruz. Temelimiz artık: $|\uparrow\uparrow\uparrow\rangle, |\uparrow\uparrow\downarrow\rangle, |\uparrow\downarrow\uparrow\rangle, |\uparrow\downarrow\downarrow\rangle, |\downarrow\uparrow\uparrow\rangle, |\downarrow\uparrow\downarrow\rangle, |\downarrow\downarrow\uparrow\rangle, ve |\downarrow\downarrow\downarrow\rangle$ vektörlerinden oluşmaktadır. Hilbert uzayını germesi için gereken baz vektörlerinin sayısı, sisteme eklediğimiz her yeni parçacıkla birlikte iki katına çıkmaya devam eder. Sistemimiz 45 parçacığa sahip olduğunda, sadece baz vektörlerini listelemek için birkaç terabaytlık disk alanı gerekecektir.

Verilen bu bilgiler, bu tür sistemlerle ilgili basit sorunların bile çözümünün zor olduğu karmaşıklık sınıflarına dahil olduğunu gösteriyor. Sistemin en düşük enerji seviyesini bulmak, NP-Zor bir problem olarak kabul edilir. (Lucas, 2014) En düşük enerjiye sahip olan kaç durum vektörü olduğunu bulmak ise #P-Zor bir problem olarak sınıflandırılır. Kuantum mekaniksel bir sistemde bir Turing makinesi yapmak mümkün olduğundan, belirli bir özelliğin bir sistemin tüm zamana bağlı gelişiminde korunup korunmayacağına ilişkin önemli soruların yanıtları belirsizdir.

Tüm bu nedenlerden dolayı, bu kuantum durumlarının uygun bir şekilde depolanabilen ve manipüle edilebilen temsillerinin bulunması önemlidir. Bu da bir tür yaklaşım yapmayı gerektirir ve farklı yaklaşımlar bazı durumlarda diğerlerine göre daha iyi sonuç verir. Örneğin matris çarpım durumları, kritik veya ölçekle değişmeyen sistemleri tanımlama yeteneğine sahip değildir, ancak lokalize Hamiltonyenleri tanımlamada çok etkilidir. O halde amacımız, çoğu fiziksel sistemi keyfi bir doğrulukla doğru bir şekilde temsil edecek şekilde ayarlanabilen bir yaklaşım bulmaktır.

Ancak bu yöntemlerin detaylarına girmeden önce, sorunun daha detaylı bir tanımına ihtiyacımız var. Şimdilik, yaklaşımımızı Hamiltonyen yalnızca spine bağlı olduğu spin 1/2 parçacıklı sistemlerle sınırlayacağız. Böyle bir sistemin dalga fonksiyonunun \mathbb{R}^{2^n} 'den \mathbb{C} 'ye bir fonksiyon olduğunu söyleyebiliriz. Bu fonksiyona az bellek kullanarak olabildiğince yaklaşmak istiyoruz. Bunun için geleneksel olarak tensör ağları ve Metropolis-Hastings algoritması gibi sayısal yöntemler kullanılmaktadır.

1.3 Klasik Yaklaşım Yöntemlerine Bakış

1.3.1 Tensör Ağları

Dalga fonksiyonuna yaklaşmak için iyi bilinen bir teknik Tensör Ağıdır. (Jacob Biamonte and Ville Bergholm, 2017) Bu teknikler, tanımladıkları sistemlerin geometrisini verimli bir şekilde temsil edebilmeleri açısından bir avantaja sahiptir. Tensörler, matrislerin daha yüksek boyutlara genelleştirilmesidir. Bir matris, katsayıların bir kare kümesi olarak düşünülürse, tensörler n ranklı bir tensör için katsayıların bir küpünü veya n ranklı bir tensör için n boyutlu bir hiperküpe temsil edebilir. Biçimsel olarak, bir T tensörü, tensörün rankına eşit sayıda indisi (a, b, ...) olan çok boyutlu bir dizidir. Tensörler, çok cisimli sistemlerin kuantum durumlarını temsil etmenin yararlı bir yolu olarak ortaya çıkmaktadır, çünkü üstel boyutları bu sistemlerdeki dolaşıklık faktörüyle eşleşmektedir. Ancak bu üstel boyut yine de bir bellek sorunu yaratır. Parametre sayısını sınırlamak, karmaşık tensör yapılarını daha yönetilebilir hale getirmek için kullanılan bir stratejidir. Tensor ağları, yalnızca belirli bir boyutta ve belirli bir şekilde düzenlenmiş tensörleri kullanmaya dayanır. Bu, büyük tensörleri daha küçük ve daha özgül bileşenlere bölmeyi ve böylece hesaplama maliyetini azaltmayı amaçlar. Bu yöntem, karmaşık hesaplamaları daha işlenebilir hale getirmeye ve hesaplama kaynaklarını daha verimli kullanmaya yardımcı olur.

Tensörler bir matris veya vektörün yüksek boyutlu bir benzeri olarak işlev gördüğü için, daha yüksek boyutta işlev gören matris veya vektör çarpımının bir genelleştirmesini de gerektirir. Bunun iki şekli doğrudan çarpım ve tensör daralmasıdır. Doğrudan çarpım, kartezyen dış çarpımın bir genellemesidir. Eğer iki tane giriş tensörü A ve B sırasıyla a ve b rankında ise, çarpım tensörü a+b rankındadır. $i_1 \dots i_a$ ve $j_1 \dots j_b$ her bir tensörün ayrı elemanları için indisler olmak üzere;

$$E_{i_1 \dots i_a}^{j_1 \dots j_b} = A_{i_1 \dots i_a} * B_{j_1 \dots j_b}$$

şeklinde gösterilir. Örneğin $v = [a \ b \ c]$ ve $w = \begin{bmatrix} d \\ e \\ f \end{bmatrix}$ iki vektör olmak üzere

bu vektörlerin tensör çarpımı $\begin{bmatrix} ad & bd & cd \\ ae & be & ce \\ af & bf & cf \end{bmatrix}$ dir.

Tensör daralması, bir toplama işlemi içerdiğinden, bir dış çarpımdan çok bir iç çarpıma benzer. Tüm indisleri yeni vektöre eklemek yerine, belirli indisler toplanır. Bir matris çarpımı buna iyi bir örnektir. A ve B iki matris olmak üzere,

$$C_i^j = \sum_k A_i^k * B_k^j$$

dir.

Tensör ağının bağ boyutu, ağdaki her bir tensörün boyutuyla ilgilidir ve birlikte çarpılabilme şekillerini sınırlar. Bir tensör daralması gerçekleştirirken üzerinde toplanan indislerin sayısıdır. Bir sistemi mükemmel bir şekilde temsil etmek için, sistemin boyutuna eşit bir bağ boyutuna ihtiyacımız olacaktır. Bununla birlikte, düşük, sabit bağ boyutlarında iyi yaklaşımlar mümkündür. Fiziksel olarak ilgili hemen hemen tüm sistemlerin bu şekilde ifade edilebileceği ortaya çıkmıştır.

Tensör ağları, tensör daralmaları ile bağlanan tensör kümeleri olarak yazılır. Bu işlem, herhangi bir ranktaki tensörlere uygulanabilen genelleştirilmiş bir matris çarpma biçimidir. Bu işlemi kullanarak, bazı büyük tensörleri birkaç küçük tensör üzerinde bir tensör daralması olarak yazabiliriz. Bu formülasyon, daha küçük tensörler sabit bir boyuta sahipse, belirli bir durumu temsil etmek için sistemde yalnızca polinom sayıda katsayı kullandığından, asıl biçimlendirme üzerinde önemli bir ölçek iyileştirmesidir. Daha da iyisi, tensör daralmasında kullanılan indislerin fiziksel öneme sahip olduğu ortaya çıkmaktadır. Bunlar, dalga fonksiyonundaki dolaşıklık derecesine karşılık gelen D boyutu ile sistemdeki çok cisimli dolaşıklık yapısını temsil etmek üzere alınabilir ve tensörlerin kendileri parçacık bölgelerine karşılık gelir.

Tensör Ağının en ünlü versiyonu belki de Matris Çarpım Durumudur(Matrix Product State (MPS)). Bu, 1 boyutlu bir kafesi modellemek için rank 2 tensörleri (matrisler) kullanan uzaysal bir durumdur. Her bir bölge bir matris ile temsil edilir. Komşu bölgeler arasındaki etkileşimler matrisler arasındaki bağ indisleri ile temsil edilir ve açık indisler yerel Hamiltonyen'deki serbestlik derecelerine karşılık gelir. MPS'ler, matrislerin sonlu sayıda uzaysal adımda bir döngü içinde tekrar etmesi koşulunu getirerek öteleme açısından sabit olmayan sistemleri verimli bir şekilde temsil edebilir. MPS'ler lokal, boşluklu Hamiltonyenlerin düşük enerjili bölgelerini temsil etmede etkili olsalar da, düşük enerjili durumların spektrumu sürekli olduğunda veya Hamiltonyen oldukça yerel olmayan etkileşimlere bağlı olduğunda başarısız olmaya başlarlar. Özellikle, sistem bu noktaya yaklaştıkça korelasyon uzunluğu farklılaştığından, kritik bir noktanın yakınındaki sistemleri yaklaşık olarak temsil edemezler.

Korelasyon uzunluğu, uzak bölgelerdeki parçacıkların ne kadar birbiriyle ilişkili olabileceğinin bir ölçüsüdür. Tamamen rastgele bir sistemde, korelasyon uzunluğu sıfır olacaktır çünkü hiçbir parçacığın konumu diğerinkiyle ilişkili olmayacaktır. Ancak, ferromıknatis gibi düşük sıcaklıklarda bir spin sistemi "dondduğunda", korelasyon uzunluğu sonsuz olur çünkü her bir parçacık aynı yönü işaret eder ve dolayısıyla diğer tüm parçacıklarla korelasyon halindedir. Bu "donmuş" durumları temsil etmek genellikle çok zor değildir çünkü düşük entropiye sahiptirler ve geleneksel olarak tanımlanmaları daha kolaydır. Ancak, matris çarpımı durumları faz geçişine yaklaştıkça daha yüksek sıcaklık durumlarını tanımlamakta zorlanabilir. Bu gibi durumlar donmuş bölgelerle henüz donmamış bölgelerin bir kombinasyonunu gösterebilir ve bu nedenle bu tür bir yaklaşımla iyi çalışmaz.

1.3.2 Metropolis-Hastings Algoritması

Tensör ağları bağımsız durumlara yaklaşmaya çalışırken, Metropolis-Hastings algoritması biraz daha farklı bir işleve hizmet eder. Metropolis algoritması özünde bir Monte Carlo önseçim algoritmasıdır. Hedef dağılımı yeniden oluşturmadan başka bir dağılımdan örnekleme etkisini yeniden oluşturmaya çalışır.

Metropolis Hastings algoritması, daha spesifik olmak gerekirse, bir Rastgele Gezinen Markov Zinciri Monte Carlo algoritmasıdır. Bu algoritmalar hedef olasılık dağılımını bir Markov Zinciri olarak modellerki bu da her bir düğüm arasında geçiş olasılıkları olan yönlendirilmiş bir grafiktir. Her bir düğüm, sistemin içinde bulunabileceği olası bir durumu temsil eder. Bu nedenle, grafikte her duruma karşılık gelen bir "aktif" düğüm bulunur. Bu grafik Markovian'dır ve geçiş olasılıklarının yalnızca mevcut duruma bağlı olduğu anlamına gelir.

Dağılım, Markov zinciri üzerinde rastgele bir gezinti yapılarak üretilir. Ancak, normal bir rastgele yürüyüşün aksine, durum otomatik olarak önerilen yeni duruma dönüşmez. Bunun yerine, önerilen her yeni durumu, o durumun gerçekleşmesi halinde a priori olasılığa dayalı olarak geri çevirme şansı vardır. Eğer yeni durum eskisinden daha olası ise, yeni durum hemen kabul edilir. Aksi takdirde, yeni durumun reddedilmesine yönelik rastgele bir olasılık söz konusudur. a kabul olasılığı, x mevcut durum, x' önerilen yeni durum ve $P()$ bir durumun gerçek dağılımda meydana gelme olasılığı olmak üzere bu olasılığın formülü

$$a = \frac{P(x')}{P(x)}$$

olur.

Tam algoritma daha sonra aşağıdaki adımları izler:

1) Durum uzayından rastgele bir x durumu seçin

2) *for* i *in* $range(n)$

Komşu bir x' durumu seçin

$a = \frac{P(x')}{P(x)}$ olarak ayarlayın

$u = [0; 1]$ içinde rastgele sayı

$u \leq a$ ise: $x(t + 1) = x'$

else if $u > a$: $x(t + 1) = x$

Bu, geleneksel Bayesian olasılık dağılımları için iyi sonuç verir, ancak bu algoritmayı fiziksel sistemlere uygularken biraz daha zorlaşır. Burada kabul edilme şansını hesaplamak için olasılıklar yerine enerjilerden yararlanır. Bunun için de Boltzmann dağılımı kullanılır. Bu teoriye göre, belirli bir tek parçacıklı

mikro durumdaki beklenen parçacık sayısı $e^{\frac{-E}{kT}}$ ile orantılıdır. Buradan E , x in enerjisi; E' , x' nün enerjisi T de sıcaklık olmak üzere (Birçok MCMC algoritması, bir sistemdeki rastgelelik derecesi için bir sıcaklık ayarlama parametresi içerir. Sıcaklığın aslında fiziksel bir sıcaklığa atıfta bulunduğu birkaç durumdan biri budur. Burada sıcaklık, belirli bir durumun olasılığını hesaplamak için Maxwell-Boltzmann istatistiklerinin kullanılmasından kaynaklanır.)

$$\frac{P(x')}{P(x)} = \frac{e^{-E'/(kT)}}{e^{-E/(kT)}} = e^{-(E'-E)/(kT)}$$

Sonucu elde edilir.

1.3.3 Hubbard Modelleri

Hubbard modelleri, kuantum çok parçacıklı sistemlerin güçlü etkileşim durumlarını tanımlayabilen, teorik fiziğin kullanılan diğer modellerine nispeten basit, ancak karmaşık örgü yapılarında da kullanılabilen modelleridir. Hubbard modeli; özellikle katı hal fiziğinde, iletken ve yalıtım sistemleri arasındaki faz geçişini tanımlamak için kullanılan yaklaşık bir modeldir. John Hubbard'ın adını taşıyan Hubbard modeli: bir örgüdeki etkileşen parçacıkların en basit modelidir ve Hamiltonyen'de sadece iki terim vardır. (Hubbard, 1963)“ Parçacıklar, Hubbard'ın orjinal çalışmasında olduğu gibi fermiyonlar veya “Bose– Hubbard modeli” modeli olarak adlandırıldığında bozonlar olabilir. Bozonlar için örgü modelinin ilk olarak Gersch ve Knollman (Gersch, 1963) tarafından türetildiğini bilmemizde fayda vardır.

Hubbard modeli, yeterince düşük sıcaklıklarda periyodik bir potansiyeldeki parçacıklar için iyi bir yaklaşımdır. Parçacıklar arasındaki uzun menzilli etkileşimler göz ardı edilebildiği sürece, tüm parçacıklar en düşük Bloch bandındadır. Örgünün farklı bölgelerindeki parçacıklar arasındaki etkileşimler dahil edilirse, model genellikle “Genişletilmiş Hubbard modeli”olarak adlandırılır.

John Hubbard, elektronları tanımlamak için,1963 yılında Fermi Hubbard modellerini tanıttı, başka bir deyişle katılarda, spin $\frac{1}{2}$ fermionları göstermiş oldu. Model, özellikle birden büyük boyutlarda onu sayısal olarak simüle etmenin etkili bir yöntemi olmadığından, yoğun bir şekilde incelenmiştir. Bu karmaşıklık nedeniyle, örneğin tam köşegenleştirme, çeşitli pertürbatif genişlemeler, ortalama alan / eşleşme teorisi, ortalama alan / küme genişlemeleri, slave bozon teorisi, fermiyonik Kuantum Monte Carlo (Lee, 2010), veya daha yeni tensör ağ yaklaşımları gibi çeşitli hesaplama yöntemleri (Chung, 2013), çelişkili nicel ve hatta nitel sonuçlara yol açar. Yalnızca tek boyutlu Fermi Hubbard modeli analitik olarak çözülebilir (Essler, 2005). 2B Fermi Hubbard modeli veya daha doğrusu, zayıf bir şekilde bağlanmış 2B Fermi Hubbard modelleri dizisi, yüksek sıcaklık süperiletkenliğini tanımladığına inanılan çağdaş yoğun madde fiziğinin ilgi odağıdır. Geçen yüzyılın sonunda, ultra soğuk atomların, iyonların ve

moleküllerin fiziğindeki gelişmeler nedeniyle çeşitli Hubbard modelleri üzerinde çalışmalar muazzam bir şekilde yoğunlaşmıştır.

1.3.4 Standart Hubbard Modellerinin Geleceği

Doğal bir ilk adım olarak, standart Bose-ve Fermi-Hubbard modellerini, yani girişte belirtildiği gibi sadece kinetik bir terime ve bir tür etkileşime sahip olan modelleri oluşturulmalı. Bose - Hubbard modelinin statik özelliklerine, yalnızca çok büyük ve çok soğuk olmayan sistemler için QMC simülasyonları ile bu modelin denge dışı dinamikleri kısa zamanda ve verimli bir şekilde hesaplanabilir. Fermi - Hubbard modelinin durumu daha da zordur: burada ne statik ne de dinamik özellikler, orta düzey sistem boyutları için bile verimli bir şekilde simüle edilemez. Bu modeller, laboratuarlarda yeterli bir hassasiyet ve kontrol ile gerçekleştirilebilmeleri koşuluyla, optik kafeslerde ultra soğuk atomlar ile kuantum simülasyonları ile çalışılabilen sistemlerin paradigma örnekleridir (Lewenstein, 2007).

Bununla birlikte, ilginç bir şekilde, ultra soğuk atomlarla simüle edilen birçok Hubbard modelinin standart bir formu yoktur; karşılık gelen Hamiltoniyenler sıklıkla, en düşük banttaki ilişkileri, işgale bağımlı tünelleri, ayrıca ilişkili tünelleri ve daha yüksek bantların işgalini içeren terimleri içerir. Bu etkiler, son on yılda birçok farklı deneyde gözlenmiştir. Bunların bir kısmı:

- Yoğunluğa bağlı tünelleme gözlemleri (Jürgensen, 2012) (Meinert, 2013)
- Fermi - Bose karışımlarında Mott geçişinin kayması (Best, 2009) (Günter, 2006)
- Bozonik sistemde Mott izolatör (Mark M.J, 2011)
- Yerinde etkileşimlerin modifikasyonları (Bakr, 2011) (Campbell, 2006) (Mark M.J, 2011) (Uehlinger, 2013) (Will, 2010)
- Uyarılmış bantların etkileri (Anderlini, 2007) (Browaeys, 2005) (Köhl, 2005) (Muller, 2007) (Georg Wirth, 2011)
- Dinamik spin etkileri (de Paz, 2013) (Pasquiou, 2010)

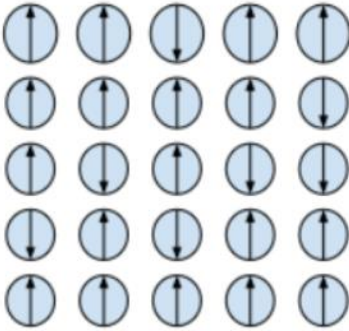
Bu standart olmayan terimlere; engel veya fırsat olarak iki şekilde bakılabilir. Bir yandan, standart Hubbard modellerini kuantum simüle etme girişimlerinde dikkatli olunmalıdır. Öte yandan, standart olmayan Hubbard modelleri kendi başlarına son derece ilginçtir: yeni ekzotik kuantum aşamaları, kuantum faz geçişleri ve diğer kuantum özellikleri sergilerler. Bunların kuantum simülasyonu başlı başına zorlu bir görevdir! Bu tür modeller artık deneysel erişim dahilinde olduğundan, deneysel bulguları tanımlamak ve ultra soğuk kuantum gazları için yeni tahminler yapmak için onları incelemek ve anlamak gerekir. Bu nedenle, son yıllarda bu tür çalışmalarda oldukça ilerleme kaydedilmiştir.

1.3.5 *Ising Model*

Hilbert uzaylarının yüksek boyutluluğu, yoğun madde fiziğinde diğer alanlara kıyasla çok daha fazla sayıda parçacıkla ilgilenme eğiliminde olduğundan, yoğun madde fiziğini diğer alanlardan çok daha fazla etkilemektedir. Bu nedenle, yukarıda tartışılan yaklaşım yöntemlerinin çoğu ilk olarak istatistiksel mekanik modelleri üzerinde test edilmiştir. Bu tür modellerin en yaygın olanı 2D Ising modelidir. Bu model bazen istatistiksel mekaniğin hidrojen atomu olarak da adlandırılır. Kuantum mekaniğindeki hidrojen atomu gibi, çok basittir, ancak daha karmaşık modellerde bulunan ilginç düşüncelerin çoğunu sergiler. Model, kare şeklinde 2 boyutlu bir kafes içinde bir dizi spinden oluşur. Her spin yukarı ya da aşağı durumda olabilir. Hamiltonyen'in iki terimi vardır. Biri en yakın komşu etkileşimidir. Hizalanmış parçacıkların enerjiye bir $-J$ katkısı vardır ve hizalanmamış parçacıkların $+J$ katkısı vardır. Bu modelin ferromanyetik (kendi kendine hizalanabilen) versiyonu için $J = 1$ olarak düşünülebilir. İkinci terim manyetik alandan gelir. Manyetik alanla aynı hizada olan parçacıkların enerjiye katkısı $-h$ iken, alanla aynı hizada olmayan parçacıkların katkısı $+h$ 'dir. σ_i , i konumundaki parçacığın spinini ölçen operatör olmak üzere hamiltonyen;

$$H = J \sum_{ij} \sigma_i \sigma_j + h \sum_i \sigma_i$$

şeklinde yazılır. Burada ilk toplama yalnızca komşu parçacıklar üzerinden yapılır.



Şekil 15. 2 boyutlu Ising modelinin bir konfigürasyonu

Bu sistemin temel durumunun tüm parçacıklar manyetik alanla aynı yönlü olduğunda ortaya çıktığını görmek kolay olacaktır. Bununla birlikte, bu sistemin bir faz geçişi olduğunu göstermek daha az zahmetlidir. Belirli bir sıcaklıkta ($J = 1$ ve $h = 0$ olduğunda $T = 2.269$), sistem aniden temel halden düzensiz hale geçer. Aslında sayısal yöntemler için yaygın bir ölçüt, bu faz geçişini yeniden üretebilme becerileridir.

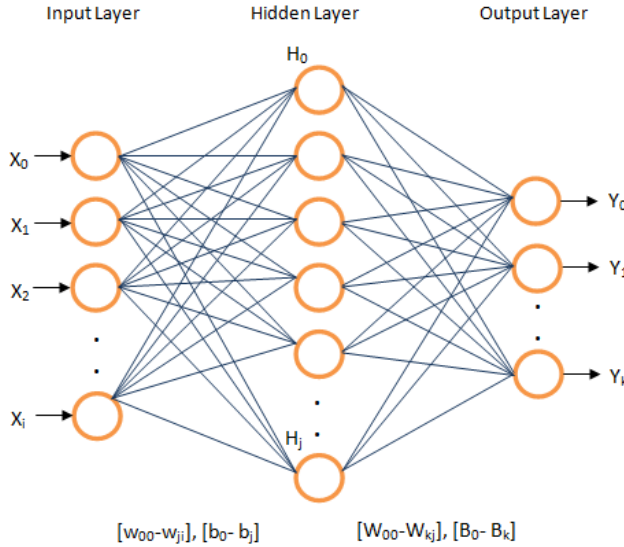
1.4 Yapay Sinir Ağları ve Kuantum Durumları

1.4.1 Kısa Bir Sinir Ağı Tanıtımı

Yapay Sinir ağları, makine öğrenimi yöntemleri arasında en ilginç olanlarından biridir. Başlangıçtaki, 60 yıllık tarihleri boyunca oldukça önemli ölçüde değişmişlerdir. Bir sinir ağını neyin oluşturduğunun tanımı da, bazen mevcut yöntemlere benzerlikten çok benzetme yoluyla değişmiştir. Algılayıcılar, Hopfield ağları, Boltzmann makineleri, spiking ağları ve modern derin mimarilerin, toplamayı içeren grafiksel yöntemler olmaları dışında çok az ortak noktası vardır. Dahası, bazı sinir ağı sınıfları kanıtlanabilir şekilde Turing-complete'dir, yani verilen herhangi bir bilgisayar programını mükemmel şekilde taklit eden bir sinir ağı oluşturmak her zaman mümkündür. Bu nedenle, sinir ağlarının belirli bir problem türü için bir araç olduğunu bile söyleyemeyiz, çünkü herhangi bir problemi çözebildikleri gösterilebilir. Bu bölümde, iki ağı sınıfına odaklanacağız: Çok katmanlı algılayıcılar gibi farklılaştırılabilir ağlar ve derin mimariler ve Boltzmann makineleri.

Çok Katmanlı Algılayıcılar (MLP'ler), daha eski algılayıcı modelinin sınırlamalarına yanıt olarak geliştirilmiştir. Her iki modelin yapısı da matris çarpımı katmanlarından oluşur ve sonrasında bir aktivasyon fonksiyonu uygulanır. Ağ, girdi olarak n boyutunda bir sayı vektörü alır. Her nöron N_i için, çıkış katmanındaki her bir O_j değeri bir w_{ij} ağırlığı ile çarpılır ve ardından bir β_j biası ile toplanır. Nöronun giriş ağırlığı α_i olmak üzere;

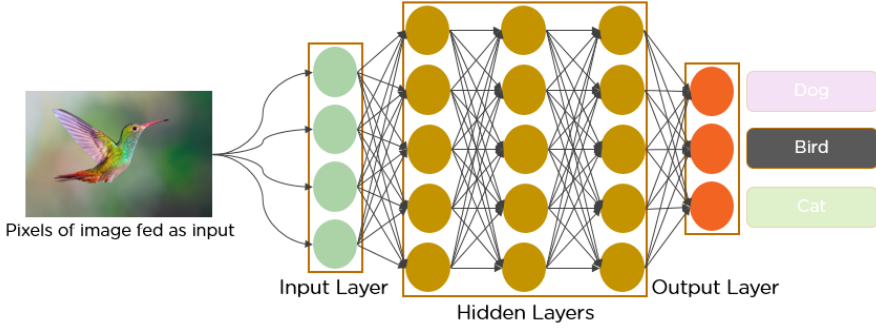
$$\sum_{j=0}^n (w_{ij} * O_j + \beta_j)$$



Şekil 16. Multi-layer Perceptron

Bunun beyindeki akson ve dendritlerin çalışma şekline benzediği varsayılmaktadır. Her bir nöronun potansiyeli, önceden belirlenmiş nöronlardan gelen potansiyellerin toplamıdır. Bu iki nöron modelini birbirinden ayıran şey aktivasyon fonksiyonudur. Algılayıcı sistemlerde aktivasyon fonksiyonu, nöronun uyarı verip vermediğini temsil eden basit bir eşik değeridir. MLP'lerde bu aktivasyon fonksiyonu bunun yerine zaman içindeki ortalama döngü frekansını temsil eden bir sigmoiddir. Bu önemlidir çünkü sigmoid farklılaştırılabilir bu nedenle sigmoidlerin ve matris çarpımlarının bir araya getirilmesiyle oluşturulan ağlar da farklılaştırılabilir. Tüm ağın farklılaştırılabilir olması, ağın kademeli iniş (gradient descent) ile eğitilebileceği anlamına gelir. Eski perceptron modeli, yalnızca iki katmanlı modelleri eğitebilen ve bu nedenle yalnızca doğrusal işlevleri öğrenebilen biyolojik olarak esinlenmiş bir öğrenme algoritması olan Hebbian kuralını kullanmakla sınırlıydı. Ancak kademeli iniş, keyfi derinlikteki ağları eğitebilir ve herhangi bir işlevi isteğe bağlı doğrulukla yaklaştırmalarına olanak tanır.

MLP'lerle aynı temel yapıya sahip olan derin ağlarda, tıpkı MLP'lerde olduğu gibi çok geniş üç katman yerine daha fazla sayıda dar katman kullanılır. 'Derin' kelimesi de bunu ifade eder. MLP'ler her zaman üç katmana sahiptir, derin ağlar bazen yüzlerce katmana sahiptir. Buradaki temel mantık, birden fazla katmana sahip olmanın, veriler ağda yukarı doğru hareket ettikçe ağın daha fazla ve daha yüksek soyutlama seviyelerinde yararlı veri temsillerini öğrenmesine olanak sağlamasıdır. Matematiksel olarak, derin ağların bazen aynı doğruluğa ulaşmak için sığ ağlardan katlanarak daha az parametre gerektirdiğini gösteren birkaç verimlilik teoremi vardır. Ancak, ağ derinleştikçe alt düzey katmanları eğitmek zorlaşır. Bir sigmoidin gradienti her yerde ≤ 1 'dir, bu nedenle daha düşük bir katmana geri dönen her zincir kuralı, gradientlerin ≤ 1 'sayısı ile çarpılmasını içerir. Bu da gradyanların alt seviyelerde katlanarak küçülmesine neden olur. Modern derin mimarilerin çoğu bu sorunu en aza indirecek yöntemler üzerine inşa edilmiştir. Bu yöntemlerden en iyi bilineni konvolüsyonel ağıdır. Konvolüsyonel ağlar, görüntü tanıma gibi kaydırma değişmezliği veya benzer boyutsal simetrilere sahip sistemler için kullanılır. Bu ağlarda, alt katmanlar sadece yerel bağlantıları olan küçük bir nöron kümesinden oluşur ve bu nöronlar her seferinde bir artış olmak üzere tüm girdi katmanı üzerinde süpürülür (konvolüsyonlanır). Görüntüler için bu oldukça etkilidir çünkü kenar belirleme gibi düşük seviyeli temsiller görüntünün neresinde olurlarsa olsunlar önemlidir. Daha yüksek katmanlar da benzer bir yapıya sahiptir ve gittikçe daha karmaşık özellikler oluşturmak için diğer nöronları daha düşük seviyeli nöronların çıktılarını üzerinde dönüştürür. Örneğin, ilk katman kenarları ararsa, daha yüksek seviyeler köşeleri, T şekillerini ve çapraz noktaları tanımayı öğrenebilir. Bu ağlar aynı zamanda belirli bir alandaki nöronlardan en yüksek verimi seçerek bir sonraki katmana aktaran ve diğerlerini bırakan havuzlama veya alt örnekleme katmanlarını da içerir. Bu, hassas konum bilgisini kaybetme pahasına ağın boyutunu önemli ölçüde azaltarak ağ için gerekli parametre sayısını azaltır.



Şekil 17. Basit bir konvolüsyonel ağ

Boltzmann makineleri ileri beslemeli tip ağlardan çok farklıdır. Daha geleneksel sinir ağlarının aksine, belirlenebilir, farklılaştırılabilir aktivasyon fonksiyonları kullanmazlar. Bunun yerine, aktivasyonlar olasılıklı ve ikilidir. Sigmoidal aktivasyon fonksiyonu yerine, girdinin mantıksal fonksiyonuna eşit bir döngü olasılığı olan ikili bir aktivasyon fonksiyonu kullanılır. Bu tür bir ağdaki bağlantılar, geleneksel sinir ağlarındaki yönlü kenarlardan farklı olarak çift yönlüdür ve hem giriş hem de çıkış katmanı olarak çalışan yalnızca tek bir görünür nöron kümesi vardır. Çift yönlü kenarlar, tüm sistem üzerinde bir enerji fonksiyonunun tanımlanmasına izin verir. Zaman içinde ağ, durum vektörünün yalnızca sistemin enerjisi tarafından belirlendiği bir Boltzmann dağılımına yakınsar. Tipik olarak, bu dağılım genel amaçlar için kullanılır. Ağ, eğitim vektörleri dağılıma göre yüksek olasılığa sahip olacak şekilde eğitilir. Bu dağılımın örneklenmesi daha sonra eğitim vektörlerine benzer vektörler verir. Boltzmann makinelerinin en önemli sorunu, ikiden fazla katmana sahip olmaları halinde eğitilmelerinin üstel zaman almasıdır. Öte yandan, yalnızca iki katmanlı Boltzmann makinelerinin belirli dağılımlara yaklaşması için üstel olarak büyük olması gerekir.

1.4.2 Nöral Kuantum Durumları

Carleo ve arkadaşlarının Nöral Kuantum Durumları (NQS), kuantum mekanik problemlerinin üstesinden gelmek için sinir ağlarını kullanmaya yönelik ilk oldukça başarılı girişimdi (Giuseppe Carleo and Matthias Troyer, 2017). Bu teknik, kuantum mekaniği problemlerinin üstesinden gelmek için diğer sayısal yöntemlerin yetersizliklerine bir yanıt olarak görülebilir. Kuantum Monte Carlo yöntemlerinin aksine, NQS'ler işaret problemiyle karşılaşmaz. Matris Çarpım Durumlarının aksine, sinir ağları korelasyon uzunluğuna ilişkin sınırlarının olmaması nedeniyle kritik sistemlerin modellenmesinde zorluklarla karşılaşmaz. Büyük-N limitinde evrensel bir fonksiyon yaklaşımcısı olarak sinir ağları diğer yöntemlere göre önemli bir avantaj sunar. İyi araştırılmış olmaları ve evrensellik konusundaki kanıtların çeşitliliği, onları tercih edilen bir seçenek haline getirmektedir.

NQS, başlangıçta olasılık dağılımlarının öğrenilmesinde kullanılan iki katmanlı bir sinir ağı mimarisi olan ikili olarak etkinleştirilen Kısıtlı Boltzmann Makinesi (RBM) üzerine kurulmuştur. Bu tasarım, şu anda bu özel yapının nadiren kullanıldığı düşünüldüğünde şaşırtıcı bir seçimdir. Derin Boltzmann Makinesi'ne daha hızlı eğitim veren bir alternatif olarak 2000'li yılların ortalarında popülerlik kazanmıştır. Ancak, son 5-10 yılda çok daha az kullanılmıştır. Bunun nedeni daha üretken modellerin yerini almış olmasıdır.

Carleo bu mimarinin iki amacını açıklamaktadır. İlk adım, genellikle temel durum olarak bilinen en az enerji miktarına sahip enerji öz vektörünü bulmaktır. Bu önemlidir çünkü çoğu sistemde temel durum, bulunması en muhtemel konfigürasyondur. Örneğin, bir hidrojen atomunu oda sıcaklığında temel durumunun dışında bulma olasılığı 10^{171} 'de bir civarındadır. Çok sayıda sistem için, iyi bir tahmin elde etmek için yalnızca temel durum ve başlangıçtaki birkaç uyarılmış durumun yaklaşık olarak hesaplanması yeterlidir.

Yapay sinir ağı bakımından, en düşük enerjiyi bulmak basittir: Hamiltonyen'in beklenen değerini en aza indiren ağırlık kümesini bulmak. Verilerin Metropolis-Hastings algoritması gibi bir Markov Zinciri Monte Carlo (MCMC) yöntemi kullanılarak otomatik olarak üretilebilmesi, bu yöntemin hiç bir zaman verilerinin tükenmemesini veya aşılmasını sağlar. Hamiltonyen ayrıca çok az ince ayar gerektiren yerleşik bir kayıp fonksiyonu avantajı sunar. Bununla birlikte, başka bir sorun da konfigürasyon uzayının büyüklüğüdür. Ağın gerçek Hamiltonyenini değerlendirmek için, ağı tüm 2^N konfigürasyonda (her olası spin kombinasyonu için bir konfigürasyon) değerlendirmek gerekir. Bunu izlenebilir kılmak için araştırmacılar bunun yerine konfigürasyon uzayını örnekleme ve Hamiltonyen için yaklaşık bir değer bulmak için bir MCMC yöntemi kullanmaktadır. Bu yöntemi kullanarak, N'nin sistemin boyutu olduğu $O(poly(N))$ zamanında belirli bir doğrulukla bir sistemin temel durumunun bir yaklaşımını elde etmek mümkündür.

Bu ağ türlerinin ikinci kullanımı, belirli bir durumun zaman içindeki gelişimini gözlemlemektir. Bunu başarmak için, ağın ağırlıkları zamana bağlı hale getirilir ve ağdan zamana bağlı bir çıktı elde edilir. Kullanılan yaklaşım Hamiltonyen yerine değişen kalıntıları minimize etmektir ve bunlar varyasyonel Monte Carlo yöntemi kullanılarak örneklenir.

Carleo ve arkadaşları, temel durumu belirleme problemi için diğer yaklaşım yöntemleriyle karşılaştırılabilir kalitede sonuçlar üretebildiklerini göstermişlerdir. İki boyutlu bir Ising modeli için kendi temel durum yaklaşımları ile iki kuantum tensör ağı türü olan EPS (Exact Product State) ve PEPS (Projected Entangled Pair States) kullanılarak elde edilen sonuçlar arasında karşılaştırmalar yapmışlardır.

Exact Product State (EPS), bir kuantum sistemini temsil etmek için kullanılan bir matematiksel ifadedir. Bu ifade, kuantum mekaniğindeki bir sistemdeki durumları anlamak ve modellemek için kullanılır. Exact Product State; Bir

kuantum sistemini ifade etmek için kullanılan vektörün, tek bir tekil çarpanın (product) çarpımı şeklinde ifade edilmesidir. Yani, sistemdeki her bir parçacığın durumu, tek bir matematiksel ifade içinde çarpanlarla çarpılarak elde edilir. PEPS (Projected Entangled Pair States) ise, kuantum manyetik sistemler gibi çeşitli kuantum sistemlerini incelemek ve simüle etmek için kullanılan bir tür tensör ağ (tensor network) temsilidir. PEPS, özellikle kuantum alanında yoğun etkileşim gösteren sistemleri modelleme amacıyla geliştirilmiştir.

Buna göre sistemdeki gizli nöronların sayısı bir tensör ağının bağ boyutuna benzerlik göstermektedir. Bu varsayımına dayanarak, nöral kuantum durumunun performansı, benzer bir tensör ağına kıyasla yüksek bir bağ boyutuyla önemli ölçüde daha hızlı artmaktadır. Bağ boyutu 4 olan bir NQS 10^{-5} hatasına ulaşırken, PEPS 10^{-3} 'e ulaşamamıştır.

Çalışmanın sonuçları kayda değer olsa da, alternatif bir yöntemi tercih etmek için çeşitli gerekçeler bulunmaktadır. Öncelikle, RBM bu çalışmada bir regresyon görevi üstlenmek üzere uygulanmıştır. Sorun, belirli bir sistem konfigürasyonunun alınması ve söz konusu konfigürasyon için dalga fonksiyonunun değerini temsil eden tek bir kompleks değer üretmesi olarak formüle edilmiştir. Normalde, bu tür görevler için diğer ağ mimarileri kullanılır. Basit ileri beslemeli ağlar ve konvolüsyonel ağlar, özellikle değişen varyanslı durumlarda bu sorun için etkili çözümlerdir. Makalenin ekinde, yazarların neden bir RBM uyguladıklarına dair bir açıklama yer almakta ve RBM'nin yalnızca yaygın mimarilerin bu problem için etkili olmaması nedeniyle kullanıldığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle, diğer ağ mimarilerinin değiştirilmesinin daha iyi sonuçlar verebileceğini varsaymak mantıklıdır. Bu yöntemlerin etkisiz kalması halinde, basit bir görev gibi görünen bir konuyla uğraşırken neden bu kadar çok test edilmiş tekniklerin yetersiz kaldığı düşündürücü bir sorgulamaya yol açacaktır. Bu çıkmaz sadece ileri beslemeli mimarilere mi özgüdür yoksa ikili olmayan tüm aktif ağları kapsar mı? Farklı bir ağ mimarisine geçmeyi düşünmenin ikinci nedeni, sinir ağlarının son 10 yıldaki başarısının çoğunun RBM'ler gibi sığ ağlardan değil, evrimsel ağlar gibi derin ağlardan gelmesidir. RBM'lerin kullanım alanları olsa da, artık bir makine öğrenimi araç setinde birincil araç olarak görülüyorlar. Gelecekteki çalışmalar bölümünde belirttikleri gibi, yazarların kendileri de derin ağların daha iyi bir seçim olabileceğini düşünüyor gibi görünmektedir. Bu durum iki ilginç soruyu gündeme getirmektedir: 1) Derin ağlar, kuantum çok cisimli sistemlerle (QMBS) başa çıkmak için RBM'lerden daha iyi bir araç mıdır? 2) Derin ağların QMBS'lerdeki başarısızlığı genelse ve sadece bir uygulama hatası değilse, bu ağların diğer birçok benzer görevde iyi performans gösterdikleri bilinirken bu görevde iyi performans göstermelerini engelleyen nedir?

1.4.3 Derin Ağ - Sığ Ağ Karşılaştırılması

Derin ağlar sığ ağlara göre bazı avantajlara sahip olmakla birlikte bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Montufar ve arkadaşları tarafından derin ağların, sığ ağlar tarafından temsil edilenlere göre üstel olarak daha karmaşık olan fonksiyonları temsil etme kabiliyetine sahip olduğu gösterilmiştir (Guido F Montufar, 2014). Benzer bir şekilde Gao ve arkadaşları, P'nin NP'ye eşit olmadığı varsayımı altında Derin Boltzmann Makineleri (DBM'ler) ve Kısıtlı Boltzmann Makinelerinin (RBM) performansında asimptotik bir farklılığa dair kanıtlar sunmuşlardır (Xun Gao and Lu-Ming Duan, 2017). Bununla birlikte, DBM'lerin asimptotik anlamda eğitilmesinin çok daha zor olduğunu belirtmek gerekir. Kısıtlı Boltzmann Makinelerinin daha yaygın olarak kullanılmasının nedeni, polinom zamanlı bir öğrenme algoritmasına sahip olmalarıdır. Sonuç olarak, başka bir derin mimari kullanmanın DBM kullanmaktan daha elverişli olması kuvvetle muhtemeldir. Derin öğrenme uygulamalarının çoğunda, derin bir ağın kullanılması, eğitim verilerinin doğasında bulunan belirli bir simetriden yararlanma arzusuyla motive edilir. Görüntülerden öğrenme söz konusu olduğunda, görüntüde tasvir edilen nesneyi değiştirmeyen çeviriler gibi anlamsal simetrilere dayanarak yararlanır. Örneğin, birkaç piksel sola kaydırılmış bir araba resmi hala bir araba resmi olarak özünü korur. Aynı prensip küçük döndürmeler, ölçeklendirmeler, renk tonu değişimleri ve küçük miktarlardaki rastgele gürültüler için de geçerlidir. Bu simetriten, bu tür değişikliklere karşı değişmez olan ağların oluşturulmasını sağlar. Buna ek olarak, resimlerin doğası gereği önemli bir lokalize olma özelliğine sahip olduğunu belirtmek gerekir. Piksellerin önemi, görüntünün en uzak uçlarında yer alanların aksine, kendilerine yakın komşu piksellerden büyük ölçüde etkilenir. Konvolüsyonel ağların önemli başarısının ardındaki temel neden, bu özel simetri türlerinden etkili bir şekilde yararlanma ve bunlardan faydalanma konusundaki büyük kabiliyetleridir. Katmanlar arasında tam bağlantı gerektirmeyen mimarileri sayesinde, konvolüsyonel ağların alt katmanları yalnızca görüntü içindeki belirli bölgelere özgü ve ayırt edici yerel özellikleri tanımlamaya ve yakalamaya odaklanır. Ayrıca, bu aynı yerel özelliklerin görüntü içindeki her bir konumda tutarlı bir şekilde çıkarılması ve tanımlanması oldukça önemlidir.

Bir kuantum sistemi için mimari tasarlama görevi söz konusu olduğunda, diğer araştırma alanlarında karşılaştığımız benzer sorunlarla karşılaşırız. Önemli bir husus, yerel etkileşimlere öncelik verilmesini gerektiren sonlu korelasyon uzunluğuna sahip bir sistemin modellenmesidir. Bunu başarmak için, özellikle bu tür etkileşimlere odaklanmak amacıyla Kısıtlı Boltzmann Makinesi'nde (RBM) değişiklikler yapmak gerekli hale gelir. Ayrıca, genellikle sisteme öteleme ve/veya dönme değişmezliği gibi çeşitli simetriten yararlanmak istenir. Konvolüsyonel sinir ağları, bu simetritelere doğal olarak sahip olan modellere bir örnektir ve onları bu özelliklere sahip sistemleri modelleme görevinde oldukça verimli kılar. Bu yerleşik simetritelere dayanarak, konvolüsyonel sinir ağları bu tür sistemlerin modellenmesinin etkinliğini önemli ölçüde artırma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, bir kuantum sistemi için bir mimari

tasarlarken bu faktörleri göz önünde bulundurmak, genel performansını ve amaçlanan sistemi doğru bir şekilde temsil etme yeteneğini büyük ölçüde etkileyebilir.

2 Kaynakça

- Anderlini, M. P.-S. (2007). Controlled exchange interaction between pairs of neutral atoms in an optical lattice. *Nature*-448.
- Bakr, W. S. (2011). Orbital excitation blockade and algorithmic cooling in quantum gases. *Nature*, 480.
- Best, T. S. (2009). Role of Interactions in Rb-K-Bose-Fermi Mixtures in a 3D Optical Lattice. *PHYSICAL REVIEW LETTERS*.
- Browaeys, A. H. (2005). Transport of atoms in a quantum conveyor belt. *PHYSICAL REVIEW A*.
- Campbell, G. K. (2006). Imaging the Mott Insulator Shells by Using Atomic Clock Shifts. *Science* 313.
- Christian Szegedy, W. L. (2014). Going Deeper with Convolutions.
- Chung, M.-H. (2013). A Solution of the Hubbard Model. *arXiv:1311.5300v2*.
- de Paz, A. A. (2013). Resonant demagnetization of a dipolar Bose-Einstein condensate in a three-dimensional optical lattice. *PHYSICAL REVIEW A*.
- Essler, F. H. (2005). *The One-Dimensional Hubbard Model*. Cambridge: CambridgeUniversity Press, .
- Georg Wirth, M. Ö. (2011). Orbital superfluidity in the P-band of a bipartite optical square lattice. *Nature Physics volume 7, pages147–153* .
- Gersch, H. A. (1963). Quantum Cell Model for Bosons. *American Physical Society*.
- Giuseppe Carleo and Matthias Troyer. (2017). Solving the quantum many-body problemwith artificial neural networks. *Science* 355.
- Guido F Montufar, R. P. (2014). On the number of linear regions of deep neural networks,. *arXiv:1402.1869*.
- Günter, K. T. (2006). Bose-Fermi Mixtures in a Three-Dimensional Optical Lattice. *PhysRevLett*.
- Hubbard, J. (1963). Electron correlations in narrow energy bands. *royalsocietypublishing*.
- Jacob Biamonte and Ville Bergholm. (2017). Tensor Networks in a Nutshell,. *arXiv preprint arXiv:1708.00006*, 22.

- Jürgensen, O. K.-S. (2012). Density-induced processes in quantum gas mixtures in optical lattices. *American Physical Society*.
- Köhl, M. H. (2005). Fermionic Atoms in a Three Dimensional Optical Lattice: Observing Fermi Surfaces, Dynamics, and Interactions. *PHYSICAL REVIEW LETTERS*.
- Lee, Y.-W. a.-F. (2010). Superfluid-insulator transitions in attractive Bose-Hubbard model with three-body constraint. *American Physical Society*.
- Lewenstein, M. A. (2007). Ultracold atomic gases in optical lattices: mimicking condensed matter physics and beyond. *Adv. Phys*, 56,243.
- Lucas, A. (2014). Ising formulations of many NP problems. *Frontiers in Physics* 2, 5.
- Mark M.J, E. H.-C. (2011). Precision Measurements on a Tunable Mott Insulator of Ultracold Atoms. *PHYSICAL REVIEW LETTERS*.
- Meinert, F. M. (2013). Quantum Quench in an Atomic One-Dimensional Ising Chain. *PHYSICAL REVIEW LETTERS*.
- Muller, T. a. (2007). State Preparation and Dynamics of Ultracold Atoms in Higher Lattice Orbitals. *Phys. Rev. Lett*.
- Pasquiou, B. G. (2010). Spin Relaxation and Band Excitation of a Dipolar Bose-Einstein Condensate in 2D Optical Lattices. *PHYSICAL REVIEW LETTERS*.
- Uehlinger, T. G. (2013). Artificial Graphene with Tunable Interactions. *Phys. Rev. Lett*. 111, 185307.
- Will, S. T.-S. (2010). Time-resolved observation of coherent multi-body interactions in quantum phase revivals. *Nature*-465.
- Xun Gao and Lu-Ming Duan. (2017). Efficient representation of quantum. *Nature communications* 8.

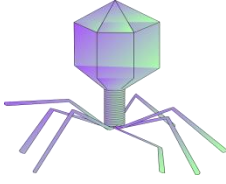
BÖLÜM 15

BAKTERİYOFAJ TERAPİSİ

Prof. Dr. Sema AGÜLOĞLU FİNCAN ¹

¹ Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
ORCID: 0000-0003-0147-4411

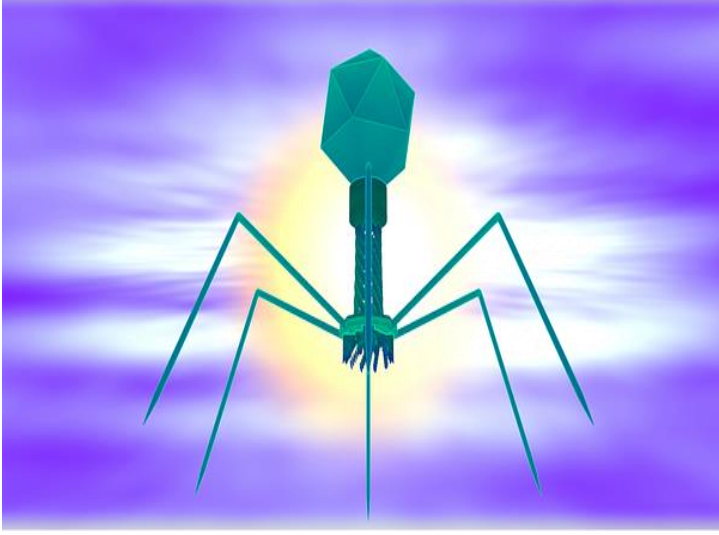
Giriş



Bakteriyofaj terapisi günümüzde antibiyotiklere alternatif tedavilerin başında gelmektedir (Furfaro ve ark. 2018). İnsanlarda hastalık yapıcı özelliği olmayan ve bakterilere karşı savaşan bakteriyofajlar, bakteriyel enfeksiyonlara karşı kullanılabilir güçlü bir silahtır (Hesse ve Adhya 2019). Spesifik olarak bakterileri enfekte edip lizisine neden olan bakteri virüsleridir. Konakçılarıyla milyarlarca yıl boyunca birlikte evrimleşmiş ve geleneksel antibiyotiklerin etkinliğini ciddi şekilde azaltan hücre dışı biyofilm üretimi gibi bakteriyel savunmalara karşı koymak için mekanizmalar edinmişlerdir (Burrowes ve ark. 2011).

İlk kez 1896 yılında Ernest Hanbury Hankin Hindistan'daki Ganj ve Yamuna nehirlerinde kolera içeren bakteri kültürlerini yok eden virüsleri tespit etmiştir. Frederick Twort, 1915'te, bunun bir antibakteriyel virüs etkinliği olabileceğini ifade etmiştir. 20-30 dakikalık kısa yaşam döngüsü olan, bu bakteri virüsleri, 1917'de bakteriyolog Felix d'Herelle (1873-1949) tarafından "bakteri yiyen" anlamına gelen "bakteriyofaj" olarak adlandırılmış ve d'Herelle daha sonra Hindistan, Gürcistan, ABD ve Fransa'da bakteriyofaj terapi merkezleri kurulması için girişimde bulunmuştur (Aydoğan ve Hadımlı 2016, Summers 2001). 1940'ta Helmut Rushka fajları elektron mikroskopunda görüntülemiştir (Ustaçelebi ve ark. 1968).

Bakteriyofajlar (fajlar) bakteri metabolizmasına hasar vererek parçalanmasına neden olurlar (Abhilash 2008). 20-200 nm büyüklüğünde, DNA (Deoksiribonükleik asit) ya da RNA (Ribonükleik asit)'dan oluşan genetik materyal, onu çevreleyen protein kılıf ve bakterilere genetik materyalini aktarmaya yardımcı kuyruk kısımlarından meydana gelmişlerdir (Şekil 1).



Şekil 1. Bakteriyofaj (<https://pixabay.com/tr/>)

Doğada çok yaygın olan bakteriyofajlar mikrobiyal dengenin devamlılığında önemli yere sahiptirler (Sulakvelidze ve ark. 2001). Bakterilerin yoğun olduğu sindirim sistemi, dışkı, lağım, göl, dere, gübreli topraklar gibi alanlarda olmakla birlikte konakçının olduğu her yerde bulunurlar ve buralardan kolayca izole edilebilirler (Arda 2011). Biyosferde saniyede yaklaşık 10^{23} faj enfeksiyonun gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Bakteriyofajlar bakterilere özgüdür ve insan hücrelerine zarar vermez. Yapılan çalışmalarda faj terapisiyle ilgili yan etki bildirilmemiştir. Bu özelliği ile insanlarda bakteriyel enfeksiyonlara karşı tedavide kullanılabilme potansiyeline sahiptir (Gündoğdu ve Ulu-Kılıç 2018).

Fajlar, iki çeşit yaşam döngüsüne sahiptir; litik ve lizojenik. Faj terapisinde yalnızca bakterilerin parçalanmasına ve ölmesine sebep olan litik fajlar kullanılır; lizojenik siklusda virüs DNA'sı bakteri DNA'sına entegre olup onunla replike olduğu için, lizojenik fajla enfekte olan bakteriler kullanılmaz (Luong ve ark. 2020). Bakteriler geleneksel antibiyotiklerin etkinliğini ciddi şekilde azaltan hücre dışı biyofilm üretimi gibi bakteriyel savunmalara karşı koymak için mekanizmalar edinerek antibiyotiklere karşı giderek daha dirençli hale gelmektedir. İlaça dirençli bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için litik bakteriyofajların kullanımı, son yıllarda oldukça ilgi gören bir yaklaşımdır (Hesse ve Adhya 2019).

1920-1950 yılları arasında yaygın bir şekilde kullanılan faj terapisi, antibiyotiklerin bulunması ile terk edilmiştir. Antibiyotiklerin geniş spektrumlu olması ve belli bir standartlarda üretilmesi gibi avantajları nedeniyle Eski Sovyetler Birliği ve Doğu Avrupa dışındaki ülkelerde faj terapisinden vazgeçilmiştir (Sulakvelidze ve ark. 2001, Baş 2020).

Günümüzde antimikrobiyal direncin artması, çoklu dirençli patojenlerin tedavisinde artan zorluklar, dirençli mikroorganizmalar için antibiyotik seçeneklerinin kısıtlı olması antibiyotik öncesi çağa döneceğinin sinyallerini vermesi; alternatif tedavilere yönelimi sağlamış ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde unutulmuş bakteriyofaj çalışmalarının yeniden canlanmasına sebep olmuştur (Gündoğdu ve Ulu-Kılıç 2018, Cisek 2017, Levin ve Bull 2004).

İnsanlarda ilk olarak D'Herelle tarafından dizanterili ve vebalı hastalara faj uygulamaları yapılmıştır. 2008 yılında Rusya ve Gürcistan arasında çıkan savaşta fajlar askerlerin tedavisinde yoğun bir şekilde kullanılmıştır. 1982 yılında Smith ve Bob Huggins yeniden gündeme getirmiş ve batı ülkelerinde yoğun bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Hesse ve Adhya 2019). Bakteriyel dirençle gelişen enfeksiyonların tedavisi için bakteriyofajların kullanımı her geçen gün artmaktadır (Şekil 2). Canlı fajlar Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin neden olduğu ölümcül bulaşıcı, yaşamı tehdit eden hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Qadir 2015). Özellikle immün yetersizliği olan hastalarda başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Abedon 2011).

2005 yılında Polonya'da Hirszfild İmmünoloji ve Deneysel Terapi Enstitüsü'nde Avrupa sınırları içinde bu tür ilk merkez olan Faj Terapi Birimi, hızla yaygın antibiyotik direnci sorunuyla karşı karşıya olan dünyadaki diğer merkezler için bir model haline geldi. Gürcistan, Polonya ve Rusya'da 100 yıla yakın bir süredir tablet ve likid preparatlar şeklinde başarıyla uygulanmaktadır. Gürcistan ve Polonya'nın faj terapi merkezlerindeki faj bankalarında, sürekli güncellenen çok sayıda farklı faj toplanmakta ve depolanmaktadır (Kutter 2010, Kutateladze ve Adamia 2010). Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı ilk faj preparatı 2006 yılında *Listeria monocytogenes*'e litik etkili olan faj preparatıdır. Günümüzde, ABD, Almanya, Çin, Danimarka, Gürcistan, Hollanda ve Kanada başta olmak üzere pek çok ülkede ticari faj preparatı üretimleri yapılmaktadır.

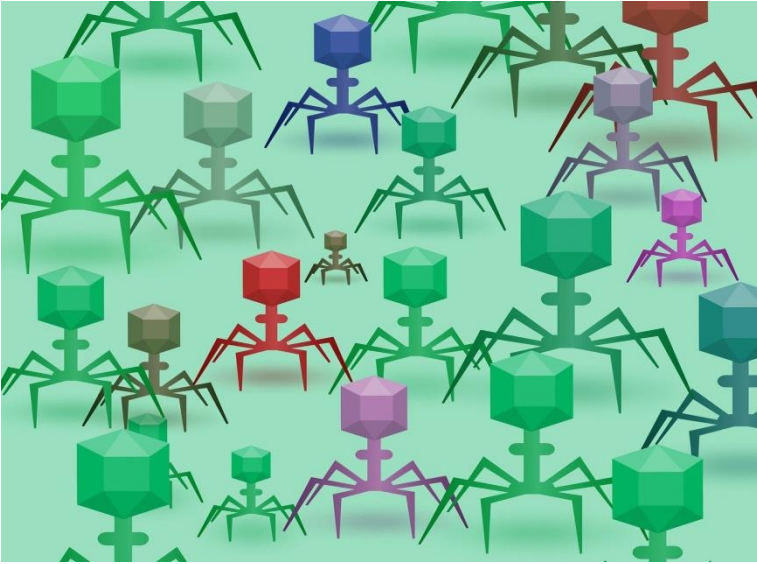
Fajlar, ayrıca moleküler biyoloji, tarım ve biyoteknoloji alanlarında; gen tedavisinde, patojenik bakterilerin tespitinde, yeni nesil rekombinant antikorların geliştirilmesinde biyolojik kontrol maddesi olarak taze sebze meyvelerdeki

dekontaminasyonların önlenmesinde ve gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmak amacıyla doğal koruyucu olarak kullanılmaktadır.

Faj Terapi Uygulaması

Hastadan alınan örneklerde bakteriyolojik analizler yapılarak enfeksiyon bölgesinde hangi bakteri türünün ya da türlerinin bulunduğu belirlenir. Laboratuvar sonuçları ile desteklendikten sonra, mikrobiyologlar tarafından uygun bakteriyofaj seçilerek uygulamalar yapılır. Faj ile enfekte olmuş bir bakteri lizis olduğunda yaklaşık 100 faj serbest hale geçer ve her biri yeni bir bakteri hücreğini enfekte edebilir (Şekil 2). Bu döngü tüm duyarlı bakteriler ölünceye kadar devam eder (Hanlon 2007).

Fajların, ilaç rezistans bakterilere karşı antibiyotiklerle birlikte modern teknolojiler kullanılarak uygulanması başarı şansını yükseltmektedir Antibiyotik tedavisinin sonuç vermediği bakteriyel enfeksiyonlarda faj terapisi yüksek etkinlik (%85) göstermektedir (Hesse ve Adhya 2019).



Şekil 2. Faj Terapisi (<https://pixabay.com/tr/>)

Diyabetik Ayak Yaraları

Diyabet hastalarında, uzun süreli antibiyotik uygulaması diyabetik nefropati ve karaciğer yetmezliğine neden olduğundan, yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmakta ve *faj terapisi*, bakterilerce enfekte olmuş ayak yaralarının tedavisinde güvenli ve etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Polonya, Fransa, Rusya ve

Gürcistan gibi ülkelerde ayak yaraları faj terapisi ile etkili bir şekilde iyileştirilmektedir.

Diyabetik ayak yaralarında faj terapisi uygulanırken ilk olarak enfekte olmuş yaradaki patojen türü belirlenerek ilk önce yara dokusu uzaklaştırılır ve yara boşluğuna bakteri türüne spesifik hazırlanan faj preparatı uygulanır. Yaklaşık 2-3 hafta süren tedavi süreci sonucu mikrobiyal analizler ile kontrol edilir. Klinik uygulamalar birçok karmaşık ve tedavisi zor diyabetik ayak yaralarının kısa sürede ve güvenli bir şekilde bakteriyofaj tedavisi ile iyileştiğini ve enfeksiyonun tekrarlamadığını göstermiştir.

Ortopedik İmplant Enfeksiyonları

Eklemin protezinde kullanılan implant hasarlı eklemin yerini alarak işlevini devam ettirdiği süreçte bakteriyel enfeksiyonlara karşı oldukça hassas hale gelir. Bu noktada bakteriyofajlar spesifik bakterileri hedef alan güvenilir alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Bakteriyofaj sadece enfeksiyona neden olan bakterileri öldürmekle kalmaz, aynı zamanda tedaviyi zorlaştıran biyofilm tabakalarının oluşumunu da bozar.

Osteomyelit

Osteomyelit tedavisindeki zorluklar nedeniyle yıllardır alternatif tedavi yöntemleri araştırılmaktadır (Cobb 2019). Kızarıklık, şişme, hareketlerde zorlanma, şiddetli ağrılar ile kendini gösteren osteomyelit; antibiyotik veya cerrahi müdahale ile tedavi edilir. Ancak doğru yöntemler ile tedavi edilmezse, kronikleşme etkisiyle kemiğe kan akışını engelleyip kemik dokusunun tamamen kaybına yol açabilir. Özellikle son yıllarda faj terapisi, osteomyelit tedavisinde dirençli bakterilerin neden olduğu zor enfeksiyonların tedavisinde kolay ve etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

Göz hastalıkları

Göz enfeksiyonlarında da faj terapisinden yararlanılmaktadır. Antibiyotiğe dirençli bakteriyel akut konjunktivitli çocuklara faj terapisi uygulanmış, hastaların hepsinin yedi günde iyileştiği ve hastalığın tekrarlamadığı gözlenmiştir (Abedon 2011).

Faj preparatlarının uygulanması

Fajlar daha çok oral, aerosol yollarla ve lokal olarak uygulanabilmektedir (Sulakvelidze ve ark. 2001).

Oral: Oral faj uygulaması gastrointestinal hastalıklar ve bazı sistemik hastalıkların tedavisinde başarılı olmuştur. Bu uygulamada faj, yiyecek ve içeceklere ilave edilerek kullanılır (Ryan 2011).

Lokal, topikal: Lokal ve topikal faj uygulamalarının konjuktivit, otit, açık yara enfeksiyonu, yanık gibi durumlarda etkili olduğu belirtilmiştir. Faj preparatı aynı zamanda ölü dokuları uzaklaştırarak fajın tüm hızlı üreyen bakterilere de ulaşmasını kolaylaştırır (Slopek 1987).

Aerosol: Solunum yolu enfeksiyonlarında sprey formundaki faj preparatları kullanılarak tedavi sağlanmaktadır.

Etki Mekanizması

Bakteriyofajlar, hedef bakterileri spesifik olarak tanıyabilecekleri reseptör moleküller taşıır. Bu şekilde bakterileri tanıyıp bağlanır, genetik materyallerini (DNA ya da RNA) bakteri içine aktararak kendi genlerini çoğaltmaya başlar. Bu süreç bakteriyofajın enfekte ettiği bakteriyi parçalamasıyla devam eder ve faj diğer bakterilere tutunarak bu süreci tekrarlar. Litik (yıkıcı ve eritici) döngü adı verilen bu süreç, sonunda enfeksiyon kaynağı bakteriler fajlar tarafından ortadan kaldırılır.

Fajların Antibiyotiklere Karşı Üstünlükleri

1. Bakteriyofajlar bakteri türüne spesifiktirler; antibiyotikler hedef bakteri yanı sıra bir çok bakteriyi de etkileyebilir, etki spektrumu geniştir.

2. Terapötik etki oluşturmak için, faj çoğu zaman tek doz yeterlidir, tekrarlanması gerekmez; antibiyotikler belirli dozda, periyodik olarak uzun süreli kullanılmalıdır.

3. Kronik enfeksiyonlarda antibiyotiklere göre daha az maliyetli olabilmektedir; yeni antibiyotik geliştirilmesi oldukça uzun zaman alır ve yüksek maliyet ister.

4. Bakteriyofajlar, çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilere karşı da etkilidirler. Direnç gelişemez (Faj da kendini yeniler); antibiyotiklere direnç gelişebilir.

5. Yan etkileri yoktur, sadece lizis sırasında oluşan endotoksinlerin hafif yan etkilere neden olduğu belirtilmiştir; antibiyotiklerin birçok yan etkisi vardır (O'Flaherty ve ark. 2009, Miğdzybrodzki ve ark. 2007, Hanlon 2007).

Sonuç

Günümüzde önemli bir sorun haline gelen antibiyotik direnci ve antibiyotik kullanım maliyetinin artması; insan ve evcil hayvanlarda, bazı bitkilerde hastalık yapıcı bakterilere karşı korunma-tedavide gerek bakteriyofaj ve gerekse diğer alternatif tedavilerin kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir. Faj tedavisi son birkaç yılda hızla gelişmekte ve bakteriyofajlar antibiyotiklere dirençli bakterilerde alternatif bir tedavi olarak kullanılabilir (Levin ve Bull 2004). Bu yöntem daha önce “terk edilmiş bir tedavi” olması sebebiyle bilim insanlarının bir kısmı günümüzde yönteme kuşkuyla yaklaşmasına neden olmaktadır. Ancak son zamanlarda yapılan hayvan ve insan denemeleri, fajların güvenli, iyi tolere edilen ve kimyasal maddelere alternatif olarak parlak bir geleceğe sahip olduğunu göstermektedir (Burrowes ve ark. 2011). Konakçı özgüllüğü nedeniyle spesifik etki göstermesi, yararlı bakterilere herhangi bir etki yapmaması, bilinen bir yan etkilerinin bulunmayışı avantajları arasında sayılabilir.

Sonuç olarak unutulmuş bir yöntem olarak bugün özellikle çoklu dirençli bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlarla mücadelede antibiyotiklere ciddi bir alternatif olan bakteriyofajlar ile terapide; çeşitli **stratejilerin geliştirilmesi**, genom teknolojileri kullanılarak terapide kullanılacak doğru litik fajların seçilmesi, tanımlanması, herhangi bir yan etkisi olmadığı bilirse de, faj terapisinin etkinliğini kanıtlayacak daha fazla klinik çalışma yapılması gerekmektedir. Ayrıca faj preparasyonlarının üretim, depolama ve taşıma sırasında stabilitesini garanti eden uygulanabilir faj üretim protokollerinin geliştirilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır.

Ülkemizde ise bakteriyofaj çalışan araştırmacıların her geçen gün artması ile izole edilerek karakterizasyonu yapılan fajların sayısı da artmaktadır. Ancak **çalışmalar kişisel ve gelişigüzel olarak yapıldığından** sonuçlar çoğu zaman paylaşılabilir değildir.

KAYNAKÇA

- Abedon ST, Kuhl SJ, Blasdel BG & Kutter EM. (2011). Phage treatment of human infections. *Landes Bioscience Journals, bacteriophage*, 1: 66-85.
- Abhilash M, Vidya A & Jagadevi T. (2008). Bacteriophage Therapy: A War Against Antibiotic Resistant Bacteria. *The Internet Journal of Alternative Medicine*. 7(1): 5.
- Arda M. (2011). Bakteriyofajlar (Bakteriyel Viruslar). Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi-Ankara. 182-194.

- Aydoğan DY & Hadımlı HH. (2016). Bakteriyofaj Tedavisi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 27 (1): 38-47
- Furfaro LL, Payne MS & Chang BJ. (2018). Bacteriophage Therapy: Clinical Trials and Regulatory Hurdles. *Front Cell Infect Microbiol*. 8:376.
- Baş B. (2020). Bakteriyofajlar (Bakteri Virüsleri): Antibiyotiklere alternatif tedavi. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 11 (1): 38-43.
- Burrowes B, Harper DR, Anderson J, McConville M & Enright MC. (2011). Bacteriophage therapy: potential uses in the control of antibiotic-resistant pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 9(9):775-85.
- Cisek AA, Dąbrowska I, Gregorczyk KP & Wyżewski Z. (2017). Phage Therapy in Bacterial Infections Treatment: One Hundred Years After the Discovery of Bacteriophages. *Curr Microbiol*, 74(2):277-283.
- Cobb L H, Park JY, Swanson EA, Beard MC, McCabe EM, Rourke AS, Seo KS, Olivier AK & Priddy LB. (2019). CRISPRCas9 modified bacteriophage for treatment of *Staphylococcus aureus* induced osteomyelitis and soft tissue infection. *PLoS ONE*, 14(11): e0220421.
- Gündoğdu A & Ulu-Kılıç, A. (2018). Bakteriyofaj Terapisi: Unutulmuş Bir Şifa Kaynağı. *Klinik Dergisi*, 31 (2) : 78-87.
- Hesse S. & Adhya S. (2019). Phage Therapy in the Twenty-First Century: Facing the Decline of the Antibiotic Era; Is It Finally Time for the Age of the Phage? *Annu Rev Microbiol*, 8:73:155-174.
- Hanlon GW. (2007). Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *IJAA*. 30: 118-128.
- Kutateladze M & Adamia R. (2010) Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol*. 28(12): 591-5.
- Kutter E, De Vos D, Gvasalia G, et al. (2010). Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. *Curr Pharm Biotechnol*. 11(1): 69-86.
- Levin BR & Bull JJ. (2004). Population and evolutionary Dynamics of phage therapy. *Nature Reviews Microbiology*, 2:166-173.
- Luong T, Salabarria AC & Roach DR. (2020). Phage Therapy in the Resistance Era: Where Do We Stand and Where Are We Going? *Clinical Therapeutics*, 42(9): 1659-1680.
- Międzybrodzki R, Fortuna W, Dąbrowska BW & Górski A. Phage therapy of staphylococcal infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment. *Postepy Hig Med Dosw*, 2007;61: 461-465.
- O'Flaherty S, Ross RP & Coffey A. (2009). Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. *FEMS*. 33: 801-819.

- Qadir MI. (2015). Review: phage therapy: a modern tool to control bacterial infections. *Pak J Pharm Sci*, 28(1):265-70.
- Ryan EM, Gorman SP, Donnelly RF & Gilmore BF. (2011). Recent advances in bacteriophage therapy: how delivery routes, formulation, concentration and timing influence the success of phage therapy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63: 1253-1264.
- Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M & Kucharewicz-Krukowska A. (1987). Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981–1986. *Arch Immunol Ther Ex*, 35: 569-583.
- Sulakvelidze A, Alavidze Z. & Morris GAJ. (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrob. Agentsch*, 45 (3) : 648-9-659.
- Summers WC. (2001). Bacteriophage therapy. *Annu Rev Microbiol*. 55: 437-451.
- Ustaçelebi Ş, Okuyan M & Odabaşıoğlu N. (1968). T4 R mutant bakteriyofajları ile serolojik deneyler ve normal insan serumlarının faj enfeksiyonunda stimulan etkisi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 4: 131-141.

BÖLÜM 16

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ KAMPÜSÜ LİKEN VE LİKENİKOL MANTAR FLORASI

İremşah ALPASLAN¹
Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA²

¹ Yozgat Bozok Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
ORCID: 0009-0008-3154-2917

² Yozgat Bozok Üniversitesi Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu
ORCID: 0000-0003-2306-8094

1. GİRİŞ

Likenler mantar ve fotosentetik bir ortaktan (yeşil alg veya siyanobakteri) meydana gelen, bazı durumlarda bu birlikteliğe bakterilerinde dahil olduğu zorunlu simbiyotik sistemlerdir (Hodkinson ve Lutzini, 2009; Selbmann vd., 2010). Liken oluşturan mantarlar çoğunlukla Ascomycota, çok daha nadir olarak da Basidiomycota bölümlerini içerir. Günümüzdeki sınıflandırma anlayışına göre likenler taksonomik bir birim olmayıp biyolojik bir birlik olarak kabul edilmekte, verilen isim likenin mantarına verilmektedir (Kence, 2005). Liken ortaklarından algler ise bir hücreli veya iplikli yapıda olabilirler. Bunlar Cyanobacteria (siyanobakteriler) diviziyosundan Chroococcus, Nostoc vs. ve Chlorophyta (yeşil algler) diviziyosundan Protococcus, Trentepohlia ve özellikle de Trebouxia cinlerinin bazı türleridir (Yıldız, 2002). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu birlikteliğe Acetobacteraceae ve Brucellaceae familyalarına ait bakteri türlerinin de dahil olduğu belirtilmiştir (Hodkinson ve Lutzini, 2009).

2. ARAŞTIRMA ALANININ COĞRAFİK DURUMU

Araştırma Alanı'nın içinde yer aldığı Yozgat İli, doğudan Sivas; güneyden Kayseri, Nevşehir, Kırşehir; batıdan Kırıkkale, kuzeyden ise Amasya, Çorum ve Tokat illeri ile çevrili olup, 34° 05'– 36° 10' doğu meridyenleri ile 38° 40'– 40°18' kuzey paralelleri arasında yer alır. Deniz seviyesinden yaklaşık 1300 metre yükseklikte olup 1403700 hektar toprağa sahiptir. 81 il arasında toprak genişliği bakımından 15. sırayı alır. İlin, doğudan batıya doğru gidildikçe yüksekliği azalmaktadır. Yozgat il alanı, doğudan Akdağlar, güneyden Delice Irmak Vadisi, kuzeyden de Deveci Dağları'yla çevrilidir. İl doğudan Sivas'ın Gemerek, Şarkışla ve Yıldızeli; kuzeyden Tokat'ın Artova ve Zile, Çorum'un Ortaköy, Alaca ve Sungurlu; batıdan Kırıkkale'nin Delice, güneyden Kırşehir'in Çiçekdağı, Nevşehir'in Kozaklı ve Avanos, Kayseri'nin merkez, Felahiye ve Sarioğlan ilçeleriyle komşudur. Yozgat arazisinin yüzey şekillerini platolar veya yaylalar, dağlar ve tepeler, ovalar olmak üzere üç ana grup oluşturmaktadır. İç Anadolu Bölgesi platolarının Yozgat'ta kalan bölümüne 'Bozok Platosu' denmektedir. İlin akarsuları; Delice Irmak, Kızılırmak ve Çekerek Irmağı ile onlara bağlı küçük dere ve ırmaklar bölgenin akarsu ağını oluşturmaktadırlar. İl içinde bulunan başlıca akarsular Çekerek Irmağı, Delice Irmak, Eriöz Suyu, Karacaali Suyu, Bişeközüdür. İlin büyük bir kısmı Orta Anadolu platoları üzerine doğru yaygınlık gösterir. Bu sebeple, ilin yeryüzü şeklini %51,4 çoğunluğunu platolar oluşturur. Yozgat ilinde dağlar düzenli sıralar oluşturmaz. Yeryüzü şekillerinin %37,7'sini ise dağlar oluşturur. Yozgat ilinde ovalık alanlar ise çok azdır ve %10,9'unu kapsar. 7 Araştırma alanı, Yozgat İli, Merkez İlçesi'nin güney doğusunda, Yozgat–Boğazlıyan–Kayseri Yolu, Atatürk Caddesi 7. km'de

bulunan 400 ha'lık bir alan içinde bulunmaktadır. 2.2. Alanın İklimi ve Toprak Yapısı Yozgat'ta İç Anadolu Bölgesi'nin yarı kurak karasal iklimi hâkimdir. Deniz etkisine kapalı olduğu için yazlar sıcak ve kurak; kışlar soğuk ve yağışlı geçer. Yaz ile kış, gece ile gündüz arasındaki sıcaklık farkları yüksektir. Sert iklim koşulları, Yeşilirmak havzasına giren Çekerek Vadisi'nde biraz yumuşamakta, az da olsa Karadeniz ikliminin etkileri görülmektedir. En soğuk aylar ocak ve şubat, en sıcak aylar temmuz ve ağustos aylarıdır. Alanda sıcak, kuru yazlar ve soğuk kışlar ile karakterize edilen Akdeniz iklimi baskındır. Yılda toplam yağış 544,8 mm ve mevsime göre yağış dağılımı kış, ilkbahar, sonbahar, yazdır. Yağış rejimi Yozgat'ta "Doğu Akdeniz Yağmur Rejimi Tip I"dir. Emberger'in Akdeniz biyoiklim katmanları sınıflamasına göre, Yozgat "üst yarı-kurak ve çok soğuk" dur. Kalkerli ana kaya oluşumu arka üst Mezozoik döneme gider. İki tip toprak görülür: kahverengi orman ve alüvyon toprak.

Liken örnekleri çalışma alanı olan Yozgat Bozok Üniversitesi Kampüsünden 06.06.2016– 28.08.2017 tarihleri arasında 4 lokaliteden toplanmıştır. Toplanan örneklerin konulması için sırt çantası, arazi bilgilerini kaydetmek amacıyla not defteri, kurşun kalem, kese kağıdı, hassas örneklerin sarılması amaçlı yumuşak kağıt ve örnekleri buldukları substrattan ayırmak için keski, çekiç ve bıçak gibi aletler kullanılmıştır. Tayinde stereomikroskop (OLYMPUS SZX16), ışık mikroskobu (OLYMPUS BX53), mikroskoplarla bağlantılı görüntüleme sistemi, oküler mikrometre, tür ve tür altı taksonların teşhisi için potasyum hidroksit (K), kalsiyum hipoklorit (C), p– fenilendiamin (PD), laktofenol, laktofuksin, Lügol (I), Melzer çözeltisi gibi bazı kimyasal reaktifler kullanılmıştır.

3. YÖNTEM

3.1. Toplama Yöntemi

Arazide toplanan örnekler kaya, toprak, karayosunu ve ağaç kabuğu gibi tercih ettikleri substratlar ile birlikte alınmıştır. Örneklerin tayininde kullanılacak morfolojik yapıların bozulmamasına özen gösterilerek toplanmıştır. Özellikle yapraksı türlerin toplanmasına daha fazla dikkat edilmiştir. Materyaller yumuşak kağıtlara sarılarak kese kağıtları içerisine alınmış ve torbalara konulmuştur. Ayrıca her bir torbanın içerisine örneğin substrat tipi, lokalite bilgileri ve ekolojik özellikleri de yazılmıştır. Herbaryuma getirilen materyaller, masaların üzerine yayılmak suretiyle birkaç gün süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler liken zarflarına alınarak etiketlenmiştir. 10 3.2.2. Tayin Yöntemi Liken örneklerinin tayininde başta flora kitapları olmak üzere makalelerde yer alan tayin anahtarları kullanılmıştır. Morfolojik incelemelerin hepsi stereo mikroskobu altında yapılmıştır. Anatomik incelemeler için stereo

mikroskop altında jilette alınan kesitler ışık mikroskopunda incelenmiştir. Bazı türlerin ayırımında kimyasal reaktiflerden de faydalanılmış olup bu kimyasal reaktifler ve sembolleri aşağıda gibidir K: Potasyum hidroksit çözeltisi. Yaklaşık %10'luk bir çözelti gereklidir ancak konsantrasyon çok kritik değildir. Bu çözelti kapalı bir kap içinde aylarca saklanabilecek stabil bir çözeltidir. C: Kalsiyum hipoklorit çözeltisi. Bu çözelti evlerde kullanılan birçok çamaşır suyunun ana bileşimidir. Sadece birkaç ay boyunca aktiftir ancak ucuz olması sık aralıklarla değiştirilmesine olanak verir. Aynı zamanda sık aralıklarla test edilmelidir. Reaksiyon genellikle çabuk geçer ve sadece birkaç saniye içinde sonlanabilir. KC: K uygulandıktan yaklaşık 30 saniye sonra kurutma kâğıdı ile alınır. Daha sonra bir damla C damlatılır. CK: C uygulandıktan yaklaşık 30 saniye sonra kurutma kâğıdı ile alınır. Daha sonra bir damla K damlatılır. P veya Pd: Parafenilendiamin. Bu çözelti stabil değildir ve bir kristali alkol içinde çözerek kullanılır. Daha sonra bu çözelti örneğe uygulanır. Çok daha stabil bir çözelti Steiner'in çözeltisi (1 gr parafenilendiamin, 10 gr sodyum sülfid, iki veya üç damla sıvı deterjan ve 100 ml su) olarak bilinir. Bu çözelti 3 aya kadar dayanır ancak belirli aralıklar ile test edilmelidir. P reaksiyonunun gelişmesi iki veya üç dakika alır, bu yüzden negatif sonuç kararına varmadan önce birkaç defa test edilmelidir. P'nin karsinojen olduğu düşünülmektedir, bu yüzden bu kimyasalı kullanırken çok dikkatli davranılmalıdır. I: İyot. İzolikenin (nişasta benzeri bir ürün) varlığının veya yokluğunun önemli olduğu durumlarda kullanılır. Bu reaktifler teşhis anahtarındaki yönlendirmeler doğrultusunda tallus, medulla, apotesyum ve sorallere damlatıldığında verdiği renk değişimine göre, sembolün yanına (+) konmuş ve hangi rengi verdiği yazılmıştır. Renk değişimi yoksa sembolün yanına (-) işareti konmuştur. Ayrıca saksikol türlerin substratlarının kalkerli veya silisli olduğunun tespiti için % 10'luk HCl kullanılmıştır. Kalkerli kayalar % 10'luk HCl ile köpürme şeklinde reaksiyon verirken silisli kayalar da böyle bir reaksiyon görülmez. Mikroskopik preparasyonlar su, %10 KOH ve Lugol çözeltilerinde yapılmıştır. Tür ve tür altı kategorileri belirlemede önemli karakterler olan spor boyutları, askus boyutları, himenyum yükseklikleri, parafizlerin genişlikleri oküler mikrometre ile ölçülmüştür.

4. BULGULAR

4.1. Tespit edilen taksonların sistematik pozisyonları

Yozgat Bozok Üniversitesi Kampüsü ve çevresinden farklı tarihlerde 5 farklı lokaliteden toplanan liken ve likenikol fungus örnekleri değerlendirilmesi sonucunda 11 ordo, 17 familya, 38 cinse ait 59 tür ve tür altı takson tespit edilmiştir (Tablo 1). Tespit edilen taksonların hepsi Ascomycota bölümünde sınıflandırılmaktadır.

Tablo 1. Yozgat Bozok Üniversitesi Kampüsünde tespit edilen liken ve likenikol fungusların sistematik çeşitliliği.

ORDO	Takson Sayısı		
	Familiya	Genus	Tür ve tür altı kategorileri
Acarosporales	1	2	2
Arthoniales	1	1	1
Pertusariales	1	2	3
Candelariales	1	1	5
Verrucariales	1	1	1
Ostropales	1	1	1
Lecanorales	5	13	25
Teloschistales	3	14	17
Peltigerales	1	1	1
Lichenotheliales	1	1	1
Rhizocarpales	1	1	2
Toplam	17	38	59

4.2. Çalışma alanında tespit edilen cinslerin sistematikteki konumu

(<http://index.fungorum.org>.’daki sınıflandırma sistemine göre verilmiştir) (Tablo 2).

Tablo 2. Tespit edilen cinslerin sistematikteki yerleri.

ASCOMYCOTA	
ACAROSPORALES	
Acarosporaceae:	Acarospora, Polysporina

ARTHONIALES	
Arthoniaceae:	Arthonia
PERTUSARIALES	
Megasporaceae:	Aspicilia, Megaspora
CANDELARIALES	
Candelariaceae:	Candelariella
VERRUCARIALES	
Verrucariaceae:	Dermatocarpon
OSTROPALES	
Graphidaceae:	Diploschistes
LECANORALES	
Cladoniaceae:	Cladonia

Parmeliaceae:	Cetraria, Melanelia, Melanohalea, Nesolechia, Parmelia, Xanthoparmelia
Lecanoraceae:	Lecanora, Lecidella, Protoparmeliopsis
Ramalinaceae:	Ramalina
Sporastatiaceae:	Sporastatia
TELOSCHISTALES	
Teloschistaceae:	Athallia, Blastenia, Caloplaca, Calogaya, Oxneria, Parvoplaca, Rusavskia, Variospora, Xanthoria,
Caliciaceae:	Dimelaena
Physciaceae:	Physcia, Physconia, Psora, Rinodina
PELTIGERALES	
Peltigeraceae:	Peltigera
LICHENOTHELIALES	
Lichenotheliaceae:	Lichenothelia
RHIZOCARPALES	
Rhizocarpaceae:	Rhizocarpon

4.3. Tespit edilen tür ve tür altı taksonların listesi

Çalışma alanında tespit edilen 59 adet tür ve tür altı taksonun listesi, lokalite numaraları ve üzerinde geliştiği substratları ve Tablo 3'te verilmiştir. Örneklerin toplandığı lokalite bilgileri ise Tablo 4'te verilmiştir

Tablo 3. Tespit edilen tür ve tür altı taksonların listesi, buldukları istasyonlar ve üzerinde geliştikleri substratlar (Simgeler: ▲; likenikol mantar)

Türler:	Lokalite:	Substratlar
Acarospora laqueata Stizenb	2	Silisli kayalar
▲ <i>Arthonia molendoi</i> (Heufl. ex Arnold) R. Sant.	4	Caloplaca sp.
<i>Athallia holocarpa</i> (Hoffm.) Arup, Frödén & Söchting	3	Silisli kayalar
<i>Athallia pyracea</i> (Ach.) Arup, Frödén & Söchting	2, 4	Ağaç kabuğu
<i>Blastenia crenularia</i> (With.) Arup, Söchting & Frödén	1	Silisli kayalar
<i>Calogaya arnoldii</i> (Wedd.) Arup, Frödén & Söchting	1, 3	Silisli kayalar
<i>Calogaya decipiens</i> (Arnold) Arup, Frödén & Söchting	4	Silisli kayalar
<i>Calogaya lobulata</i> (Flörke) Arup, Frödén & Söchting	2	Ağaç kabuğu
<i>Candelariella aurella</i> f. <i>aurella</i> (Hoffm.) Zahlbr	1, 3, 4	Silisli kayalar
<i>Candelariella coralliza</i> (Nyl.) H. Magn	3	Silisli kayalar
<i>Candelariella medians</i> f. <i>medians</i> (Nyl.) A.L. Sm.	4	Silisli kayalar
<i>Candelariella viae-lacteeae</i> G. Thor & V. Wirth	4	Ağaç kabuğu
<i>Candelariella vitellina</i> f. <i>vitellina</i> (Hoffm.) Müll. Arg	2, 3, 4	Silisli kayalar
<i>Cetraria steppae</i> (Savicz) Kärnefelt	4	Toprak
<i>Circinaria caesiocinerea</i> (Nyl. ex Malbr.) A. Nordin, Savić & Tibell	2, 3	Silisli kayalar

<i>Circinaria hoffmanniana</i> (S. Ekman & Fröberg ex R. Sant.) A. Nordin	1	Silisli kayalar
<i>Cladonia caespiticia</i> (Pers.) Flörke	1, 4	Karayosunu
<i>Cladonia cariosa</i> (Ach.) Spreng	1, 4	Karayosunu
<i>Cladonia cervicornis</i> subsp. <i>cervicornis</i> (Ach.) Flot	4	Karayosunu
<i>Cladonia foliacea</i> (Huds.) Willd	1, 3, 4	Karayosunu
<i>Cladonia pyxidata</i> (L.) Hoffm	1, 4	Karayosunu
<i>Cladonia subturgida</i> Samp	1	Karayosunu
<i>Dermatocarpon intestinforme</i> (Körb.) Hasse	2	Silisli kayalar
<i>Dimelaena oreina</i> (Ach.) Norman	2	Silisli kayalar
<i>Diploschistes scruposus</i> (Schreb.) Norman	3	Silisli kayalar
<i>Lecanora campestris</i> subsp. <i>campestris</i> (Schaer.) Hue	3	Ağaç kabuğu
<i>Lecanora chlorotera</i> Nyl.	2	Ağaç kabuğu
<i>Lecanora rupicola</i> var. <i>rupicola</i> (L.) Zahlbr	2, 3	Silisli kayalar
<i>Lecidella carpathica</i> Körb	2	Silisli kayalar
<i>Lecidella patavina</i> (A. Massal.) Knoph & Leuckert	2, 3	Silisli kayalar
<i>Lecidella stigmatea</i> (Ach.) Hertel & Leuckert	4	Silisli kayalar
▲ <i>Lichenothelia rugosa</i> (G. Thor) Ertz & Diederich	1	Diploschistes scruposus
<i>Megaspora verrucosa</i> (Ach.) Hafellner & V. Wirth	2, 3	Karayosunu
<i>Melanohalea exasperatula</i> (Nyl.) O. Blanco, A. Crespo, Divakar, Essl. D. Hawksw. & Lumbsch	1	Ağaç kabuğu
<i>Nesolechia fusca</i> (Triebel & Rambold) Pérez-Ort.	4	Xanthoparmelia pulla
<i>Parmelia saxatilis</i> (L.) Ach	2	Ağaç kabuğu

Parvoplaca tiroliensis (Zahlbr.) Arup, Söchting & Frödén	3	Karayosunu
Peltigera rufescens (Weiss) Humb	3, 4	Karayosunu
<i>Physcia aipolia</i> (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr	1, 4	Ağaç kabuğu
<i>Physcia leptalea</i> (Ach.) DC	3	Ağaç kabuğu
<i>Physcia stellaris</i> (L.) Nyl	2, 3	Ağaç kabuğu
<i>Physconia muscigena</i> (Ach.) Poelt	2	Karayosunu
<i>Polysporina simplex</i> (Taylor) Vězda	1, 2	Silisli kayalar
<i>Protoparmeliopsis bolcana</i> (Pollini) Lumbsch	4	Silisli kayalar
<i>Protoparmeliopsis muralis</i> (Schreb.) M. Choisy	1, 2, 3, 4	Silisli kayalar
<i>Psora decipiens</i> (Hedw.) Hoffm	3	Toprak
<i>Ramalina lacera</i> (With.) J.R. Laundon	1	Silisli kayalar
<i>Ramalina siliquosa</i> (Huds.) A.L. Sm. 1918	1	Silisli kayalar
<i>Rhizocarpon geographicum</i> (L.) DC	1, 2, 3, 4	Silisli kayalar
<i>Rhizocarpon lecanorinum</i> Anders	2	Silisli kayalar
<i>Rinodina lecanorina</i> (A. Massal.) A. Massal.	1	Silisli kayalar
<i>Rinodina sophodes</i> (Ach.) A. Massal	3	Ağaç kabuğu
<i>Sporastatia polyspora</i> (Nyl.) Grummann	2	Silisli kayalar
<i>Variospora latzelii</i> (Servít) S.Y. Kondr.	3	Silisli kayalar
<i>Xanthoparmelia pulla</i> (Ach.) O. Blanco, A. Crespo, Elix, D. Hawksw. & Lumbsch	3, 4	Silisli kayalar
<i>Rusavskia elegans</i> (Link) S.Y. Kondr. & Kärnefelt	3, 4	Ağaç kabuğu
<i>Xanthoria parietina</i> var. <i>parietina</i> (L.) Th. Fr	1, 2, 4	Ağaç kabuğu

<i>Oxneria ulophyllodes</i> (Räsänen) S.Y. Kondr. & Kärnefelt	3, 4	Ağaç kabuğu
--	------	-------------

Tablo 4. Örneklerin Toplandığı lokaliteler.

Lokalite numarası	Koordinat bilgileri	Yükseklik	Tarih
Lokalite 1	39°46'49" K, 34°48'00" D.	1385 m.	24.07.2016
Lokalite 2	39°46'16" K, 34°47'29" D.	1295 m.	24.07.2016
Lokalite 3	39°46'21" K, 34°48'14" D.	1353 m.	24.07.2016
Lokalite 4	39°44'54" K, 34°50'56" D.	1207 m.	24.07.2016

5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma alanı olan Yozgat Bozok Üniversitesi kampüsü ve çevresinden toplam 59 liken ve likenikol fungus taksonu belirlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda en çok sayıda tür ve türaltı taksona sahip olan cinsler aşağıdaki gibidir: *Cladonia* (6), *Candelariella* (5), *Physcia* (3), *Lecanora* (3), *Lecidella* (3), *Calogaya* (3) (Şekil 1).

Likenler ve likenikol funguslar ile yapılan çalışmalar hem ülkemizde hem de Yozgat ilinde son yıllarda artış göstermiştir (Aygül vd., 2022; Barak vd., 2016; Barak vd., 2022; Güllü vd., 2023; Halıcı vd., 2014; Kocakaya ve Halıcı, 2015; Kocakaya vd., 2015; Kocakaya vd., 2018a; Kocakaya vd., 2018b; Kocakaya vd., 2020; Kocakaya vd., 2023).



Şekil 1. En çok tespit edilen cinslerin Tür ve Tür altı kategorileri sayısı

Çalışma alanı olan Yozgat ilinden ilk çalışmalar Steiner (1916) ve John (2002) tarafından yapılmıştır. Daha sonra ise Halıcı vd (2006) Gaziantep, Kahramanmaraş, Kırşehir ve Yozgat illeri likenleri ile ilgili çalışma yapmıştır. Yapılan bu çalışmada Yozgat ilinden Şefaati, Yerköy, Çayıralan ve Akdağmadeni ilçelerinden 9 farklı lokaliteden örnekler toplanmış ve 99 taksonun 92'si Yozgat ili için yeni kayıt olarak verilmiştir (Halıcı vd., 2009). Verilen taksonlardan 18 tanesi bizim çalışma bölgemiz olan Yozgat Bozok Üniversitesi kampüsü ve çevresinden de tespit edilmiştir.

Çalışma alanından tespit edilen taksonların toplam %50'si silisli kayalar üzerinden, %23'ü ağaçlar üzerinden, %22'si yosun ve toprak üzerinden, %5'i başka bir liken üzerinden toplanmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Taksonların üzerinde bulunduğu substratların yüzdesi

Çalışma alanından toplanan likenlerin en çok tercih etmiş oldukları substrat çeşidi silisli kayalardır. Toplam taksonların %50'si silisli kayalar üzerinde bulunmaktadır. Silisli kayalar üzerinde çalışma alanında yaygın olarak bulunan taksonlar; *Candelariella aurella f. aurella*, *Candelariella vitellina f. vitellina*, *Lecanora rupicola var. rupicola*, *Protoparmeliopsis muralis*, *Rhizocarpon geographicum* taksonlarıdır.

Çalışma alanında kalkerli kayalara sahip bölgeler bulunmamaktadır. Bu substrat türünden bulunmadığı için kalkerli kayalar üzerinden herhangi bir liken tespiti yapılamamıştır.

Çalışma alanında toprak ve yosun üzerinde bulunan taksonların toplam yüzdesi ise %22'dir. Yosun ve toprak üzerinde bulunan taksonlar, *Cladonia caespiticia*, *Cladonia cariosa*, *Cladonia foliacea*, *Cladonia subturgida*, *Megaspora verrucosa*, *Parvoplaca tirolensis*, *Peltigera rufescens*, *Physconia muscigena*, *Psora decipiens* taksonlarıdır.

Çalışma alanında ayrıca likenler üzerinde yaşayan likenikol mantar türleri de tespit edilmiştir. Bu likenikol mantar türlerinden *Arthonia molendoi* türü *Caloplaca sp.* üzerinde bulunmuştur. Diğer bir likenikol mantar türü olan *Lichenothelia rugosa* türü ise *Diploschistes scruposus* üzerinde bulunmuştur. Üçüncü likenikol mantar türü olan *Nesolechia fusca* taksonu ise *Xanthoparmelia pulla* likeni üzerinde tespit edilmiştir.

Çalışma alanında cins kategorisinde en çok taksona sahip olan cins *Cladonia*'dır. *Cladonia* cinsine ait toplam 6 takson çalışma alanından tespit

edilmiştir. En çok taksona sahip olan diğer cins ise *Candelariella* cinsidir. *Candelariella* cinsine ait toplam 5 takson çalışma alanında tespit edilmiştir. Diğer cinslerden *Physcia*, *Lecanora*, *Lecidella*, *Calogaya* cinslerinin ise üçer taksonları çalışma alanından tespit edilmiştir.

Çalışma alanından tespit edilmiş olan taksonlardan 29'u Yozgat ili için ilk kez kaydedilmiştir. Bu türler Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Yozgat ilinden ilk kez kaydedilen taksonlar

Acarospora laqueata Stizenb	<i>Arthonia molendoi</i> (Heufl. ex Arnold) R. Sant.
<i>Blastenia crenularia</i> (With.) Arup, Söchting & Frödén	<i>Calogaya arnoldii</i> (Wedd.) Arup, Frödén & Söchting
<i>Calogaya decipiens</i> (Arnold) Arup, Frödén & Söchting	<i>Candelariella coralliza</i> (Nyl.) H. Magn
<i>Candelariella medians</i> f. <i>medians</i> (Nyl.) A.L. Sm.	<i>Candelariella viae-lacteeae</i> G. Thor & V. Wirth
<i>Cetraria steppae</i> (Savicz) Kärnefelt	<i>Cladonia caespiticia</i> (Pers.) Flörke
<i>Cladonia cariosa</i> (Ach.) Spreng	<i>Cladonia cervicornis</i> subsp. <i>cervicornis</i> (Ach.) Flot
<i>Cladonia subturgida</i> Samp.	<i>Dermatocarpon intestiniforme</i> (Körb.) Hasse
<i>Lichenothelia rugosa</i> (G. Thor) Ertz & Diederich	<i>Megaspora verrucosa</i> (Ach.) Hafellner & V. Wirth
<i>Nesolechia fusca</i> (Triebel & Rambold) Pérez-Ort.	<i>Parmelia saxatilis</i> (L.) Ach
<i>Physcia aipolia</i> (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr	<i>Polysporina simplex</i> (Taylor) Vězda
<i>Psora decipiens</i> (Hedw.) Hoffm	<i>Ramalina lacera</i> (With.) J.R. Laundon
<i>Ramalina siliquosa</i> (Huds.) A.L. Sm.	<i>Rhizocarpon lecanorinum</i> Anders
<i>Rinodina lecanorina</i> (A. Massal.) A. Massal.	<i>Rinodina sophodes</i> (Ach.) A. Massal
<i>Sporastatia polyspora</i> (Nyl.) Grumann	<i>Variospora latzelii</i> (Servít) S.Y. Kondr.
<i>Oxneria ulophyllodes</i> (Räsänen) S.Y. Kondr. & Kärnefelt	

Yozgat ilinden ilk kez tespit edilen taksonlardan olan *Ramalina lacera* aynı zamanda Türkiye'den ikinci kez kaydedilmiştir. Daha önce ilk kez Ardahan ilinden kaydedilmiştir.

Cetraria steppae, *Lichenothelia rugosa* ve *Nesolechia fusca* taksonları ise daha önce Türkiye'den iki kez kaydedilmiştir. Bizim çalışmamızda Yozgat ilinden ilk kez kaydedilen bu taksonlar aynı zamanda Türkiye'den de üçüncü kez kaydedilmiştir. Diğer nadir olarak tespit edilen bir tür ise *Sporastatia polyspora* türü ise Türkiye'den dördüncü kez çalışmamızda Yozgat ilinden tespit edilmiştir.

Bu çalışmada Yozgat Bozok Üniversitesi kampüsü ve çevresinin liken ve likenikol mantar florası belirlenmiştir. Bu çalışma ile hem Yozgat'ın hem de Türkiye'nin liken ve likenikol mantar florasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır. Ayrıca 2017 ilk kez geçen yıl basılmış olan Türkiye Likenleri kitabına da eklemeler yapılması hedeflenmiştir.

Bu çalışma Türkiye'nin ve Yozgat ilinin liken ve likenikol mantar biyoçeşitliliğine katkısı olması bakımından önemlidir. Bu tip çalışmalar ülkemiz biyoçeşitliliğinin belirlenmesinde son derece önemlidir. Hem flora çalışmaları hem de cins revizyonları yapılarak ülkemizin biyoçeşitliliğinin tam olarak belirlenmesi sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- AYGÜL, E. Ö., KOCAKAYA, M., BARAK, M. Ü., & KOCAKAYA, Z., (2022). *Türkiye İçin İkinci Kayıt Liken Türü: Protoblastenia Terricola*. Anadolu 11th International Conference On Applied Sciences, (912-916), Diyarbakır, Türkiye.
- BARAK, M.Ü., HALICI, M.G. & GÜLLÜ, M. (2016). Identification of some lichenized fungi species of Erciyes Mountain Kayseri Turkey by using ITS rDNA marker. *Biological Diversity and Conservation*, 9(2), 84-95.
- BARAK, M.Ü., KOCAKAYA, M., AYGÜL, E.Ö., & KOCAKAYA, Z. (2022). Türkiye' den Nadir Bulunan İkinci Kayıt Liken Türü: *Agonimia allobata*. Anadolu 11th International Conference On Applied Sciences, (917-923), Diyarbakır, Türkiye.
- GÜLLÜ, M., HALICI, M.G. & ÖZTÜRK KÜP, F. (2023). Molecular and taxonomic studies on some Acarospora (Acarosporales, Ascomycota) species in Türkiye. *Biological Diversity and Conservation*, 165(2), 84-97.
- HALICI, M.G., CANDAN, M., & CALATAYUD, V. (2009). *Dacampia rubra* sp. nov. (Ascomycota, Dacampiaceae), a lichenicolous fungus on vagrant *Aspicilia* species. *Mycotaxon*, 108(1), 235-240.

- HALICI, M.G., HAWKSWORTH, D., & AKSOY, A. (2007). Contributions to the lichenized and lichenicolous fungal biota of Turkey. *Mycotaxon*, 102, 403-414.
- HALICI, M.G., KOCAKAYA, M. & KIRIŞ, Z. (2014). Lichenized and lichenicolous fungi of Bakırdağ (Kayseri, Adana). *Acta Botanica Hungarica*, 56(3-4), 319-332.
- HODKINSON, B.P., & LUTZONİ, F. (2009). A microbiotic survey of lichen-associated bacteria reveals a new lineage from the Rhizobiales. *Symbiosis*, 49, 163-180.
- JOHN, V. (2002). Lichenes Anatolici Exsiccati, Fasc. *München*. 6-7 ,126-175.
- KENCE, A. (2005). Türkiye'nin biyolojik zenginlikleri. (Web sitesi. <http://www.cevre.org> (ErisimTarihi: 01.07.2015).
- KNUDSEN, K., HALICI, M.G. & KOCAKAYA, M. (2009). *Sarcogyne magnispora* (Acarosporaceae), a new species in the nivea group from Turkey. *Mycotaxon*, 107(1), 413-417.
- KOCAKAYA, Z., & HALICI, M.G. (2015). New Acrocordia and *Candelariella* records for Turkey. *Mycotaxon*, 130(4), 1203-1208.
- KOCAKAYA, Z., HALICI, M.G. & KOCAKAYA, M. (2015). *Phoma candelariellae* sp. nov., a lichenicolous fungus from Turkey. *Mycotaxon*, 130(4), 1185-1189.
- KOCAKAYA, M., HALICI, M.G., AHTI, T. & KOCAKAYA, Z. (2018a). New or otherwise interesting records of *Cladonia* species from Turkey. *Herzogia*, 31(1), 327-331.
- KOCAKAYA, M., KOCAKAYA, Z., KAYA, D. & BARAK, M. Ü., (2018b). A new lichen record for the Asia: *Parmelia barroanae* Divakar, M.C. Molina & A. Crespo, Supported by Molecular Data from Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, 11(3), 197-201.
- KOCAKAYA, M., BARAK, M.Ü & KOCAKAYA, Z. (2023). New records of lichenicolous and lichenized fungi from Üzümdere Nature Park, Türkiye. *Mycotaxon* ,137(4), 943-951.
- KOCAKAYA, Z., KOCAKAYA, M. & BARAK, M.Ü., (2020). A New Lichenicolous Fungus Record from The Camlik National Park (Yozgat, Turkey), *Tremella candelariellae* (Basidiomycota, Tremellales). *Ksu Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (2), 387-390.
- SELBMANN, L., ZUCCONİ, L., RUİSÌ, S., GRUBE, M., CARDİNALE, M., & ONOFRÌ, S. (2010). Culturable bacteria associated with Antarctic lichens: affiliation and psychrotolerance. *Polar biology*, 33, 71-83.
- STEİNER, J. (1916). Aufzählung der von J. Bormüller im Oriente Flechten. *Annal. Naturist. Mus. Wien* 30, 24-39.
- YILDIZ, A., YURDAKULOL, E. (2002) Likenler. *Tabiat ve İnsan*, 36(4), 6–11.

BÖLÜM 17

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN CLADONIA COCCIFERA GRUP ÜYELERİ, DESKRİPSİYONLARI ve TEŞHİS ANAHTARI

Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA¹

¹ Yozgat Bozok Üniversitesi Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu
ORCID: 0000-0003-2306-8094

1. GİRİŞ

Cladonia cinsi Cladoniaceae familyası, Lecanorales ordosu ve Ascomycota divizyonu içerisinde sınıflandırılmaktadır (Miadlikowska vd, 2006; Lumbsch ve Huhndorf, 2011). Bu cins dünya üzerinde 500'den fazla tür ile temsil edilmektedir (Ahti 2000). *Cladonia* cinsinin temsilcileri, kural olarak yatay primer tallus (pulsu veya nadiren kabuksu, bazen kaybolur) ve dikey sekonder tallus (podesyum) olmak üzere iki tür tallustan oluşan likenlerdir. *Cladonia* cinsinin sitematiğinde primer ve sekonder tallusun anatomisi ve morfolojisi oldukça önemlidir. Podesyumların yüzey anatomisi, dallanması ve morfolojisi, taşıdığı vejetatif propagüller ve konidyum özellikleri de cinsin sitematiğinde kullanılan diğer karakterlerdir. Ayrıca *Cladonia* cinsi sistematik açıdan oldukça önemli olan çok çeşitli sayıda liken asitleri içermektedir (Huovinen ve Ahti, 1982). *Cladonia coccifera* gruba ait Türkiye'de yayılış gösteren 6 *Cladonia* türü bulunmaktadır. Aşağıda türlerin deskripsiyonları, habitatları hakkında bilgiler, çalışılan örneklerin lokaliteleri ve fotoğrafları verilmiştir. Ayrıca bu grup üyeleri için tür teşhis anahtarında verilmiştir.

1. *Cladonia bellidiflora* (Ach.) Schaer.

Çalışılan Örnekler: Zonguldak, Köroğlu köyünün batısı, *Pinus brutia* toplulukları, 41°25'771"K, 31°53'715"D, yükseklik 295 m, 10/07/2014, [CLAD 1112], (Şekil 1).

Primer tallus pulsu, podesyum sarımsı yeşil renkte, 3-8 cm uzunluğunda, az dallanmış, genellikle kupa açıklığı yoktur. Podesyum yüzeyi kortekse sahip ve pullarla kaplı. Apotesyum kırmızı, yaygın ve genellikle büyüktür (3 mm'ye kadar). Piktidy yaygın, kırmızı silim içerir. KC+ sarı, UV+ beyaz renk verir. Squamatik asit ve rodokladonik asit içerir.

Habitat: İğne yapraklı ormanların alt bölgelerinde, rakımı çok yüksek olmayan toprak habitatlarda gelişim göstermektedir.

Notlar: Sarımsı ve yoğun bir şekilde pullarla kaplı podesyum ile karakteristiktir (Ahti vd. 2013). Kırmızı apotesyumlu türlerden *C. coccifera*'dan çok farklıdır (Fink, 1908).



Şekil 1. *Cladonia bellidiflora* tallusu

2. *Cladonia borealis* S. Stenroos

Çalışılan Örnekler: Trabzon, Araklı, Yılanlıtaş yaylası yolu, silis ana kaya, 40°42'808"K, 40°00'485"D, yükseklik 1850, 18/08/2014, [CLAD 470, CLAD 471]. Trabzon, Araklı, Yılanlıtaş yaylası, silis ana kaya, 40°42'331"K, 40°00'114"D, yükseklik 1950 m, 18/08/2014, [CLAD 612], (Şekil 2).

Primer tallus pulsu, pullar genellikle 5 mm uzunluğunda, podesyum 1-3 cm uzunluğunda, sarımsı yeşil renktedir, kupa var, kupa açıklığı 6-12 mm genişliğinde, genellikle basit, podesyum yüzeyi alt kısımlarda kortekse sahip, üst kısımlar areolat, genellikle aşağı doğru tabakalaşmış, granuler fakat büyüdükçe soyulur; kupa içi areollü. Apotesyum yaygın, kırmızı, kupa kenarlarının üzerinde. Piknidyum yaygın, kupa kenarları üzerinde, renksiz slim içerir. K-, KC+ sarı, P-. Usnik asit ve barbatik asit içerir.

Habitat: Literatüre göre *C. borealis* türü alpin zondaki toprak üzerinde gelişim göstermektedir (Ahti vd., 2013). Türkiye'den toplanan örnekler 1850-1950 m yükseklikten toplanmıştır, bu yönü ile literatürü desteklemektedir.

Notlar: Morfolojik olarak *C. coccifera* ve *C. pleurota* türlerine benzer olmasına rağmen filogenetik olarak bu iki türle çok yakın ilişkili değildir (Stenroos vd. 2002). Genellikle *C. coccifera* türü ile birlikte gelişim gösterir (Ahti vd. 2013) Tarafımızca toplanan örneklerde böyle bir durum söz konusu değildir. Ülkemizden sadece Trabzon ilinden bilinmektedir (Kınalıoğlu, 2008).



Şekil 2. *Cladonia borealis* tallusu

3. *Cladonia coccifera* (L.) Willd.

Çalışılan Örnekler: Bursa, Karacabey Yarış Köyü'nün güneydoğusu, *Quercus* ormanları, 40°17'925"K, 28°22'494"D, yükseklik 360 m, 19/09/2013, [CLAD 1213]. Kayseri, Erciyes Dağı, Lifos tepesi, 38°36'N, 35°28'E, 2400 m, 18/06/2003, [CLAD 1230], (Şekil 3).

Primer tallus pulsu, yaklaşık boyu 10 mm, eni 5 mm, bazen loblar yuvarlanarak içe kıvrılmış. Podesyum 3.5 cm uzunluğunda, sarımsı ya da beyazımsı gri, 0.4-1 cm genişliğinde, kupa açıklığı var, yüzey kesintili areolat, pürüzlü ve üst kısımlar granüllü. Apotesyum oldukça yaygın, kırmızı renkli. Piknidyum yaygın, kupa açıklığının kenarları üzerinde, siyah ya da kırmızımsı, kırmızı silim içerir. K-, KC+ sarı, P-. Usnik asit ve zeorin içerir.

Habitat: Kaya çatlaklarında ya da çalılık ve açık ormanlardan toplanmıştır.

Notlar: Kırmızı apotesyumlu türler olan *C. pleurota* ve *C. borealis* türlerine çok benzerlik göstermektedir. *C. pleurota*'dan kupa açıklığı üzerinde soredlerin olması ve izousnik asit içermesiyle, *C. borealis* türünden de zeorin içermemesiyle ve podesyumun düz olmasıyla ayrılmaktadır (Ahti vd. 2013). Ülkemizden Trabzon, Bursa ve Kayseri illerinden bilinmektedir (Halıcı vd. 2005; Kınalıoğlu, 2007; Yazıcı, 1999).



Şekil 3. *Cladonia coccifera* tallusu

4. *Cladonia floerkeana* (Fr.) Flörke

Çalışılan Örnek: İstanbul, Şile, Şile-İstanbul yolu üzeri, *Quercus* toplulukları, *Pinus brutia*, 41°10'184"K, 29°31'643"D, yükseklik 55 m, 12/09/2013, [CLAD 327], (Şekil 4).

Primer tallus pulsu, 1-3 × 1-2 mm boyutlarında. Podesyum 1-4 cm uzunluğunda, 0.5-1 mm genişliğinde, kahverengimsi gri, yüzey genellikle kortekse sahip. Apotesyum çok yaygın, genellikle bol, fakat olmayabilir, apotesyum rengi kırmızı. Piknidyum genellikle bazal pullar üzerinde, nadiren podesyum uçlarında, belirgin bir şekilde saplı, şişe şeklinde, kırmızı bölme içerir. İki kemotipi var: 1) K-, P-, barbatic ve didymic asit içerir. 2) K+ sarı, P+ sarı, thamnolic ve didymic asit içerir. Türkiye örneği ikinci tip kemotipe sahiptir.

Habitat: Açık yosunlu kayalar ve ağaç kütükleri üzerinde yayılış gösterir

Notlar: *C. macilenta* ile yakın ilişkili olan bir türdür. *C. floerkeana*'da podesyum tamamen kortekse sahip ve granüllü sored taşır, *C. macilenta* ise çoğunlukla farinoz sored taşır (Ahti vd. 2013).



Şekil 4. *Cladonia floerkeana* tallusu

5. *Cladonia macilenta* Hoffm.

Çalışılan Örnek: İstanbul, Şile, Şile-İstanbul yolu üzeri, *Quercus* toplulukları, *Pinus brutia*, 41°10'184"K, 29°31'643"D, yükseklik 55 m, 12/09/2013, [CLAD 100]. Kastamonu, Küre, Kuşca Mahallesi, 41°47'926"K, 33°43'560"D, yükseklik 1185 m, 09/07/2014, [CLAD 759]. Kastamonu, Devrekani, Kasapalar köyünün kuzeydoğusu, *Pinus sylvestris* ormanı, 41°39'356"K, 33°53'501"D, yükseklik 1142 m, 08/07/2014, [CLAD 823], (Şekil 5).

Primer tallus pulsu, pullar 0.5-1 mm uzunluğunda. Podesyum 0.5-4 cm uzunluğunda, 0.3-5 mm kalınlığında, soluk gri, uç kısımlarda hafif dallanma var, kupa yok, bazen oluşabilir, yüzey genellikle kortekse sahip değil, farinose soresli. Apotesyum genellikle nadir, kırmızı, çapı 4 mm ye kadar. Pknidyum primer pullar üzerinde, genellikle ovoid, kırmızı bölme içerir. K+ sarı, P+ sarı, tamnolik ve dekarboksitamnolik asit içerir.

Habitat: Özellikle iğne yapraklı ağaç kütükleri üzerinde yayılış gösterir.

Notlar: Stenroos vd. (2002)'ye göre dünya üzerindeki *C. macilenta* populasyonu tek tip değildir ve bu türün açılığa kavuşması için ileri çalışmalara gerek vardır. *C. macilenta* türü kırmızı apotesyum taşır, fakat bazı örneklerde apotesyum bulunmayabilir. Apotesyum bulunmayan türler *C. coniocrea* türüyle karıştırılabilir. *C. coniocrea* P+ kırmızı renk verirken, *C. macilenta* P+ sarı veya

P- sonuç verir. Aynı zamanda *C. polydactyla*'nın genç popülasyonlarında *C. macilenta*'ya benzer, ancak *C. polydactyla* kaba bir şekilde sored taşır ve dar bir kupa açıklığına sahiptir (Ahti vd. 2013). Diğer ilişkili tür *C. norvegica* türünün P – veren kemotipidir. Bu örnekle karıştırmamak için türün diğer tüm özelliklerinin detaylı bir şekilde incelenmesi gerekmektedir.



Şekil 5. *Cladonia macilenta* tallusu

6. *Cladonia polydactyla* (Flörke) Spreng

Çalışılan Örnek: Giresun, Kesap, Erköy Köyü 40°43'20"K, 38°35'53"D, çürümüş ağaç kabuğu üzeri, yükseklik 1400 m, [CLAD 1451], (Şekil 6).

Primer tallus pulsu. Podesyum ince, 1-5 cm uzunluğunda, 0.5-2 mm kalınlığında, mat yeşilden-yeşile, dallanmamış ya da biraz düzensiz dallanma var, aksiler kapalı, uçlar küt, genellikle kupa dar (2-3 mm), podesyum yüzeyi granüler soredli, taban çevresi ve genellikle kupa içi kortekse sahip. Apotesyum sık, kırmızı, kupanın kenarları ya da dal uçları üzerinde, genellikle bileşik. Piknidyum yaygın değil, kupanın kenarları üzerinde, ovoid, kırmızı slim içerir. K+ sarı, P+ sarı, tamnolik asit içerir.

Habitat: Bitki kökleri ve yosun üzerinde yayılış göstermektedir.

Notlar: *C. umbricola* ile çok benzerdir fakat K ve P ile güçlü sarı renk verir. Ayrıca UV-’dir (Ahti vd. 2013). Ülkemizden sadece Bilecik ilinden bilinmektedir (Özdemir 1990).



Şekil 6. *Cladonia polydactyla* thallusu

***Cladonia coccifera* Grup Üyeleri İçin Tayin Anahtarı.**

1. Podesyum sarımsı renkte, usnik asit mevcut2
- Podesyum yeşilimsi gri renkte, usnik asit mevcut değil.....4

2. Podesyum 3-8 cm uzunluğunda, yoğun bir şekilde pullarla kaplı, kupa açıklığı yok veya çok dar, KC+ sarı, squamatik ve rodokladonik asit içerir..... *C. bellidiflora*
- Podesyum pullarla kaplı değil, kupa açıklığı her zaman mevcut.....3

3. Podesyum düz bir kortekse sahip, bazen areollü bir yapı gösterir, küçük granüller taşıyabilir, KC+ sarı, barbatik asit içerir..... *C. borealis*

- Podesyum kısım kısım kortekse sahip, özellikle üst kısım düzensiz bir şekilde granüler, düz değil, KC+ sarı, barbatik asit içermez, zeorin içerir..... *C. coccifera*

4. Podesyumlar dar bir kupa açıklığına sahip, K+ sarı, P+ sarı tamnolik asit içerir

.....
C. polydactyla

- Podesyumlar kupa açıklığı taşımaz, fakat bazen uçlarda açıklığa benzer yapı oluşturabilir. 5

5. Podesyum yüzeyi tamamen kortekse ve granüler soredde sahip, 1. K-, P-, barbatik ve didymik asit içerir 2. K+ sarı, P+ sarı, tamnolik ve didimik asit içerir..... *C. floerkana*

- Podesyum yüzeyi kortekse ve farinos soredde sahip, K+ sarı, P+ sarı, tamnolik ve dekarboksitamnolik asit içerir..... *C. macilenta*

KAYNAKLAR

- Ahti, T. (2000). Cladoniaceae. *Flora Neotropica Monograph*. 78, 1-363.
- Ahti, T., Stenroos, S., & Moberg, R. (2013). Nordic Lichen Flora Volume 5 Cladoniaceae, Museum of Evolution. *Uppsala University*.
- Fink, B. (1908). Further Notes on Cladonias. XIV. *Cladonia digitata*, *Cladonia deformis* and *Cladonia bellidiflora*. *The Bryologist*, 11(2), 21-24.
- Halıcı, M.G., John, V., & Aksoy, A. (2005). Lichens of erciyes mountain (Kayseri, Turkey). *Flora Mediterranea*, 15, 567-580.
- Huovinen, K. & Ahti, T. (1982). Biosequential patterns for the formation of depsides, depsidones, and dibenzofurans in the genus *Cladonia* (lichen-forming ascomycetes), *Ann. Bot. Fenn.*, 19, 225-234.
- Kınalıoğlu, K. (2008). Three new records for the lichen biota of Turkey. *Mycotaxon*, 103, 123-126.
- Kınalıoğlu, K. (2007). Lichens of the alpine region in Araklı-Sürmene district, Trabzon province (Turkey). *Cryptogamie, Mycologie*, 28(2), 159-168.

- Lumbsch, H.T., & Huhndorf, S.M. (2011). Myconet volume 14. Part one. Outline of Ascomycota—2009. Part two. Notes on ascomycete systematics. Nos. 4751–5113. *Fieldiana Life and Earth Sciences*, 2010(1), 1-64.
- Miadlikowska, J., Kauff, F., Hofstetter, V., Fraker, E., Grube, M., Hafellner, J., Reeb, V., Hodkinson, B.P., Kukwa, M., Lücking, R., Hestmark, G., Otálora, M.G., Rauhut, A., Büdel, B., Scheidegger, C., Timdal, E., Stenroos, S., Brodo, I.M., Perlmutter, G.B., Ertz, D., Diederich, P., Lendemer, J.C., May, P.F., Schoch, C., Arnold, A.E., Gueidan, C., Tripp, E., Yahr, R., Robertson, C. & Lutzoni, F. (2006). New insights into classification and evolution of the Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota) from phylogenetic analyses of three ribosomal RNA- and two protein-coding genes, *Mycologia*, 98, 1088-1103.
- Özdemir, A. (1990). Bilecik ili likenleri. *Turkish Journal of Botany*, 14, 165-170.
- Stenroos, S., Hyvönen, J., Myllys, L., Thell, A., & Ahti, T. (2002). Phylogeny of the genus *Cladonia* s. lat.(Cladoniaceae, Ascomycetes) inferred from molecular, morphological, and chemical data. *Cladistics*, 18(3), 237-278.
- Yazıcı, K. (1999). Lichen flora of Trabzon. *Turkish Journal of Botany*, 23(2), 97-112.

BÖLÜM 18

Xist RNA ve Xist RNA ETKİLEŞİMCİLERİ

Doç.Dr. Yeşim DAĞLIOĞLU¹

¹ Ordu Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Türkiye
ORCID: 0000-0001-8740-1162

Giriş

X inaktivasyonu, dişilerde X kromozom çiftlerinden birini transkripsiyonel olarak susturmak için memeli gelişiminin erken dönemlerinde meydana gelir, böylece erkeklerle dozaj eşdeğerliği elde edilir¹. X inaktivasyon süreci, neredeyse tüm kromozomu etkileyen başlatma, yayma ve sürdürme olmak üzere üç bileşenli benzersiz bir cis-sınırlı düzenleyicidir^{2,4}. İnaktive edilecek kromozomun ilk seçimi rastgeledir. Bununla birlikte, birden fazla X kromozomuna sahip bireylerde, birden fazla X kromozomu, X inaktivasyonundaki başlatma olayının, aktif kalması gereken tek X'in bir işareti olduğunu savunarak onu kullanılamaz veya X inaktivasyon sinyaline tepkisizleştirerek etkisiz hale getirilir^{1-3,5}. Kromozomal doğası nedeniyle, inaktivasyon muhtemelen, işaretlenmemiş X kromozomu üzerindeki genlerin çoğunun, ancak hepsinin değil, cis-sınırlı transkripsiyonel inaktivasyonu ile sonuçlanan bir yayılma aşamasını gerektirir. X inaktive edildikten sonra, somatik hücre bölünmeleri boyunca aktif olmayan durumda kararlı bir şekilde muhafaza edilmelidir. Bazı X'e bağlı genlerin CpG açısından zengin adalarındaki DNA metilasyonu, bu bakım adımında yer almıştır^{3,6-7}. X kromozomunun proksimal uzun kolunda, X inaktivasyon merkezi (X/C) olarak adlandırılan ve bu kromozomun inaktivasyonu için cis'te gerekli olan bölge de dahil olmak üzere, bu adımların her birinde şüphesiz bir dizi yer ve faktör yer alır^{1,6,8-10}. Bu aynı bölge, X inaktivasyonu süreçlerinde ayrıca, aktif olmayan X kromozomuna karşılık gelen çekirdeğin çevresinde bulunan heterokromatik bölge olan Barr cisimciğinin yoğunlaşma yeri olarak X inaktivasyonu süreçlerinde yer alır¹¹⁻¹³. X/C makul bir şekilde X inaktivasyonunun başlatılması, duyurulması ve/veya sürdürülmesine dahil olabilir².

X-inaktif-spesifik transkript (*Xist*) RNA, 1990'ların başında, İnsan Genom Projesi'nin genomumuzun büyük çoğunluğunun kodlamayan dizilerden sorumlu olduğunu ortaya koymasından on yıl önce keşfedilen ilk uzun kodlamayan RNA'lardan birisidir¹⁴⁻¹⁶. Yine aynı tarihlerde iki *lncRNA* daha keşfedildi. Bunlar: *Igf2* imprinted kümede *H19* ve imprinted *Igf2r* genine antisens olan *Airn* dir¹⁷⁻¹⁸. *Airn*, Denise Barlow tarafından, komşu genlerin imprinted ekspresyonunun kontrolünde doğrudan rol oynayan *lncRNA*'nın ilk örneği olarak ortaya çıkarılmıştır¹⁹⁻²⁰. Kodlamayan *Airn* RNA'sı, otozomal imprinted genlerin susturulması için gereklidir²¹⁻²². Çoğu durumda, bir ebeveyn allelinden kodlamayan RNA'nın ifadesi, aynı allel üzerindeki bağlı protein kodlayıcı genlerin baskılanmasıyla ilişkilidir ve bu, kodlamayan RNA'ların ya susturma için gerekli olduğu ya da susturma mekanizmasının bir sonucu olduğu olasılığını artırır. Bununla birlikte, fare kromozomu 7 üzerindeki *Igf2/Ins2/H19* imprinted

gen kümesi çalışmaları, H19 kodlamayan RNA'nın *Igf2/Ins2* protein kodlayan genleri susturmada bir rolü olmadığını göstermiştir^{20,23-24}. Bunun yerine, *Igf2/Ins2*'nin imprinted ifadesi, H19 promotörüne yakın bir susturucu eleman ve bir yalıtkan öge (H19-DMR olarak adlandırılır) aracılığıyla gerçekleşir ve H19'un imprinted ifadesinin, yalıtkan ögenin babaya özgü metilasyonunun bir sonucu olarak meydana geldiği düşünülmektedir²⁵⁻²⁷. Bu nedenle, imprinted otozomal kodlamayan RNA'ların prevalansına rağmen, imprinted protein kodlayan genlerin çevrelenmesi için hiçbirinin gerekli olmadığı gösterilmiştir²⁰. Bu üç (*Xist*, *Air* ve *H19*) Üç lncRNA'nın tümü epigenetik süreçlerde yer aldığından, keşifleri, epigenetik düzenlemenin lncRNA'ların ortak bir özelliği olabileceğini düşündürmüştür. Günümüze kadar çok sayıda intergenik, intronik ve antisens lncRNA tanımlanmıştır ve bunların yaygın transkripsiyonel aktiviteleri yalnızca insanlarda değil, fare, zebra balığı ve maya dahil olmak üzere birçok farklı organizmada giderek daha fazla tanınmaktadır²⁸⁻³³. Tanımlamaları daha kolay hale gelse de, lncRNA'ların biyolojik ilişkisini tanımlamak oldukça zordur. lncRNA'ları basitçe boyut ve protein kodlama yeteneği eksikliği temelinde tanımlamak, entelektüel olarak tatmin edici olmaktan uzaktır. Bununla birlikte, bu transkriptlerin sekanslanabilme kolaylığı, işlevlerine ilişkin mevcut eksik bilgilerimizle, işlevsel olarak heterojen moleküller olması muhtemelen olanların bu kadar geniş bir kategorizasyonuna olan ihtiyacı açıklamaktadır. Protein kodlayan transkriptleri belirleme yeteneğimizin son yıllarda ölçülemez bir şekilde geliştiği göz önüne alındığında, kodlamayan transkriptleri protein kodlama kapasitesinin yokluğuyla tanımlamanın da bir anlamı vardır³⁴⁻³⁵. Tahmin edildiği gibi, memeli genomlarında bulunan protein kodlayan genlerin sayısı son yıllarda azalmıştır. Çünkü, daha önce yanlış bir şekilde açıklanmış birçok uzun protein kodlayan genin yerine protein kodlamayan transkriptleri temsil ettiği fark edildi³¹. Bu transkriptlerin bilinmeyen bir bölümünün gerçekten de (özellikle küçük) proteinleri kodlayabileceği doğrudur, bu nedenle bazıları bunların "*fonksiyonu bilinmeyen transkriptler*" (TUF'ler) olarak etiketlenmesini tercih eder³⁶. Diğerleri, ifade edilen bölgeleri ve ekleme olaylarını, transkripsiyon başlangıç yerlerini veya sonlandırma olaylarını "*transkripsiyonel çerçeveler*" olarak paylaşılan transkript setlerini tanımlar^{31,37}.

X kromozomu inaktivasyonunun

Memeli X kromozomu inaktivasyonunun (XCI) hipotezini ilk olarak 1961'de Lyon ileri sürmüştür³⁸. Daha sonraki yıllarda aktif olmayan X kromozomunun (Xi) tamamen aktif olmadığına ortaya çıktı. Genomik teknolojilerdeki son gelişmeler, inaktivasyondan kaçan genlerin tanımlanmasını hızlandırarak, gen ifadesinin ve kromatin işaretlerinin daha ayrıntılı ve allelik değerlendirmelerini

sağlamıştır³⁹. *Xist* RNA, dişi (XX) ve erkek (XY) memeliler arasındaki X'e bağlı genlerin dozajını eşitleyen epigenetik süreç olan X kromozomu inaktivasyonunun (XCI) ana düzenleyicisidir. XCI başlangıcında, *Xist*, iki X kromozomunun birinden yukarı regüle edilir ve RNA'sı cis'te tüm X boyunca yayılır ve > 1.000 geninin çoğunun inaktivasyonunu tetikler. Sonuç olarak, *Xist* yayılması, iki aktif X kromozomundan birinin “*Barr cımcığı*” olarak bilinen benzersiz şekilde organize edilmiş heterokromatik bir varlığa dönüştürülmesiyle sonuçlanır⁴⁰. XCI kromozom çapında bir süreç olmasına rağmen, bazı X bağlantılı genler susturulmadan kaçır ve hem aktif (Xa) hem de inaktif (Xi) kromozomdan eksprese edilir. Bu, insan X bağlantılı genlerin %12-20'sini ve farede %3-7'sini oluşturur ve dişi gelişimi ve hastalık duyarlılığında önemli bir rol oynayabilir⁴¹. Örneğin, tek bir X (XO) taşıyan insan dişi embriyolarının sadece %1'i hayatta kalır ve hepsi Turner sendromundan etkilenir⁴²⁻⁴³. Öte yandan, XX kadınları, XY erkeklerine göre otoimmün hastalıklara daha duyarlıdır ve fazladan X kromozomu (XXX) olan kadınlar daha da hassastır⁴⁴⁻⁴⁵. Her iki *Xist* alelinin yukarı regülasyonu, her iki X kromozomunun da susturulmasına ve muhtemelen bunun sonucunda hücre ölümüne yol açacağından, *Xist*'in gelişim sırasında uzamsal-zamansal ifadesinin doğru bir şekilde düzenlenmesi gerekir. Tarihsel olarak, dişi hücrelerde XCI'yi başlatmak için gerekli ve yeterli olan X'e-bağlı minimal genetik bölge, X inaktivasyon merkezi (Xic) olarak tanımlanmıştır. Xic, iki kopya halinde mevcut olduğunda *Xist*'in monoallelif ifadesini garanti eder. İşlevsel Xic'in tam kapsamı henüz tam olarak belirlenmemiş olsa da, *Xist*'in düzenleyicileri olarak işlev gören birkaç *lncRNA*'yı içerir. Örneğin, faredeki *Xist*'in ana baskılayıcılarından biri, *Xist* transkripsiyonel birimiyle tamamen örtüşen bir *lncRNA* olan *Tsix*'tir⁴¹. *Xist* promotörü aracılığıyla *Tsix* transkripsiyonu, *Xist* ekspresyonu için bir fren olarak çalışır ve buna göre, *Tsix*'in silinmesi veya transkripsiyonunun zamanından önce sonlandırılması, mutasyona uğramış X kromozomunun rastgele olmayan inaktivasyonu ile sonuçlanır⁴⁷⁻⁵¹.

İnaktivasyon merkezi (xic)

İnaktivasyon merkezi (xic), XCI'nin başlatılması için hem gerekli hem de yeterli tüm dizileri içeren X kromozomunun minimum bölgesi olarak tanımlanır. Xic bölgesinin varlığı, ilk olarak fare ve insanda dengeli X-otozomal translokasyonların incelenmesi sayesinde tanımlanmıştır⁵²⁻⁵⁴. Yapılan çalışmalarda, XIC'nin cis'te XCI'ye izin vermesi için gerekli olduğunu ve X inaktivasyonunun meydana gelmesi için en az iki Xic bölgesinin varlığının gerekli olduğunu ortaya koymuştur⁵⁵. Xic, 1 Mb'a kadar yayılabilir ve XCI başlangıcını etkileyebilecek birkaç protein kodlayan ve kodlamayan RNA geni

içerir. Xic, bazıları X-kromozomu inaktivasyonunda yer alan protein kodlayan genlerin yanı sıra birkaç kodlayıcı olmayan RNA lokusundan (*Xist*, *Tsix*, *Jpx* ve *Ftx*) oluşan geniş bir bölgeyi kapsar. Aday Xic bölgesi ayrıca farelerde Xce (X-kontrol elemanı) lokusu ile örtüşür ve bunun, etkisizleştirilecek X kromozomunun seçiminde çarpıklığa yol açar^{56,58}. Xic'in merkezinde kodlayıcı olmayan *Xist* transkript geni ve onun antisens transkripsiyon birimi *Tsix* bulunur. *Tsix*, antisens'i *Xist*'e aktarır ve onun bastırılmasına aracılık edebilir^{57,58}. *Xist* veya *Tsix* genlerindeki heterozigot boş mutasyonlar, tamamen rastgele olmayan X inaktivasyonu ile sonuçlanır. *Xist*'in gelecekteki Xi kromozomundan monoallelik yukarı regülasyonu, XCI'deki en erken adımlardan biridir ve susturmanın başlatılmasından önce gelir. Bu, XCI başlangıcında kritik bir adım olduğundan, *Xist* düzenlemesini kontrol eden mekanizmalar yoğun incelemelerin odak noktası olmuştur. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, bunun cis ve trans'ta *Xist* ifadesini düzenlemek için karmaşık bir düzenleyici ağı parçası olarak hareket eden birkaç moleküler oyuncuyu içerdiğini gösteriyor⁵⁸.

***Xist* RNA ve işlevleri**

X kromozomu inaktivasyonu (XCI), bir epigenetik arketip olarak hizmet etmiştir. *Xist*'in işlevleri çok çeşitlidir⁵⁹⁻⁶². XCI sırasında, 17-kb kodlayıcı olmayan *Xist* RNA, gelecekteki etkin olmayan X (Xi) boyunca yalnızca cis'te yayılır ve heterokromatik bir duruma dönüşümü indükler⁶³⁻⁶⁵. Bir yandan *Xist*, baskıcı protein faktörlerinin birleştirilmesinde modüler bir RNA iskelesi görevi görür. İyi bilinen iki faktör, Polycomb baskılayıcı kompleksler 1 ve 2 (PRC1/PRC2), sırasıyla lizin 119'da (H2AK119ub) mono-orbitasyon histon H2A'dan ve lizin 27'de (H3K27me3) trimetile histon H3'ten sorumludur⁶⁶⁻⁷⁰. Öte yandan *Xist*, benzersiz bir Xi kromozom yapısı oluşturmak için transkripsiyonel ve mimari faktörleri iterek baskıcı bir bölme oluşturur⁷¹⁻⁷³. Kapsamlı işlevler *Xist* ile ilişkilendirilmiş olsa da, spesifik mekanizmalar, özellikle de *Xist* RNA'nın cis'te nasıl yayıldığı açıklığa kavuşturulmamıştır. Son çalışmalar, *Xist*'i Xi bölgesiyle sınırlandırmada nükleer matris faktörlerinin önemini göstermiştir⁷⁴⁻⁷⁵. Xi'nin kendisinde, *Xist*, daha az aktif ve gen açısından fakir bölgelere yayılmadan önce, tercihen aktif genler için zenginleştirilmiş bölgeleri hedefleyerek, transkripsiyon bölgesinden 3D alandaki yakın temas noktalarına yayılır^{71,76-77}. Bununla birlikte, *Xist*'in Xi kromatin ile birleştiği ve Xi kromatinini boyunca yayıldığı mekanizma bilinmemektedir. *Xist*'in başlangıçta fare embriyonik kök hücrelerinde (ESC'ler) ve farelerde hedeflenen mutajenez ve transgenез yoluyla XCI için vazgeçilmezdir. *Xist* geninin silinmesi, vahşi tip X kromozomunun çarpık inaktivasyonu ile sonuçlanır, bu da bu lokusun gen susturma için gerekli olduğunu gösterir⁷⁸⁻⁷⁹. Daha sonra, otozomlara entegre edilen indüklenebilir *Xist*

transgenlerinin üretimi, otozomal susturmanın etkinliği, X'e bağlı genlerin etkisizleştirilmesiyle karşılaştırıldığında daha düşük olmasına rağmen, tek başına *Xist* RNA'nın gen susturulmasını başlatmak için yeterlidir⁸⁰⁻⁸³. İlk transgenik araştırmalar, *Xist*'in işlevinin iki temel özelliğini ortaya çıkardı. İlk olarak, *Xist* RNA'nın gen susturulmasını başlatma yeteneği kesinlikle gelişimsel bağlama bağlıdır. *Xist*, erken embriyonik kök hücre (ESC) farklılaşması sırasında kritik bir zamansal pencerenin dışında ektopik olarak indüklenirse, artık gen susturulmasını başlatma yeteneğine sahip olmayacaktır⁸⁰. İkincisi, *Xist*'in, ifade edildiği kromozoma cis-lokalizasyon ve gen susturulmasını başlatma yeteneği gibi farklı görevleri vardır ve bu görevler, RNA'nın genetik olarak bağımsız domainleri tarafından aracılık edilir⁸⁴. *Xist*'in çeşitli işlevsel domainleri artık genetik ve biyokimyasal yaklaşımlarla tanımlanmıştır ve en azından kısmen insan ve fare arasında korunan ve bu nedenle *Xist*'in işlevinde rol oynadığından şüphelenilen A–F tekrarları adı verilen ardışık tekrar bloklarıyla örtüşmektedir^{2,16,84,85}. Fare *Xist* ile indüklenebilir transgenlerde bu tekrar bölgelerinin her birinin veya bunların bir kombinasyonunun silinmesiyle, *Xist* RNA'nın 5' ucunda 26 nt çekirdek dizisinin 7.5 kopyasından oluşan yüksek oranda korunmuş tekrar A elemanı, gen susturulmasını başlatmak için gerekli element olarak karakterize edilmiştir^{33,84}. Şaşırtıcı bir şekilde, endojen *Xist* genindeki A-tekrar bölgesinin silinmesi, *Xist* RNA'nın endojen promotöründen eksprese edilme kapasitesini etkilemiştir bu bölgenin hem *Xist*'in transkripsiyonunu ve/veya işlenmesini düzenlemek hem de susturma işlevine aracılık etmek için önemli olabileceğini düşündürmektedir⁸⁶. Bazı çalışmalar, *Xist*'in çoklu ve genetik olarak eşleşmemiş işlevlerini yerine getirmek için kullanabileceği varsayılan RNA bağlayıcı proteinleri karakterize etmeyi amaçladı. Bu bağlamda, transkripsiyon faktörü YY1'in, RNA'nın tekrar C bölgesi ile DNA'nın tekrar F'sinde bir "çekirdeklenme merkezi" arasında köprü kurarak *Xist* lokalizasyonuna aracılık ettiği rapor edilmiştir⁸⁷. Heterojen nükleer ribonükleoprotein U'nun (hnRNP U, aynı zamanda SAF-A olarak da bilinir), *Xist* RNA ile daha önce *Xist* lokalizasyonuna aracılık ettiği bildirilen bölgelere bağlanarak etkileşime girdiği gösterildi, buna ekson 7 içinde tekrar C ve tekrar E'nin akış aşağısındaki bir bölge de dahildir^{33,74,88}. Son olarak, Rep A olarak bilinen ve *Xist* tekrarı A ile örtüşen *Xist* lokusundan türetilen 1.2 kb'lik bir transkriptin, daha önce katalitik alt birimi olan EZH2'yi doğrudan bağlayarak PRC2'yi Xi'ye aldığı bildirilmişti⁸⁹. EZH2 aktivitesi, XCI sırasında Xi boyunca elde edilen sessiz kromatin işaretlerinden biri olan H3K27me3'ün birikmesinden sorumludur⁹⁰⁻⁹². Benzer şekilde, kromatin yeniden şekillendirici ATRX'in, PRC2 alımını güçlendirmek için Rep A RNA'ya bağlanır⁹³. Üç bağımsız proteomik yaklaşım, fare ESC'lerinde ve tamamen farklılaşmış hücrelerde *Xist* RNA'yı ve

onun bağlayıcı proteinlerini saflaştırdığında, *Xist* interaktomunun karakterizasyonunda büyük bir ilerleme sağlanmıştır^{33,94-95}. Daha önce *Xist* RNA'yı bağladığı bildirilen faktörler arasında, tüm proteomik çalışmalar tarafından yalnızca hnRNP U doğrulanmıştır.

***Xist* etkileşimli protein: RBM15 ve WTAP**

Birçok uzun kodlamayan RNA'lar (*lncRNA*'lar) son zamanlarda gen ekspresyonunun fonksiyonel düzenleyicileri olarak kabul edilmektedir, ancak bunların etki mekanizmaları büyük ölçüde bilinmemektedir⁹⁶. RNA bağlayıcı proteinler (RBP'ler), *lncRNA* aracılı gen düzenlemesinde kilit roller oynar ve ilgilenilen bir *lncRNA*'ya bağlı proteinlerin tam etkileşim haritasının elde edilmesi, işlevini anlamamız için kritik öneme sahiptir. Tanımlanan *Xist* etkileşimli proteinler SHARP, RBM15, MYEF2, CELF1, HNRNPC, LBR, SAF-A, RALY, HNRNPM ve PTBP1'dir⁹⁷⁻⁹⁸. SHARP ile aynı etki domain yapısını paylaşan, ancak geliştirme sırasında belirgin bir işlevsel role sahip gibi görünen SPEN transkripsiyonel baskılayıcı ailesinin başka bir üyesi olan RBM15 tanımlanmıştır⁹⁸. Son araştırmalar, RBM15'in *Xist*'e bağlandığını göstermiştir^{68,98}. Daha önce, RBM15'in knockdown edilmesi *Xist* aracılı gen susturmasını engellemediği rapor edilmiştir⁹⁸. Fakat, başka bir çalışmada bunun tersi kaydedilmiştir⁶⁹. İyi tanımlanan *Xist* RNA etkileşimcisi, N⁶-adenosin (m⁶A) RNA metilasyon makinesinin bir bileşeni olan RNA bağlama motifi proteini 15'tir (RBM15)⁹⁴⁻⁹⁹. İlginç bir şekilde, RBM15, *Xist* ile A-tekrar bağımlı bir şekilde etkileşime girdiği bulunan m⁶A metiltransferaz kompleksinin başka bir alt birimi olan Wilms tümör 1-ilişkili protein (WTAP) ile etkileşime girer^{94,100}. RBM15 ve WTAP'ın *Xist* RNA etkileşimcileri olarak tanımlanması, m⁶A RNA metilasyon yollarının *Xist* işlevine aracılık etmedeki potansiyel rolünü gösterir. Gerçekten de, insan *Xist* RNA'sı, bazıları tekrar A elementini kapsayan 78 m⁶A tortusunda metillenir ve Xi boyunca sadece birkaç lokus test edilmiş olmasına rağmen, bu modifikasyonların uygun gen susturma için gerekli olduğu görülmüştür¹⁰¹. Ayrıca, *Xist* RNA metilasyonunun yalnızca RBM15'in aktivitesine değil, aynı zamanda bir *Xist* etkileşimcisi olarak tanımlanan RBM15B paraloguna da dayandığı bildirilmiştir^{68,101}. Her iki protein de (m⁶A) RNA metilasyon makinesinin katalitik alt birimini METTL3'ten *Xist* RNA'ya WTAP'a bağlı bir şekilde alabilir ve bunların işlevsel fazlalığı, muhtemelen RBM15 tükenmesi üzerine elde edilen daha önce çelişkili sonuçları açıklar^{98,101-102}. Gerçekten de, tek moleküllü RNA FISH tarafından değerlendirildiği gibi, RBM15 knockdown tek başına Gpc4 geninin *Xist* aracılı susturulmasını etkilemedi ve X-bağlantılı gen aktivitesinin kromozom çapında analizi, RBM15 knockout hücrelerde susturma verimliliğinde sadece küçük bir azalma ortaya

çıkardı^{98,102}. Daha da önemlisi, RBM15 ve RBM15B'nin çift knockout edilmesi, ESC yaşayabilirliği için gerekli gibi görünmektedir. Bu faktörlerin XCI'deki kesin rolünün tam olarak değerlendirilemeyeceği anlamına gelmektedir¹⁰². Yine de çalışmada, *Xist* RNA'nın 5' bölgesindeki belirli m⁶A bölgelerinin silinmesinin, RBM15 ve WTAP knockout'larına benzer şekilde sınırlı bir susturma kusuru ile sonuçlandığını ve m⁶A yolunun *Xist* aracılı susturmada merkezi bir rol oynamayabileceğini göstermiştir¹⁰². Örneğin, açık sorulardan biri, YTHDC1 okuyucusu tarafından *Xist* boyunca m⁶A kalıntılarının tanınmasıyla ilgilidir. YTHDC1'in tükenmesinin kusurlu XCI ile sonuçlandığı gösterilmiştir, oysa YTHDC1'in *Xist*'e bağlanması, işlevsel bir m⁶A metilasyon kompleksinin yokluğunda fenotipi kurtarır¹⁰¹. YTHDC1'in bu işlevi nasıl yürüteceği ve gen susturulmasına nasıl katkıda bulunacağı henüz tanımlanmamıştır. Keşfedilmemiş bir başka olasılık, *Xist* RNA aracılığıyla X kromozomuna alınan m⁶A metilasyonunun X'e bağlı mRNA'ların stabilitesini etkileyebilmesidir. Aslında, m⁶A'nın gen regülasyonu üzerindeki kesin etkisi henüz tam olarak anlaşılmamış olsa da, en azından bazı okuyucular için gen ekspresyonu üzerinde zıt etkilerle sonuçlanan spesifik fonksiyonlar rapor edilmiştir³³.

***Xist* etkileşimli protein: HnRNP K**

Heterojen nükleer ribonükleoprotein K (hnRNP K), A-tekrar bağımlı bir şekilde olmasa da iki proteomik yaklaşımla *Xist*'in bir etkileşimcisi olarak tanımlanmıştır^{67-68,98}. Bununla birlikte, genetik taramaların hiçbiri, *Xist* aracılı susturma için anahtar faktör olarak potansiyelini doğrulamadı^{69,70}. Chu ve meslektaşları başlangıçta hnRNP K'nin A-tekrar alanından bağımsız olarak *Xist* RNA tarafından alındığını gösterdi ve daha yakın tarihli çalışmalarda bu etkileşimin *Xist* RNA tekrarları B ve C'ye bağlı olduğunu göstermiştir^{103,104}. Chu ve meslektaşları, işlevsel olarak, hnRNP K'nin *Xist* aracılı susturma üzerindeki etkisini, knockdown deneyleriyle doğruladı ve tükenmesinin Xi boyunca H3K27me3 ve H2AK119ub birikimini önemli ölçüde azalttı⁹⁴. Daha sonra, hnRNP K'nin kanonik olmayan PCGF3/5-PRC1 kompleksini bağlayarak PRC1'i Xi'ye aldığı gösterildi¹⁰⁴. Özellikle, *Xist* tekrar B'yi ve tekrar C'nin küçük bir bölümünü (yani, *Xist* RNA Polycomb Etkileşim Alanı, XR-PID) kapsayan 600-bp'lik bir öge, hnRNP K/*Xist* etkileşimine aracılık etmek için gerekli öge olarak tanımlandı ve XR-PID, Polycomb alımını ortadan kaldırdı ve gen susturulmasının azalmasına neden oldu¹⁰⁴. Bununla birlikte, bu güçlü susturma kusuru, XR-PID ögesinin tükenmesi üzerine ancak işlevsel bir tekrar A'nın ancak işlevsel bir tekrar A'nın varlığında bu gözlemi yorumlamak zordur. Muhtemel bir açıklama, *Xist* transgeninin kendisinin doğasıdır, çünkü çalışmada A, F, B ve C'nin bir kısmını kapsayan, ancak *Xist* ekson 1'in ilk 3.9 kb'lik kısmının

aşağıdaki elementlerden yoksun olan kısa bir *Xist* RNA formu kullanılmıştır. Gerçekten de, bu dizilerin eksikliği, bir şekilde Polycomb alımının kuruluşu susturmadaki rolünü artırabilir. Daha yakın zamanlarda, üç bağımsız çalışma, B ve C tekrarlarının *Xist* endojen lokusundan silindiği bir dizi *Xist* mutanını üreterek Polycomb alımının XCI'nin kurulmasına ve sürdürülmesine katkısı daha da araştırdı^{59,102-103}. Xi boyunca gen susturulması üzerindeki etki, bu çalışmalarda değişiklik gösterir ve büyük olasılıkla XCI sırasında X'e bağlı gen ekspresyonunun değerlendirildiği farklı zaman noktalarını yansıtır³³.

***Xist* etkileşimli protein: MYEF2**

Myelin gen ekspresyon faktörü 2 (*Myef2*), proksimal DNA düzenleyici elemanına bağlanarak Myelin Basic Protein'in (MBP) transkripsiyonel baskılayıcısı olarak görev yapar ve bu nedenle gelişim sırasında miyelinasyon zamanlamasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca, *Myef2* işlevine katkısı araştırılmamış olan üç RNA Tanıma Motifi (RRM) biçimindeki RNA bağlama domainlerini de barındırır. Yapılan bir çalışmada, oligodendrosit farklılaşmasının modüle edilmesinde rol oynadığı bulunan Peptidil Arginin Deiminaz 2'nin (*PADI2*) protein interaktomunda *Myef2*'yi tanımladı¹⁰⁸. İlginç bir şekilde, *Myef2*'nin ikinci RRM'sine yakın bir arginin kalıntısı, *PADI2* ile sitrulinlendi. *Myef2*'nin oligodendrositlerdeki rolünü bir RNA bağlayıcı protein perspektifinden anlamak için, *Myef2*'nin RNA interaktomunu yakalamak için bireysel nükleotit çözünürlüklü CLIP (iCLIP) kullanıldı. *Myef2*'nin, özellikle protein kodlayan genlerin intronları ve 3'UTR'leri içinde, transkriptom çapında bağlanma yeteneğine sahip olduğunu ve bunu, sipling ve RNA stabilitesi gibi transkripsiyon sonrası işlemlere dahil edildiği bulunmuştur¹⁰⁵. Poli-pirimidin traktı bağlayıcı protein ve hnRNP C gibi bilinen transkripsiyon sonrası düzenleyicilerin, *Myef2* için benzer bir transkripsiyon sonrası role işaret ederek, sırasıyla %43 ve %55 açıklamalı genlere bağlandığı rapor edilmiştir¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Düzenleme mekanizması hala bilinmemekle birlikte, MYEF2'nin çoklu hücre tiplerinde negatif bir transkripsiyon düzenleyicisi olarak işlev gördüğü gösterilmiştir¹⁰⁹. HNRNPM, MYEF2'nin bir paralogudur.

***Xist* etkileşimli protein: CELF1**

İnsan genomu, yaklaşık 424 tahmin edilen RNA bağlayıcı proteinden (RBP'ler) oluşur¹¹⁰. RBP'ler, ortak ve transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun kritik düzenleyicileridir ve hem haberci RNA'lar hem de kodlamayan RNA'lar ile ilişki kurabilirler¹¹¹. RBP'ler, belirli sekans motiflerine bağlanarak ve/veya farklı RNA sekonder yapıları tanıyarak mRNA hedefleriyle birleşir^{112,116}. Sonuç olarak, RBP'ler, sipling, poliadenilasyon, kapatma, dışa aktarma, yerleştirme,

translasyon dahil olmak üzere mRNA metabolizmasında önemli roller oynar¹¹³⁻¹¹⁴. RBP'lerin RNA bağlama aktivitesi ve ekspresyon seviyesi, post-translasyonel modifikasyonlar yoluyla harici uyarılara yanıt olarak hızla modüle edilebilir^{115,116}. CUGBP embriyonik letal anormal görme benzeri aile üyesi 1 (CELF1), diğer adıyla CUGBP1, ELAV benzeri RNA bağlayıcı protein ailesinin ~50kDa üyesidir. Hem biyokimyasal hem de hücre bazlı çalışmalar, CELF1'in ağırlıklı olarak mRNA'ların 5' ve 3' UTR'lerinde (çevrilmemiş bölgeler) bulunan GU açısından zengin elementlere (GRE'ler) tercihen bağlandığını göstermektedir¹¹⁶⁻¹¹⁹. İnsan transkriptomunun biyoinformatik analizi, insan transkriptlerinin en az %5'inin GRE motifleri içerdiğini ve bu mRNA'ların nükleik asit metabolizması, protein modifikasyonu ve hücre proliferasyonu gibi hücre fonksiyonlarda yer aldığını ortaya çıkardı¹²⁰. CELF1, mRNA hedefleriyle birleştiğinde, bunların alternatif splicing, translasyonu ve dönüşümünü etkileyebilir^{116,121-122}.

***Xist* etkileşimli protein: LBR**

LBR (lamin B reseptörü), iç nükleer zara bağlanan ve baskıcı kromatin düzenleyici proteinler ve lamin B ile etkileşime giren bir proteindir^{98,123}. *Xist* RNA ile ilişkilendirilmesi önerilen diğer bir faktör, Lamin B reseptörüdür (LBR). LBR, Lamin B'yi bağladığı ve nükleer laminada kromatin susturmada yer alan proteinler için yapısal bir iskele görevi gördüğü iç nükleer membrana sabitlenmiş bir transmembran proteindir¹²⁴. McHugh ve meslektaşları başlangıçta LBR knockdown üzerine iki X bağlantılı genin susturulmasının bozulduğunu gösterdi⁹⁸. Daha sonraki çalışmalarda, *Xist* RNA ile etkileşime aracılık etmek için gereken LBR ögesini tanımladılar ve ayrıca bu etkileşimi kaybetmenin kusurlu gen susturmayla sonuçlandığını gösterdiler¹²⁴. Aynı çalışma, LBR'nin Xi'nin nükleer laminaya alınmasında kilit bir rol oynamasını önerdi ve bu nükleer yeniden konumlandırmanın XCI için gerekli olabileceğini öne sürdü¹²⁴. Bununla birlikte, büyük bir susturma kusuru durumunda, *Xist* kaplı kromozom yine de nükleer laminaya alınabilir. Örneğin, SPEN tükenmesi üzerine ve aktif olarak kopyalanan Xa'nın hem erkek hem de dişi çekirdeklerde nükleer laminaya lokalize olduğu gösterilmiştir, bu da Xi'nin nükleer laminaya alınmasının gen susturulmasını başlatmak için yeterli olmadığını gösterir¹²⁴⁻¹²⁵. Ayrıca, LBR mutant fareler, bozulmuş XCI durumunda beklediği gibi embriyonik letalite de net bir cinsiyet meyili göstermezler¹²⁶⁻¹²⁷. Daha yakın zamanlarda, LBR knockout ESC'lerin farklılaşması üzerine *Xist* aracılı susturmanın X kromozomu çapında bir analizini gerçekleştirdi ve LBR eksikliğinin küçük bir susturma kusuruna yol açtığı kaydedildi¹⁰². LBR ile etkileşime aracılık eden *Xist* RNA ögesinin silinmesi, gen susturulmasının biraz daha fazla etkilenmesine neden oldu, ancak

XCI üzerindeki genel etki zayıf kaldı. Bu nedenle, gen baskısını sürdürmek ve/veya stabilize etmek için LBR-*Xist* etkileşimi gerekli olsa da, XCI sırasında LBR'nin kesin rolü hala belirsizliğini koruyor.

***Xist* etkileşimli protein: HnRNP C**

Transkripsiyon sonrası süreçler, memeli hücrelerinde gen ekspresyonunu kontrol eden ana mekanizmalardır. RNA bağlayıcı proteinler (RBP'ler), transkripsiyon sonrası düzenlemeye aracılık edebilen protein sınıfıdır. İnsan hücrelerinde, RBP'ler, transkripsiyonel süreçlere katılmak için RNA'larla etkileşime girebilen RNA bağlama domainlere sahiptir^{110,128}. Heterojen nükleer ribonükleoproteinler (hnRNP'ler), insan vücudunda zengin olan geniş bir RBP ailesidir. Çalışmalar, hnRNP'lerin 30'dan fazla protein içerdiğini ortaya koymuştur¹²⁹. HnRNP'ler, ortak yapısal özelliklerinden dolayı bazı ortak işlevleri paylaşırlar¹³⁰. Bu proteinler, amino terminallerinde oldukça korunmuş RNA bağlama domaini içerir ve karboksil ucu, RBP'lerin her biri ile etkileşime girebilen benzersiz bir fonksiyonel bölgeye sahiptir^{110,131}. İşlevsel olarak çeşitli ve karmaşıktırlar. Yeni heterojen nükleer RNA'ların (hnRNA'lar, ayrıca pre-mRNA'lar olarak da anılırlar) mRNA'lara olgunlaşmasında yer alırlar ve ayrıca mRNA'ları translasyonlarını kontrol ederek stabilize edebilirler¹²⁸. hnRNP C olarak adlandırılan C protein tetrameri, tüm yeni oluşan transkriptlerde oluşan hnRNP parçacıklarının çekirdek bileşeni olarak tanımlandı¹⁰⁶. Doğal haliyle 3 C1 proteini (41 kDa) ve 1 C2 proteini (43 kDa) içeren bir tetramerdir¹³³. C1 ve C2'nin tek bir kodlama dizisinden gelir¹³⁴. HnRNP C, hücre çekirdeğinde bulunur ve siplicing verimliliğini modüle ederek kompleksleri formüle etmek için pre-RNA ile bağlanır^{128,135-136}. 1986'da yapılan bir araştırmada, 4F4 olarak adlandırılan bir hnRNP C antikorumun, premRNA'nın siplicing'ini engelleyebileceğini ve 4F4'ün, bir C proteini içeren bir 60S ekleme kompleksi (spliceosome) ile immüno-çöktülebileceğini gösterdi. Pre-mRNA'nın siplicing'i, 4F4 devre dışı bırakıcılar veya diğer hnRNP proteinleri antikorumlarının kullanımı tarafından inhibe edilmedi¹³⁷. HnRNP C, mRNA'yı stabilize edebilir ve mRNA'nın 3'-kodlama yapmayan bölgesinin (UTR) veya 5' UTR'sinin poli-U izleri ile etkileşime girerek trasnlasyon seviyesini modüle edebilir¹³⁸⁻¹³⁹. Bununla birlikte, hnRNP C önemli bir N6-metiladenozin (m6A) okuyucusudur. Bu bileşenlerin bağlanması, 'm6A-switch' mekanizması ile kolaylaştırılabilir¹⁴⁰. HnRNP C'nin işlevi üzerine yapılan araştırmalar, organizma düzeyinde gerekli olduğunu ancak hücre düzeyinde gerekli olmadığını göstermektedir¹²⁸.

***Xist* etkileşimli protein: HnRNP U (SAF-A)**

Matris bağlanma proteini hnRNP U'nun, *Xist* RNA'nın kromatine lokalizasyonunda anahtar bir rol oynadığı öne sürülmüştür. HnRNP U, Xi boyunca zenginleştirilmiştir ve *Xist* ile etkileşimi proteomik çalışmalarda doğrulanmıştır^{67-68,141-142}. Özellikle, hnRNP U, hem insan hem de fare *Xist* RNA'sının 1 ve 7 ekzonları ile doğrudan etkileşime girer^{88,143}. Birkaç knockdown çalışması, hnRNP U tükenmesi üzerine *Xist* RNA'nın Xi bölgesinden difüzyonunu rapor ederek hnRNP U'nun *Xist* lokalizasyonu üzerindeki rolünü doğruladı^{67,74,98}. Bununla birlikte, hnRNP U, insan *Xist*'in lokalizasyonu için vazgeçilmezdir ve *Xist* RNA'yı lokalize etme gerekliliği, en azından kısmen hücre tipine özgü görünmektedir¹⁴⁴⁻¹⁴⁵. Ayrıca, hnRNP U'nun XCI kurulumu ve/veya bakımı üzerindeki etkisi tam olarak anlaşılmamıştır. Gerçekten de, hnRNP U'nun başlangıçta gen susturma kurulması için gerekli olduğu öne sürülmüştür, ancak XCI sırasında geç bir zaman noktasında Xi'ye alınması göz önüne alındığında, işlevsel ilgisi daha büyük olasılıkla XCI bakımıyla ilişkilidir^{74,142}.

***Xist* etkileşimli protein: PTBP1**

Polipirimidin yolu bağlayıcı protein 1 (PTBP1, PTB veya hnRNP I olarak da bilinir), heterojen nükleer ribonükleoproteinlerin (hnRNP'ler) bir alt ailesine aittir. PTBP1, alternatif siplicing, poliadenilasyon, dahili ribozom giriş bölgesi (IRES) aracılı translasyon başlatma ve mRNA stabilitesi dahil olmak üzere mRNA metabolizmasının neredeyse tüm yönlerini kontrol eder^{146,149}. Son zamanlarda giderek daha fazla RBP-*lncRNA* etkileşimi tanımlanmıştır. Bugüne kadar, iki *lncRNA*'nın, *Pnky* ve *TUNA*'nın, nöral kök hücrelerin ve embriyonik kök hücrelerin nöronal farklılaşmasını düzenlemek için PTBP1'i iyileştirdiği kanıtlanmıştır¹⁴⁷⁻¹⁴⁹.

***Xist* etkileşimli protein: CIZ1**

X-kromozomu inaktivasyonu (XCI), gelişmekte olan dişilerin blastosistindeki X-bağlı gen *Xist*'in (X-inaktif spesifik transkript) uzun kodlamayan RNA (*lncRNA*) ürünü tarafından başlatılır ve bu da erkekler ve dişiler arasında X-bağlantılı gen dozajının eşitlenmesine yol açar^{2,16,78}. Kurulduktan sonra gen susturma, XCI'nin farklı başlatma ve bakım aşamalarını tanımlayarak, sonraki hücre nesilleri boyunca sürdürülür⁸⁰. Başlatma, CIP1 ile etkileşime giren çinko parmak proteini 1'in (CIZ1) inaktif X kromozomuna (Xi) alınımının, *Xist*'in tekrar E bölgesine bağlı olduğu farklılaşan embriyonik kök hücrelerde modellenebilir¹⁵⁰⁻¹⁵². CIP1-etkileşimli çinko parmak proteini 1 (CIZ1), bir *Xist* etkileşimcisi olarak tanımlanan ve yakın zamanda *Xist* lokalizasyonuna katkıda bulunan nükleer matris proteindir^{33,67,75,150}. CIZ1, başlangıçta DNA

replikasyonunun kilit düzenleyicilerinin bağlayıcı bir faktörü olarak nitelendirilmiştir ve hnRNP U'nun aksine, XCI'nin en erken aşamalarında *Xist* RNA tarafından iyileştirilir^{33,75,150}. İşlevsel olarak, üç DNA bağlayıcı çinko parmak motifi ve MH3 domaini sabitleyen bir C-terminal nükleer matrisi (matrin 3-homolog domain 3) dahil olmak üzere birkaç domain içerir¹⁵³⁻¹⁵⁴. Bu nedenle, CIZ1'in çinko parmak motifleri aracılığıyla Xi DNA'yı ve C-terminal nükleer matris-ankorlama domaini aracılığıyla *Xist* RNA'yı bağlayabilen iki işlevli bir protein iskelesi olarak hareket edebilir. Gerçekten de, C-terminal domaini, CIZ1'i Xi'ye dahil etmek için gereklidir ve *Xist*'in 7 eksonunda E tekrarının silinmesi bu iyileştirmeyi ortadan kaldırır¹⁵⁰. Bununla birlikte, CIZ1'in doğrudan *Xist* RNA ile etkileşime girip girmediği veya daha doğrusu diğer *Xist* RNA etkileşimcilerine bağlanma yoluyla Xi'yi tutturup bağlamadığı henüz net değil. HnRNP U knockout hücrelerinde, *Xist* RNA'nın nükleoplazma boyunca dağılmış olmasına rağmen, CIZ1'in *Xist* RNA ile lokalize kaldığı belirtilmelidir. Böylece, CIZ1 ve hnRNP U, *Xist* ile birbirinden bağımsız olarak etkileşir ve *Xist* RNA kaplamasını yönlendiren mekanizmaların karmaşıklığını ve Xi bölgesinin oluşumunu vurgular⁷⁵. Son olarak, CIZ1 tükenmesi, fare embriyonik fibroblastında (MEF'ler) ve aktive edilmiş B ve T lenfositlerinde dağınık *Xist* lokalizasyonu ile sonuçlanır, ancak knockout fareler embriyonik gelişimden sağ çıktıkça XCI başlatması için kesinlikle vazgeçilmezdir¹⁵⁰. Bununla birlikte, CIZ1 boş fareler %100 penetran dişiye özgü lenfoproliferatif bozukluk geliştirir, bu da lenfositlerde uygun *Xist* lokalizasyonunun kaybının ve XCI'nin bozulmasının cinsiyete özgü fenotipin nedeni olabileceğini gösterir. Bununla tutarlı olarak, fare kan bölmesindeki *Xist* RNA'nın silinmesinin daha önce hematolojik kansere yol açtığı gösterilmişti^{33,155}. Bununla birlikte, bu çalışmaların hiçbiri, Xi boyunca X'e bağlı genlerin alele özgü yeniden aktivasyonunu kesin olarak değerlendirmedir. böylece *Xist* RNA delokalizasyonu, X'e bağlı gen dozajı ve kanser gelişimi arasındaki etkileşim henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır³³.

Teşekkür

Emeklerinden dolayı babam Murat Özkan'a teşekkür ederim. Nurlar içinde uyu baba.

KAYNAKÇA

- Lyon, M. F. (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *nature*, 190(4773), 372-373.
- Brown, C. J., Hendrich, B. D., Rupert, J. L., Lafreniere, R. G., Xing, Y., Lawrence, J., & Willard, H. F. (1992). The human XIST gene: analysis of a 17 kb inactive X-specific RNA that contains conserved repeats and is highly localized within the nucleus. *Cell*, 71(3), 527-542.
- Gartler, S. M., & Riggs, A. D. (1983). Mammalian X-chromosome inactivation. *Annual review of genetics*, 17(1), 155-190.
- Grant, S. G., & Chapman, V. M. (1988). Mechanisms of X-chromosome regulation. *Annual review of genetics*, 22(1), 199-233.
- McBurney, M. W. (1988). X chromosome inactivation: a hypothesis. *BioEssays*, 9(2-3), 85-88.
- Cattanach, B. M. (1975). Control of chromosome inactivation. *Annu. Rev. Genet.* 9, 1-18.
- Riggs, A. D. (1989). Marsupials and mechanisms of X-chromosome inactivation. *Australian Journal of Zoology*, 37(3), 419-441.
- Russell, L. B. (1963). Mammalian X-chromosome action: inactivation limited in spread and in region of origin. *Science*, 140(3570), 976-978.
- Mattei, M. G., Mattei, J. F., Vidal, I., & Giraud, F. (1981). Structural anomalies of the X chromosome and inactivation center. *Human genetics*, 56(3), 401-408.
- Brown, C. J., Lafreniere, R. G., Powers, V. E., Sebastio, G., Ballabio, A., Pettigrew, A. L., ... & Willard, H. F. (1991). Localization of the X inactivation centre on the human X chromosome in Xq13. *Nature*, 349(6304), 82-84.
- Therman, E., Sarto, G. E., & Patau, K. (1974). Center for Barr body condensation on the proximal part of the human Xq: a hypothesis. *Chromosoma*, 44(4), 361-366.
- Barr, M. L., & Carr, D. H. (1962). Correlations between sex chromatin and sex chromosomes. *Acta cytologica*, 6, 34-45.
- Daly, R. F., Patau, K., Therman, E., & Sarto, G. E. (1977). Structure and Barr body formation of an Xp+ chromosome with two inactivation centers. *American Journal of Human Genetics*, 29(1), 83.
- Brown SDM. XIST and the mapping of the X chromosome inactivation centre [Internet]. *BioEssays*.1991. pp. 607-612.

- Borsani G, Tonlorenzi R, Simmler MC, Dandolo L, Arnaud D, Capra V, et al. Characterization of a murine gene expressed from the inactive X chromosome. *Nature*. 1991; 351: 325–329.
- Brockdorff N, Ashworth A, Kay GF, Cooper P, Smith S, McCabe VM, et al. Conservation of position and exclusive expression of mouse Xist from the inactive X chromosome. *Nature*. 1991; 351: 329–331.
7. Brannan CI, Dees EC, Ingram RS. The product of the H19 gene may function as an RNA. *Molecular and cellular*. *Am Soc Microbiol*; 1990;
- Bartolomei MS, Zemel S, Tilghman SM. Parental imprinting of the mouse H19 gene. *Nature*. 1991; 351: 153–155.
- Wutz A, Smrzka OW, Schweifer N, Schellander K, Wagner EF, Barlow DP. Imprinted expression of the Igf2r gene depends on an intronic CpG island. *Nature*. 1997. pp. 745–749.
- Sleutels F, Zwart R, Barlow DP. The non-coding Air RNA is required for silencing autosomal imprinted genes. *Nature*. 2002. pp. 810–813.
- Sleutels, F., Zwart, R., & Barlow, D. P. (2002). The non-coding Air RNA is required for silencing autosomal imprinted genes. *Nature*, 415(6873), 810-813.
- Beechey, C. V. (2005). Mouse imprinting data and references. http://www.har.mgu.mrc.ac.uk/research/genomic_imprinting/.
- Schmidt, J. V., Levorse, J. M. & Tilghman, S. M. Enhancer competition between H19 and Igf2 does not mediate their imprinting. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 96, 9733–9738 (1999).
- Hark, A. T. et al. CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the H19/Igf2 locus. *Nature* 405, 486–489 (2000).
- Constancia, M. et al. Deletion of a silencer element in Igf2 results in loss of imprinting independent of H19. *Nature Genet.* 26, 203–206 (2000).
- Bell, A. C. & Felsenfeld, G. Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the Igf2 gene. *Nature* 405, 482–485 (2000).
- Reik, W. & Murrell, A. Genomic imprinting. Silence across the border. *Nature* 405, 408–409 (2000).
- RIKEN Genome Exploration Research Group Phase I Team; Carninci P. 2 Hayatsu N. 1 Hirozane-Kishikawa T. 1 Konno H. 1 Nakamura M. 1 Sakazume N. 1 Sato K. 6 Shiraki T. 1 Waki K. 1, Mouse Genome Sequencing Consortium: Waterston R. 41 Lander ES 42 Rogers J. 38 Birney E. 13, & Scientific management: Hayashizaki Y. 1 2 4 6. (2002). Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs. *Nature*, 420(6915), 563-573.

- Katayama S, Tomaru Y, Kasukawa T, Waki K, Nakanishi M, Nakamura M, et al. RIKEN Genome Exploration Research Group; Genome Science Group (Genome Network Project Core Group); FANTOM Consortium. Antisense transcription in the mammalian transcriptome. *Science*. 2005; 309:1564–1566.
- ENCODE Project Consortium, Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, Guigo R, Gingeras TR, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*. 2007; 447: 799–816.
- Ponting, C. P., Oliver, P. L., & Reik, W. (2009). Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*, 136(4), 629-641.
- Nam, J. W., & Bartel, D. P. (2012). Long noncoding RNAs in *C. elegans*. *Genome research*, 22(12), 2529-2540.
- Loda, A., & Heard, E. (2019). Xist RNA in action: Past, present, and future. *PLoS genetics*, 15(9), e1008333.
- Dinger, M. E., Pang, K. C., Mercer, T. R., & Mattick, J. S. (2008). Differentiating protein-coding and noncoding RNA: challenges and ambiguities. *PLoS computational biology*, 4(11), e1000176.
- Ponting, C. P. (2008). The functional repertoires of metazoan genomes. *Nature Reviews Genetics*, 9(9), 689-698.
- Cheng, J., Sun, M., Hurst, L. D., Carmichael, G. G., & Rowley, J. D. (2005). Genome-wide analysis of coordinate expression and evolution of human cis-encoded sense-antisense transcripts. *Trends in Genetics*, 21(6), 326-329.
- Carninci, P., Kasukawa, T., Katayama, S., Gough, J., Frith, M. C., Maeda, N., ... & Zhu, S. (2005). The transcriptional landscape of the mammalian genome. *science*, 309(5740), 1559-1563.
- Lyon, M. F. (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *nature*, 190(4773), 372-373.
- Balaton, B. P., & Brown, C. J. (2016). Escape artists of the X chromosome. *Trends in Genetics*, 32(6), 348-359.
- Barr, M. L., & Bertram, E. G. (1949). A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature*, 163(4148), 676-677.
- Balaton, B. P., & Brown, C. J. (2016). Escape artists of the X chromosome. *Trends in Genetics*, 32(6), 348-359.
- Hook, E. B., & Warburton, D. (1983). The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner's syndrome: livebirth prevalence rates and evidence

- for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism. *Human genetics*, 64(1), 24-27.
- Cockwell, A., MacKenzie, M., Youings, S., & Jacobs, P. (1991). A cytogenetic and molecular study of a series of 45, X fetuses and their parents. *Journal of medical genetics*, 28(3), 151-155.
- Schurz, H., Salie, M., Tromp, G., Hoal, E. G., Kinnear, C. J., & Möller, M. (2019). The X chromosome and sex-specific effects in infectious disease susceptibility. *Human genomics*, 13(1), 1-12.
- Libert, C., Dejager, L., & Pinheiro, I. (2010). The X chromosome in immune functions: when a chromosome makes the difference. *Nature Reviews Immunology*, 10(8), 594-604.
- Lee, J., Davidow, L. S., & Warshawsky, D. (1999). Tsix, a gene antisense to Xist at the X-inactivation centre. *Nature genetics*, 21(4), 400-404.
- Lee, J. T. (2000). Disruption of imprinted X inactivation by parent-of-origin effects at Tsix. *Cell*, 103(1), 17-27.
- Sado, T., Wang, Z., Sasaki, H., & Li, E. (2001). Regulation of imprinted X-chromosome inactivation in mice by Tsix. *Development*, 128(8), 1275-1286.
- Luikenhuis, S., Wutz, A., & Jaenisch, R. (2001). Antisense transcription through the Xist locus mediates Tsix function in embryonic stem cells. *Molecular and Cellular Biology*, 21(24), 8512-8520.
- Ohhata, T., Hoki, Y., Sasaki, H., & Sado, T. (2008). Crucial role of antisense transcription across the Xist promoter in Tsix-mediated Xist chromatin modification.
- Debrand, E., Chureau, C., Arnaud, D., Avner, P., & Heard, E. (1999). Functional analysis of the DXPas34 locus, a 3' regulator of Xist expression. *Molecular and cellular biology*, 19(12), 8513-8525.
- Rastan, S. (1983). Non-random X-chromosome inactivation in mouse X-autosome translocation embryos—location of the inactivation centre.
- Russell, L. B., & Montgomery, C. S. (1970). Comparative studies on X-autosome translocations in the mouse. II. Inactivation of autosomal loci, segregation, and mapping of autosomal breakpoints in five T (X; 1)'s. *Genetics*, 64(2), 281.
- Augui, S., Nora, E. P., & Heard, E. (2011). Regulation of X-chromosome inactivation by the X-inactivation centre. *Nature Reviews Genetics*, 12(6), 429-442.
- Rastan, S. (1983). Non-random X-chromosome inactivation in mouse X-autosome translocation embryos—location of the inactivation centre.

- Cattanach, B. M., & Williams, C. E. (1972). Evidence of non-random X chromosome activity in the mouse. *Genetics Research*, 19(3), 229-240.
- Lee, J. T., & Lu, N. (1999). Targeted mutagenesis of Tsix leads to nonrandom X inactivation. *Cell*, 99(1), 47-57
- Gendrel, A. V., & Heard, E. (2014). Noncoding RNAs and epigenetic mechanisms during X-chromosome inactivation. *Annual review of cell and developmental biology*, 30, 561-580.
- Colognori, D., Sunwoo, H., Kriz, A. J., Wang, C. Y., & Lee, J. T. (2019). Xist deletional analysis reveals an interdependency between Xist RNA and polycomb complexes for spreading along the inactive X. *Molecular cell*, 74(1), 101-117.
- Starmer, J., & Magnuson, T. (2009). A new model for random X chromosome inactivation.
- Lee, J. T. (2011). Gracefully ageing at 50, X-chromosome inactivation becomes a paradigm for RNA and chromatin control. *Nature reviews Molecular cell biology*, 12(12), 815-826.
- Mira-Bontenbal, H., & Gribnau, J. (2016). New Xist-interacting proteins in X-chromosome inactivation. *Current Biology*, 26(8), R338-R342.
- Brown, C. J., & Willard, H. F. (1994). The human X-inactivation centre is not required for maintenance of X-chromosome inactivation. *Nature*, 368(6467), 154-156.
- Clemson, C. M., McNeil, J. A., Willard, H. F., & Lawrence, J. B. (1996). XIST RNA paints the inactive X chromosome at interphase: evidence for a novel RNA involved in nuclear/chromosome structure. *The Journal of cell biology*, 132(3), 259-275.
- Marahrens, Y., Panning, B., Dausman, J., Strauss, W., & Jaenisch, R. (1997). Xist-deficient mice are defective in dosage compensation but not spermatogenesis. *Genes & development*, 11(2), 156-166.
- Schoeftner, S., Sengupta, A. K., Kubicek, S., Mechtler, K., Spahn, L., Koseki, H., ... & Wutz, A. (2006). Recruitment of PRC1 function at the initiation of X inactivation independent of PRC2 and silencing. *The EMBO journal*, 25(13), 3110-3122.
- Chu, C., Zhang, Q. C., Da Rocha, S. T., Flynn, R. A., Bharadwaj, M., Calabrese, J. M., ... & Chang, H. Y. (2015). Systematic discovery of Xist RNA binding proteins. *Cell*, 161(2), 404-416
- Minajigi, A., Froberg, J. E., Wei, C., Sunwoo, H., Kesner, B., Colognori, D., ... & Lee, J. T. (2015). A comprehensive Xist interactome reveals cohesin

- repulsion and an RNA-directed chromosome conformation. *Science*, 349(6245), aab2276.
- Moindrot, B., Cerase, A., Coker, H., Masui, O., Grijzenhout, A., Pintacuda, G., ... & Brockdorff, N. (2015). A pooled shRNA screen identifies Rbm15, Spen, and Wtap as factors required for Xist RNA-mediated silencing. *Cell reports*, 12(4), 562-572.
- Monfort, A., Di Minin, G., Postlmayr, A., Freimann, R., Arieti, F., Thore, S., & Wutz, A. (2015). Identification of Spen as a crucial factor for Xist function through forward genetic screening in haploid embryonic stem cells. *Cell reports*, 12(4), 554-561.
- Nora, E. P., Lajoie, B. R., Schulz, E. G., Giorgetti, L., Okamoto, I., Servant, N., ... & Heard, E. (2012). Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre. *Nature*, 485(7398), 381-385.
- Deng, X., Ma, W., Ramani, V., Hill, A., Yang, F., Ay, F., ... & Distèche, C. M. (2015). Bipartite structure of the inactive mouse X chromosome. *Genome biology*, 16(1), 1-21.
- Giorgetti, L., Lajoie, B. R., Carter, A. C., Attia, M., Zhan, Y., Xu, J., ... & Dekker, J. (2016). Structural organization of the inactive X chromosome in the mouse. *Nature*, 535(7613), 575-579.
- Hasegawa, Y., Brockdorff, N., Kawano, S., Tsutui, K., Tsutui, K., & Nakagawa, S. (2010). The matrix protein hnRNP U is required for chromosomal localization of Xist RNA. *Developmental cell*, 19(3), 469-476.
- Sunwoo, H., Colognori, D., Froberg, J. E., Jeon, Y., & Lee, J. T. (2017). Repeat E anchors Xist RNA to the inactive X chromosomal compartment through CDKN1A-interacting protein (CIZ1). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(40), 10654-10659.
- Engreitz, J. M., Pandya-Jones, A., McDonel, P., Shishkin, A., Sirokman, K., Surka, C., ... & Guttman, M. (2013). The Xist lncRNA exploits three-dimensional genome architecture to spread across the X chromosome. *Science*, 341(6147), 1237973.
- Simon, J. A., & Kingston, R. E. (2013). Occupying chromatin: Polycomb mechanisms for getting to genomic targets, stopping transcriptional traffic, and staying put. *Molecular cell*, 49(5), 808-824.
- Penny, G. D., Kay, G. F., Sheardown, S. A., Rastan, S., & Brockdorff, N. (1996). Requirement for Xist in X chromosome inactivation. *Nature*, 379(6561), 131-137.

- Marahrens, Y., Panning, B., Dausman, J., Strauss, W., & Jaenisch, R. (1997). Xist-deficient mice are defective in dosage compensation but not spermatogenesis. *Genes & development*, 11(2), 156-166.
- Wutz, A., & Jaenisch, R. (2000). A shift from reversible to irreversible X inactivation is triggered during ES cell differentiation. *Molecular cell*, 5(4), 695-705.
- Chow, J. C., Hall, L. L., Baldry, S. E., Thorogood, N. P., Lawrence, J. B., & Brown, C. J. (2007). Inducible XIST-dependent X-chromosome inactivation in human somatic cells is reversible. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(24), 10104-10109.
- Tang, Y. A., Huntley, D., Montana, G., Cerase, A., Nesterova, T. B., & Brockdorff, N. (2010). Efficiency of Xist-mediated silencing on autosomes is linked to chromosomal domain organisation. *Epigenetics & chromatin*, 3(1), 1-12.
- Loda, A., Brandsma, J. H., Vassilev, I., Servant, N., Loos, F., Amirnasr, A., ... & Gribnau, J. (2017). Genetic and epigenetic features direct differential efficiency of Xist-mediated silencing at X-chromosomal and autosomal locations. *Nature communications*, 8(1), 1-16.
- Wutz, A., Rasmussen, T. P., & Jaenisch, R. (2002). Chromosomal silencing and localization are mediated by different domains of Xist RNA. *Nature genetics*, 30(2), 167-174.
- Nesterova, T. B., Slobodyanyuk, S. Y., Elisaphenko, E. A., Shevchenko, A. I., Johnston, C., Pavlova, M. E., ... & Zakian, S. M. (2001). Characterization of the genomic Xist locus in rodents reveals conservation of overall gene structure and tandem repeats but rapid evolution of unique sequence. *Genome research*, 11(5), 833-849.
- Hoki, Y., Kimura, N., Kanbayashi, M., Amakawa, Y., Ohhata, T., Sasaki, H., & Sado, T. (2009). A proximal conserved repeat in the Xist gene is essential as a genomic element for X-inactivation in mouse.
- Jeon, Y., & Lee, J. T. (2011). YY1 tethers Xist RNA to the inactive X nucleation center. *Cell*, 146(1), 119-133.
- Yamada, N., Hasegawa, Y., Yue, M., Hamada, T., Nakagawa, S., & Ogawa, Y. (2015). Xist exon 7 contributes to the stable localization of Xist RNA on the inactive X-chromosome. *PLoS genetics*, 11(8), e1005430.
- Zhao, J., Sun, B. K., Erwin, J. A., Song, J. J., & Lee, J. T. (2008). Polycomb proteins targeted by a short repeat RNA to the mouse X chromosome. *Science*, 322(5902), 750-756.
- De Napoles, M., Nesterova, T., & Brockdorff, N. (2007). Early loss of Xist RNA expression and inactive X chromosome associated chromatin modification in developing primordial germ cells. *PloS one*, 2(9), e860.

- Plath, K., Fang, J., Mlynarczyk-Evans, S. K., Cao, R., Worringer, K. A., Wang, H., ... & Zhang, Y. (2003). Role of histone H3 lysine 27 methylation in X inactivation. *Science*, 300(5616), 131-135.
- Fang, J., Chen, T., Chadwick, B., Li, E., & Zhang, Y. (2004). Ring1b-mediated H2A ubiquitination associates with inactive X chromosomes and is involved in initiation of X inactivation. *Journal of Biological Chemistry*, 279(51), 52812-52815.
- Sarma, K., Cifuentes-Rojas, C., Ergun, A., Del Rosario, A., Jeon, Y., White, F., ... & Lee, J. T. (2014). ATRX directs binding of PRC2 to Xist RNA and Polycomb targets. *Cell*, 159(4), 869-883.
- Chu, C., Zhang, Q. C., Da Rocha, S. T., Flynn, R. A., Bharadwaj, M., Calabrese, J. M., ... & Chang, H. Y. (2015). Systematic discovery of Xist RNA binding proteins. *Cell*, 161(2), 404-416.
- Minajigi, A., Froberg, J. E., Wei, C., Sunwoo, H., Kesner, B., Colognori, D., ... & Lee, J. T. (2015). A comprehensive Xist interactome reveals cohesin repulsion and an RNA-directed chromosome conformation. *Science*, 349(6245), aab2276.
- Rinn, J.L., and Chang, H.Y. (2012). Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annu. Rev. Biochem.* 81, 145–166.
- Raffel, G. D., Mercher, T., Shigematsu, H., Williams, I. R., Cullen, D. E., Akashi, K., ... & Gilliland, D. G. (2007). Ott1 (Rbm15) has pleiotropic roles in hematopoietic development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(14), 6001-6006.
- McHugh, C. A., Chen, C. K., Chow, A., Surka, C. F., Tran, C., McDonel, P., ... & Guttman, M. (2015). The Xist lncRNA interacts directly with SHARP to silence transcription through HDAC3. *Nature*, 521(7551), 232-236.
- Minajigi, A., Froberg, J. E., Wei, C., Sunwoo, H., Kesner, B., Colognori, D., ... & Lee, J. T. (2015). A comprehensive Xist interactome reveals cohesin repulsion and an RNA-directed chromosome conformation. *Science*, 349(6245), aab2276.
- Horiuchi, K., Kawamura, T., Iwanari, H., Ohashi, R., Naito, M., Kodama, T., & Hamakubo, T. (2013). Identification of Wilms' tumor 1-associating protein complex and its role in alternative splicing and the cell cycle. *Journal of Biological Chemistry*, 288(46), 33292-33302.
- Patil, D. P., Chen, C. K., Pickering, B. F., Chow, A., Jackson, C., Guttman, M., & Jaffrey, S. R. (2016). m6A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression. *Nature*, 537(7620), 369-373.

- Nesterova, T. B., Wei, G., Coker, H., Pintacuda, G., Bowness, J. S., Zhang, T., ... & Brockdorff, N. (2019). Systematic allelic analysis defines the interplay of key pathways in X chromosome inactivation. *Nature communications*, *10*(1), 1-15.
- Bousard, A., Raposo, A. C., Żylicz, J. J., Picard, C., Pires, V. B., Qi, Y., ... & da Rocha, S. T. (2018). Exploring the role of Polycomb recruitment in Xist-mediated silencing of the X chromosome in ES cells. *BioRxiv*, 495739.
- Pintacuda, G., Wei, G., Roustan, C., Kirmizitas, B. A., Solcan, N., Cerase, A., ... & Brockdorff, N. (2017). hnRNP recruits PCGF3/5-PRC1 to the Xist RNA B-repeat to establish polycomb-mediated chromosomal silencing. *Molecular cell*, *68*(5), 955-969.
- Samudyata, S. (2019). Long non-coding RNAs in the epigenetic regulation of oligodendrocyte differentiation.
- König, J., Zarnack, K., Rot, G., Curk, T., Kayikci, M., Zupan, B., ... & Ule, J. (2010). iCLIP reveals the function of hnRNP particles in splicing at individual nucleotide resolution. *Nature structural & molecular biology*, *17*(7), 909-915.
- Xue, Y., Zhou, Y., Wu, T., Zhu, T., Ji, X., Kwon, Y. S., ... & Zhang, Y. (2009). Genome-wide analysis of PTB-RNA interactions reveals a strategy used by the general splicing repressor to modulate exon inclusion or skipping. *Molecular cell*, *36*(6), 996-1006.
- Falcao, A. M., Meijer, M., Scaglione, A., Rinwa, P., Agirre, E., Liang, J., ... & Castelo-Branco, G. (2019). PAD2-mediated citrullination contributes to efficient oligodendrocyte differentiation and myelination. *Cell Reports*, *27*(4), 1090-1102.
- Haas, S., Steplewski, A., Siracusa, L. D., Amini, S. & Khalili, K. Identification of a sequence-specific single-stranded DNA binding protein that suppresses transcription of the mouse myelin basic protein gene. *J. Biol. Chem.* *270*, 12503–12510 (1995).
- Cook, K. B., Kazan, H., Zuberi, K., Morris, Q., & Hughes, T. R. (2010). RBPDB: a database of RNA-binding specificities. *Nucleic acids research*, *39*(suppl_1), D301-D308.
- Fujimura, K., Kano, F., & Murata, M. (2008). Dual localization of the RNA binding protein CUGBP-1 to stress granule and perinucleolar compartment. *Experimental cell research*, *314*(3), 543-553.
- Lunde, B. M., Moore, C., & Varani, G. (2007). RNA-binding proteins: modular design for efficient function. *Nature reviews Molecular cell biology*, *8*(6), 479-490.

- Peng, C. H., Liao, C. T., Peng, S. C., Chen, Y. J., Cheng, A. J., Juang, J. L., ... & Yen, T. C. (2011). A novel molecular signature identified by systems genetics approach predicts prognosis in oral squamous cell carcinoma. *PloS one*, 6(8), e23452.
- Ginos, M. A., Page, G. P., Michalowicz, B. S., Patel, K. J., Volker, S. E., Pambuccian, S. E., ... & Gaffney, P. M. (2004). Identification of a gene expression signature associated with recurrent disease in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer research*, 64(1), 55-63.
- Vizcaíno, J. A., Côté, R. G., Csordas, A., Dianes, J. A., Fabregat, A., Foster, J. M., ... & Hermjakob, H. (2012). The PRoteomics IDentifications (PRIDE) database and associated tools: status in 2013. *Nucleic acids research*, 41(D1), D1063-D1069.
- House, R. P., Talwar, S., Hazard, E. S., Hill, E. G., & Palanisamy, V. (2015). RNA-binding protein CELF1 promotes tumor growth and alters gene expression in oral squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 6(41), 43620.
- Lee, J. E., Lee, J. Y., Wilusz, J., Tian, B., & Wilusz, C. J. (2010). Systematic analysis of cis-elements in unstable mRNAs demonstrates that CUGBP1 is a key regulator of mRNA decay in muscle cells. *PloS one*, 5(6), e11201.
- Mori, D., Sasagawa, N., Kino, Y., & Ishiura, S. (2008). Quantitative analysis of CUGBP1 binding to RNA repeats. *Journal of biochemistry*, 143(3), 377-383.
- Rattenbacher, B., Beisang, D., Wiesner, D. L., Jeschke, J. C., Von Hohenberg, M., St. Louis-Vlasova, I. A., & Bohjanen, P. R. (2010). Analysis of CUGBP1 targets identifies GU-repeat sequences that mediate rapid mRNA decay. *Molecular and cellular biology*, 30(16), 3970-3980.
- Halees, A. S., Hitti, E., Al-Saif, M., Mahmoud, L., Vlasova-St. Louis, I. A., Beisang, D. J., ... & Khabar, K. (2011). Global assessment of GU-rich regulatory content and function in the human transcriptome. *RNA biology*, 8(4), 681-691.
- Beisang, D., Rattenbacher, B., Louis, I. A. V. S., & Bohjanen, P. R. (2012). Regulation of CUG-binding protein 1 (CUGBP1) binding to target transcripts upon T cell activation. *Journal of Biological Chemistry*, 287(2), 950-960.
- Vlasova-St Louis, I., Dickson, A. M., Bohjanen, P. R., & Wilusz, C. J. (2013). CELFish ways to modulate mRNA decay. *Biochimica et biophysica acta*, 1829(6-7), 695-707.
- Olins, A. L., Rhodes, G., Welch, D. B. M., Zwerger, M., & Olins, D. E. (2010). Lamin B receptor: multi-tasking at the nuclear envelope. *Nucleus*, 1(1), 53-70.

- Chen, C. K., Blanco, M., Jackson, C., Aznauryan, E., Ollikainen, N., Surka, C., ... & Guttman, M. (2016). Xist recruits the X chromosome to the nuclear lamina to enable chromosome-wide silencing. *Science*, 354(6311), 468-472.
- Dyer, K. A., Canfield, T. K., & Gartler, S. M. (1989). Molecular cytological differentiation of active from inactive X domains in interphase: implications for X chromosome inactivation. *Cytogenetic and Genome Research*, 50(2-3), 116-120.
- Shultz, L. D., Lyons, B. L., Burzenski, L. M., Gott, B., Samuels, R., Schweitzer, P. A., ... & Hoffmann, K. (2003). Mutations at the mouse ichthyosis locus are within the lamin B receptor gene: a single gene model for human Pelger-Huet anomaly. *Human molecular genetics*, 12(1), 61-69.
- Cohen, T. V., Klarmann, K. D., Sakchaisri, K., Cooper, J. P., Kuhns, D., Anver, M., ... & Stewart, C. L. (2008). The lamin B receptor under transcriptional control of C/EBP ϵ is required for morphological but not functional maturation of neutrophils. *Human molecular genetics*, 17(19), 2921-2933.
- Mo, L., Meng, L., Huang, Z., Yi, L., Yang, N., & Li, G. (2022). An analysis of the role of HnRNP C dysregulation in cancers. *Biomarker Research*, 10(1), 1-10.
- Liu, Y., & Shi, S. L. (2021). The roles of hnRNP A2/B1 in RNA biology and disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 12(2), e1612.
- Geuens, T., Bouhy, D., & Timmerman, V. (2016). The hnRNP family: insights into their role in health and disease. *Human genetics*, 135(8), 851-867.
- Swanson, M. S., Nakagawa, T. Y., LeVan, K., & Dreyfuss, G. I. D. E. O. N. (1987). Primary structure of human nuclear ribonucleoprotein particle C proteins: conservation of sequence and domain structures in heterogeneous nuclear RNA, mRNA, and pre-rRNA-binding proteins. *Molecular and cellular biology*, 7(5), 1731-1739.
- Dreyfuss, G., Matunis, M. J., Pinol-Roma, S., & Burd, C. G. (1993). hnRNP proteins and the biogenesis of mRNA. *Annual review of biochemistry*, 62(1), 289-321.
- Lothstein, L., Arenstorf, H. P., Chung, S. Y., Walker, B. W., Wooley, J. C., & LeStourgeon, W. M. (1985). General organization of protein in HeLa 40S nuclear ribonucleoprotein particles. *The Journal of cell biology*, 100(5), 1570-1581.
- Adam, S. A., Nakagawa, T. E. R. R. Y., Swanson, M. S., Woodruff, T. K., & Dreyfuss, G. I. D. E. O. N. (1986). mRNA polyadenylate-binding protein: gene isolation and sequencing and identification of a ribonucleoprotein consensus sequence. *Molecular and cellular biology*, 6(8), 2932-2943.

- Choi, Y. D., & Dreyfuss, G. (1984). Monoclonal antibody characterization of the C proteins of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein complexes in vertebrate cells. *The Journal of cell biology*, 99(6), 1997-1204.
- Sebillon, P., Beldjord, C., Kaplan, J. C., Brody, E., & Marie, J. (1995). AT to G mutation in the polypyrimidine tract of the second intron of the human β -globin gene reduces in vitro splicing efficiency: evidence for an increased hnRNP C interaction. *Nucleic acids research*, 23(17), 3419-3425.
- Choi, Y. D., Grabowski, P. J., Sharp, P. A., & Dreyfuss, G. (1986). Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins: role in RNA splicing. *Science*, 231(4745), 1534-1539.
- Kim, J. H., Paek, K. Y., Choi, K., Kim, T. D., Hahm, B., Kim, K. T., & Jang, S. K. (2003). Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C modulates translation of c-myc mRNA in a cell cycle phase-dependent manner. *Molecular and cellular biology*, 23(2), 708-720.
- Shetty, S. (2005). Regulation of urokinase receptor mRNA stability by hnRNP C in lung epithelial cells. *Molecular and cellular biochemistry*, 272(1), 107-118.
- Liu, N., Dai, Q., Zheng, G., He, C., Parisien, M., & Pan, T. (2015). N6-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions. *Nature*, 518(7540), 560-564.
- Helbig, R., & Fackelmayer, F. O. (2003). Scaffold attachment factor A (SAF-A) is concentrated in inactive X chromosome territories through its RGG domain. *Chromosoma*, 112(4), 173-182.
- Pullirsch, D., Härtel, R., Kishimoto, H., Leeb, M., Steiner, G., & Wutz, A. (2010). The Trithorax group protein Ash2l and Saf-A are recruited to the inactive X chromosome at the onset of stable X inactivation. *Development*, 137(6), 935-943.
- Smeets, D., Markaki, Y., Schmid, V. J., Kraus, F., Tattermusch, A., Cerase, A., ... & Cremer, M. (2014). Three-dimensional super-resolution microscopy of the inactive X chromosome territory reveals a collapse of its active nuclear compartment harboring distinct Xist RNA foci. *Epigenetics & chromatin*, 7(1), 1-27.
- Kolpa, H. J., Fackelmayer, F. O., & Lawrence, J. B. (2016). SAF-A requirement in anchoring XIST RNA to chromatin varies in transformed and primary cells. *Developmental cell*, 39(1), 9-10.
- Sakaguchi, T., Hasegawa, Y., Brockdorff, N., Tsutsui, K., Tsutsui, K. M., Sado, T., & Nakagawa, S. (2016). Control of chromosomal localization of Xist by hnRNP U family molecules. *Developmental cell*, 39(1), 11-12.

- Sawicka, K., Bushell, M., Spriggs, K. A., & Willis, A. E. (2008). Polypyrimidine-tract-binding protein: a multifunctional RNA-binding protein. *Biochemical Society Transactions*, 36(4), 641-647.
- Ramos, A. D., Andersen, R. E., Liu, S. J., Nowakowski, T. J., Hong, S. J., Gertz, C. C., ... & Lim, D. A. (2015). The long noncoding RNA Pnky regulates neuronal differentiation of embryonic and postnatal neural stem cells. *Cell stem cell*, 16(4), 439-447.
- Lin, N., Chang, K. Y., Li, Z., Gates, K., Rana, Z. A., Dang, J., ... & Rana, T. M. (2014). An evolutionarily conserved long noncoding RNA TUNA controls pluripotency and neural lineage commitment. *Molecular cell*, 53(6), 1005-1019.
- Zhang, L., Yang, Z., Trottier, J., Barbier, O., & Wang, L. (2017). Long noncoding RNA MEG3 induces cholestatic liver injury by interaction with PTBP1 to facilitate shp mRNA decay. *Hepatology*, 65(2), 604-615.
- Ridings-Figueroa, R., Stewart, E. R., Nesterova, T. B., Coker, H., Pintacuda, G., Godwin, J., ... & Coverley, D. (2017). The nuclear matrix protein CIZ1 facilitates localization of Xist RNA to the inactive X-chromosome territory. *Genes & development*, 31(9), 876-888.
- Sunwoo, H., Colognori, D., Froberg, J. E., Jeon, Y., & Lee, J. T. (2017). Repeat E anchors Xist RNA to the inactive X chromosomal compartment through CDKN1A-interacting protein (CIZ1). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(40), 10654-10659.
- Sofi, S., Williamson, L., Turvey, G. L., Scoynes, C., Hirst, C., Godwin, J., ... & Coverley, D. (2022). Prion-like domains drive CIZ1 assembly formation at the inactive X chromosome. *Journal of Cell Biology*, 221(4), e202103185.
- Warder, D. E., & Keherly, M. J. (2003). Ciz1, Cip1 interacting zinc finger protein 1 binds the consensus DNA sequence ARYSR (0-2) YYAC. *Journal of biomedical science*, 10(4), 406-417.
- Ainscough, J. F. X., Rahman, F. A., Sercombe, H., Sedo, A., Gerlach, B., & Coverley, D. (2007). C-terminal domains deliver the DNA replication factor Ciz1 to the nuclear matrix. *Journal of cell science*, 120(1), 115-124.
- Yildirim, E., Kirby, J. E., Brown, D. E., Mercier, F. E., Sadreyev, R. I., Scadden, D. T., & Lee, J. T. (2013). Xist RNA is a potent suppressor of hematologic cancer in mice. *Cell*, 152(4), 727-742.

BÖLÜM 19

Cistus laurifolius L.
(Defne Yapraklı Laden) BİTKİSİNİN
(MDA-MB231; Meme kanseri Epiteli),
BAZI BİYOLOJİK VE FİTOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİN ARAŞTIRILMASI

*Doç. Dr. Hasan Basri KARAYEL*¹

¹ Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Gediz Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Kütahya, Türkiye, ORCID ID: 0000-0002-4271-0540

1.GİRİŞ

Bu çalışmada ele alınan tür, *Cistus laurifolius* türünün Türkiye’de ‘defneyapraklı laden’ adı ile bilinen, *Cistaceae* familyasına ait bir bitkidir. Yapraklarının ve çiçeklerinin dekoksiyonunun antihiperglisemik (şeker düşürücü) olarak kullanıldığı bilinmektedir (Gulcin, 2020). Urla yöresinden toplanan antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktiviteye sahip ekstrakt hazırlamak için *Cistus* sp. yaprakları kullanılmıştır. *Cistus* özü antibiyotikler kadar etkiliymiş. Bu sonuçlar, *Cistus* yapraklarının ekstraktının doğal antibakteriyel unsur olarak kullanılmasının umut verici olabileceğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlarla *Cistus* sp. uçucu yağı; sakız, rezinoit ve ekstrakt dahil olmak üzere farklı türde ürünlerin üretimi için doğal bir antimikrobiyal kaynak özelliği taşıyabilir (Köse ve ark., 2017). Türkiye, birçok endemiği de içeren çeşitli sayıda bitki nedeniyle Avrupa'nın en büyük floralarından birine sahiptir. *Cistus* sp.yapraklarından hazırlanan ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek, Antioksidan kapasitesi ve meyveler, sebzeler, şarap, çaylar gibi çeşitli bitki materyallerinin kalitesini karakterize etmek ve belirlemek için en önemli ve yaygın olarak kullanılan parametreler olduğunu belirtmiştir (Cetin ve ark., 2006). *Cistus laurifolius* L.'nin çiçekleri ve çiçek tomurcukları peptik ülser tedavisinde kullanılır. Çeşitli *Cistus* türlerinin yaprak ve dallarından elde edilen özler, dünya çapında romatizma ve böbrek iltihabı gibi çeşitli iltihaplı rahatsızlıkların tedavisinde halk ilacı olarak kullanılmaktadır. *Cistus laurifolius*'un Türk geleneksel tıbbında kullanımını açıkça desteklemektedir (Yeşilada ve ark., 1997). *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinde toplam fenolik madde miktarını belirlemek için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Bitkilerin toprak üstü kısımlarının sıvı ekstraktlarının fenolik içeriği %3,9 ile %22,4 arasındadır. Toplam flavonoid içeriği, alüminyum klorür kolorimetrik yöntemle belirlendi. Bitkilerin toprak üstü kısımlarının sıvı ekstraktlarının flavonoid içeriği %0,3 ila %14,6 olarak belirlenmiştir (Erdüğan, 2021). Doğal olarak oluşan bileşikler, sentetik antibiyotiklerin kullanımına terapötik bir alternatif olarak kabul edilmiştir (Rios ve ark., 2005). Türk halk hekimliğinde *Cistus laurifolius* L.'nin çeşitli kısımları peptik ülser ve romatizmal, sırt ağrısı gibi çeşitli ağrıların tedavisinde kullanılmaktadır. Halk hekimliğinde mide ağrısı ve mide ülseri tedavisinde kullanılmaktadır. Dioscorides zamanından beri, yani Anadolu'da en az 2000 yıldır yapraklarından hazırlanan çay, diyabet hipoglisemik semptomlarını azaltmak için kullanılmıştır (Sezik ve ark., 1991; Yeşilada ve ark., 1995). Kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan stratejiler cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiymiş (Gürdere ve ark., 2020). Türk halk hekimliğinde mide ülseri ve çeşitli ağrıların tedavisinde *Cistus laurifolius* L.'nin

çeşitli kısımları kullanılmaktadır. Ayrıca yapraklarından hazırlanan çay diyabet semptomlarını azaltmak için kullanılmıştır (Orhan ve ark., 2013). *Cistus laurifolius* L.'nin tohum, yaprak ve dallarından elde edilen dokuz farklı ekstrenin sitotoksik ve antioksidan özelliklerini in vitro olarak araştırdık. Ayrıca, çeşitli hücre dizilerindeki etki biçimlerini daha iyi anlamak için bu ekstraktların DNA bölünme özellikleri de araştırılmıştır.

Malzemeler ve Yöntemler

Cistus laurifolius L. Ekstraktlarının Hazırlanması

Tohum ve yapraklardan toplam dokuz farklı ekstrakt hazırlanmıştır. *Cistus laurifolius* L. bitkisinin dalları hekzan (Sigma Aldrich) kullanılarak, metilen klorür (Sigma Aldrich) ve etanol (Merck) çözücüleridir. Bunlar ekstraktları t-hekzan (T1), y-hekzan (T2), d-hekzan (T3), t-metilen klorür (T4), y-metilen klorür (T5), d-metilen klorür (T6), t-etanol (T7), y-etanol (T8) ve d-etanol (T9). *Cistus laurifolius* L. bitki örnekleri toplandı Kütahya, Türkiye'deki Murat Dağı'ndan 100 g kurutulmuş bitki 500 mL haxane, metilen klorür veya etanol çözeltileri ile karıştırılır ayrı ayrı öğütüldükten sonra manyetik karıştırıcı ile 48 saat boyunca karıştırılmıştır. Ardından, çözücülerdeki bitki partikülleri filtre kağıdı ile süzümüştür ve çözücüler evaporatörde uzaklaştırıldı (Heidolph Laborota 4001) (Özbek ve ark.,2020; Özbek ve ark.,2022). Daha sonra, dokuz farklı biyolojik özellik viskoz formdaki ekstraktlar aşağıda detaylandırıldığı şekilde test edilmiştir.

Tablo 1. *Cistus laurifolius* L. ekstraktlarının sitotoksik etkileri ve IC₅₀ değerleri

Kanser hücre si	T1 T- Hekz an	T2 Y- Hekz an	T3 D- Hekz an	T4 T- Metil en Klorü r	T5 Y- Metil en Klorü r	T6 D- Metilen Klorür	T7 T- Etan ol	T8 Y- Etanol	T9 D- Etan ol	5- FU
MDA - MB23 1	5.2 ± 1.2	13.8 ± 1.5	38.9 ± 11.2	1.4 ± 0.3	97.7 ±34.3	73.2±25 .4	22.9 ± 2.5	103.6±3 5.4	16.8 ± 1.2	13. 5 ± 2.3

Hücre Kültürü

Meme kanseri (MDA-MB231), hücre hatları elde edildi orijinal olarak ATCC'den alınmıştır. Tüm hücre hatları RPMI 1640 (Sigma Aldrich) veya

DMEM/F-12 kültür ortamı (Sigma Aldrich), takviye edilmiş 10 fetal sığır serumu (FBS) (Sigma Aldrich) ve penisilin ile (100 U/mL)/streptomisin (100 mg/mL). Hücreler 37 °C'de inkübe edildi 5 CO₂, %95 hava ile nemlendirilmiş bir atmosferde tutulmuştur. Hücreler tedavi edildi tüm ekstrakt çözeltilerinin artan konsantrasyonları ile (0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 µg/ml) ve 37 °C sıcaklıktaki bir inkübatörde kültürlendi 48 saat boyunca.

MTT Yöntemi

Ekstraktların sitotoksik etkilerini tespit etmek için MTT yöntemi kullanılmıştır hücreler üzerinde. Bu yöntemde, sarı renkli 3-(4,5-dimetil-2-tiyazolil)-2,5-difenil-2H-terazolyum bromür (MTT), canlı hücrelerin mitokondrilerindeki dehidrojenaz enzimleri tarafından tetrazolyum halkasının kırılması sonucu mor formazan kristallerine dönüşür. Oluşan renk Oluşan formazan kristallerinin DMSO'da çözünmesini takiben ortamda spektrofotometrik yöntemle ölçülür ve ölçülen absorbans değeri canlı hücre sayısı ile pozitif orantılıdır mevcut. Absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Bu değerler yüzde inhibisyon değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ hücre inhibisyonu} = 100 - [(Ae - Ab) / (Ac - Ab)] \times 100$$

Burada, A = absorbans, e = ekstrakt, b = boş ve c = kontrol.

Son olarak, ekstraktların etkileri IC₅₀ değerleri ile ifade edilmiştir (IC₅₀ seviyesine kadar hücrelerin büyümesini engelleyen ekstrakt konsantrasyonu kontrolün %50'si). MTT deneyi üç kopya halinde gerçekleştirilen üç bağımsız deneyde gerçekleştirilmiştir.

Antioksidan Aktivite Deneyi

DPPH Radikal Süpürme Yeteneği

Hazırlanan ekstraktların DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme aktivitesi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir DPPH'nin bir etanol çözeltisinin indirgenmesine dayanan yöntem. 2, 5, 10, Her bir ekstraktın 20 µL 1 mM stok çözeltisi 40 µL'ye tamamlandı DMSO (Sigma Aldrich) ile karıştırılmış ve 160 µL 0.1 mM DPPH serbest radikal çözeltisi. Karışım 30 dakika bekletildi. Karanlıkta tutuldu ve absorbans 515 nm'de (Lokal ve ark.,2020; Akocak ve ark., 2019). Serbest radikal DPPH inhibisyonu yüzde (%I) olarak şöyledir, aşağıda verilen formül ile hesaplanır:

$$I \% = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

Toplam Fenolik İçerik

Bitki ekstraktlarında toplam fenolik bileşikler belirlendi. Folin-Ciocalteu reaktifi. 4,5 mL damıtılmış su, 0,1 mL bitki ekstraktı ve 0,1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi karıştırıldı ve 5 dakika süreyle inkübe edildi oda sıcaklığında. Daha sonra 0,3 mL %2'lik sodyum karbonat (Sigma Aldrich) çözeltisi eklendi. Çözümler karıştırıldı ve izin verildi 2 saat oda sıcaklığında bekletilir. Ekstraktların absorbansları spektrofotometre ile ölçüldü. (Thermo Helios Aquamate, Spektrofotometre) 760 nm'de. Butillenmiş hidrokstitoluen (BHT) (Merck) standart olarak kullanıldı.

Plazmid DNA Bölünme Çalışmaları

DNA korumasını belirlemek için DNA çentikleme deneyi yapıldı Her bir bitkinin metanol ekstraktlarının pET21a'yı koruma yeteneği üretilen hidroksil radikallerinin zararlı etkilerinden plazmid DNA'sı Fenton reaktifi ile (Wang ve ark., 2020). Plazmid DNA GeneJET kullanılarak izole edildi Üreticinin talimatlarına göre Plazmid Miniprep Kiti (Thermo Scientific). Reaksiyon karışımı 5 µL plazmid DNA içeriyordu (30 ng/µL), 10 µL Fenton reaktifi (30 mM hidrojen peroksit, 100 µM ferrik klorür ve 100 µM askorbik asit), bitki özütü (30 µg/mL) ve reaksiyonun son hacmi 20 µL'ye ayarlanmıştır. ddH₂O. Reaksiyon 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi 6X yükleme boyası (Thermo Scientific) reaksiyona eklenmiş ve %0,8 agaroz jele yüklenmiştir. agaroz jel üzerine yüklendi. Elektroferez 1 saat boyunca 90 V'ta gerçekleştirildi ve ardından etidyum bromür (EtBr) boyaması. Jel Quantum ile görselleştirildi ST5 Jel Dokümantasyon sistemi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Cistus laurifolius L. bitki ekstraktlarının meme kanseri (MDA-MB-231), hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisi Tablo 1 ve Şekil 1'de verilmiştir. 5-Fluorourasil (5-FU)) çalışmada standart olarak kullanılmıştır. Ekstraktlar içerisinde meme kanseri (MDA-MB-231) hücresi üzerinde en güçlü sitotoksik etkiyi T4 ekstraktının gösterdiği tespit edildi (IC₅₀:1,41). Meme normal hücrelerinde ise IC₅₀ değeri, meme kanseri hücrelerine göre yaklaşık 3 kat daha yüksek olduğu bulundu (IC₅₀:3,2). Bu da T4 Ekstraktının meme kanserinde güçlü bir sitotoksik etki gösterdiğini açıklamıştır. Ayrıca T3, T6 ve T8 ekstraktları kanserli olmayan CRL-4010 hücre dizisinde kanser hücre dizilerine kıyasla en yüksek IC₅₀ değerine sahiptir; bu nedenle, belirli konsantrasyonlarda, T3, T6 ve T8 ekstraktları, normal/sağlıklı hücrelerde değil, spesifik olarak kanser hücrelerinde hücre ölümüne yol açabilir. Hazırlanan tüm ekstraktlar arasında T4 ekstraktı, diğer ekstraktlara kıyasla daha fazla kanser hücre hattı üzerinde

sitotoksik etkiler gösterdiğinden, anti-kanser ajanı olarak potansiyel bir aday olabilir.

Yapraklar, uçucu yağ için hidrodamıtıldı ve antioksidan aktivitesi (DPPH, FRAP) test edilmiş (Kilic ve ark.,2019). Bilinen labdan tipi diterpenler, yapraklardan izole edildi ve sıçanlarda anti-enflamatuar aktiviteye (cilt bariyeri bozulma modeli) sahip olduğunu belirtmiştir (Lahcen ve ark.,2020). Hava kısımları sulu ekstrakt antioksidan (ABTS, CUPRAC) aktiviteye sahipmiş (Demetzos ve ark.,2001). Hava kısımları su ile ekstrakte edildi ve ekstrakt antioksidan aktiviteye (FRAP) sahipmiştir (Vasiliki ve ark.,2019). Hava kısımları ayrı ayrı su ve %80 sulu metanol ile ekstre edildi. Her iki ekstrakt da kayda değer antioksidan kapasiteye (DPPH) sahip olunduğu belirtilmiştir (Carev ve ark.,2020). Çiçek esansiyel yağı hazırlandı ve analiz edildi ve antioksidan kapasitesi test edilmiştir (DPPH, ABTS) (Alsheikh ve ark., 2016). Tıbbi bitkiler, onlarca yıldır farmakolojik araştırma çalışmalarında ve ilaç gerçekleştirilmelerinde önemli bir rol oynamıştır. Bitkiler, büyük çoğunluğu ikincil metabolizmadan türetilen birçok aktif bileşik içerir. Bu bileşenler terapötik ajanlar, ilaç sentezi için hammaddeler veya farmakolojik olarak aktif bileşikler için modeller olarak kullanılmıştır (Gurib-Fakim, 2006). Bitkisel drogların makroskobik ve mikroskobik yapısı, kimyasal yapılarının belirlenmesi ve ticareti farmakognozinin kapsamına girmektedir. Bu sebepten yola çıkarak topladığımız bitkinin çeşitli kısımlarında elde edilecek ekstraları kullanarak antikanser etkinin belirtilmesi ile farklı kanser türlerin umut verici ilaç aday moleküllerin elde edilmesi hedeflenmiştir. *Cistus laurifolius* L. yapraklarından elde edilen ekstraktın insan servikal adenokarsinom hücreleri (Hep2C), insan kas rabdomyosarkom hücreleri (RD), fare fibrosarkom hücreleri (Wehi 164) gibi farklı kanser hücre tipleri üzerindeki antiproliferatif aktivitesi belirlenmeye çalışılmıştır (Soydam ve ark., 2021). Bitki özleri ve fraksiyonları, çeşitli önceki çalışmalarda (Kumar, 2013; Akhter, 2013) oksidatif hasara karşı DNA koruması için kullanılmıştır.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin tedavi edici özelliklerinden dolayı üzerinde birçok çalışma yapılmış halde yapılmaktadır. Tıbbi bitkilerde çok önemli antioksidanlar flavonoid, karatenoid ve fenolik bileşikler bulunmaktadır. Antioksidan tayini için toplam antioksidan aktivite tayini, toplam indirgeme kapasitesi, DPPH., β -karoten ve CUPRAC yöntemi, toplam flavonoid madde tayini ve buna benzer yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır.

Antioksidan Aktivite

Bir maddenin antioksidan etkisi, ortamda bulunan serbest radikalleri temizleme yeteneğine bağlıdır. *Cistus laurifolius* L.'nin antioksidan etkinlik taraması, ekstrelere DPPH radikal süpürme tahlili ve Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. Ortamdaki serbest radikallerin neden olduğu sarı-yeşil karışımın renginin açılmasına dayanan bileşenlerin absorbanstaki değişimleri 515 nm'de ölçülmüştür. DPPH yöntemine göre yapılan radikal süpürme deneylerinde ölçülen absorbanstaki değerlerine bağlı olarak DPPH kalibrasyon grafiği kullanılarak IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. DPPH yöntemine göre hesaplanan IC_{50} değerleri Tablo 2'de verilmiştir. IC_{50} değeri ne kadar küçükse antioksidan aktivite o kadar yüksektir. Diğer bir deyişle, en düşük konsantrasyonda aynı miktarda serbest radikali süpürebilen maddeler daha güçlü antioksidan aktivite gösterirler. Tablo 2'de görüldüğü gibi, en düşük antioksidan temizleme aktivitesine sahip ekstraktın T7 ($IC_{50} = 0.000015 \mu\text{g/ml}$) ve en yüksek antioksidan temizleme aktivitesine sahip ekstraktın T3 ($IC_{50} = 0.1407 \mu\text{g/ml}$) olduğu açıktır.

Tablo 2. *Cistus laurifolius* L. ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri

Bitkiler	IC_{50}
T1	0,0695
T2	0,00155
T3	0,1407
T4	0,000105
T5	0,001132
T6	0,00433
T7	0,000015
T8	0,00063

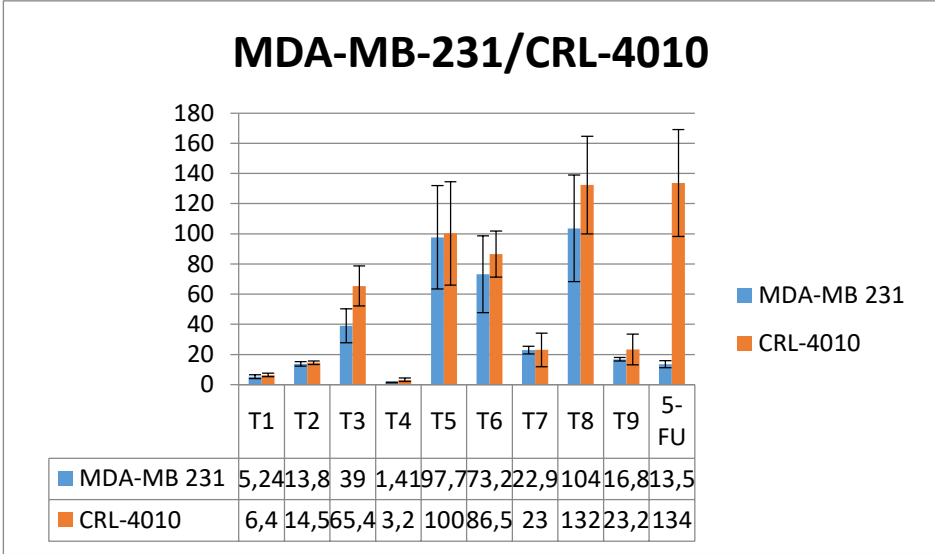
T9	0,003821
----	----------

Ayrıca, DPPH radikal süpürücü aktivite testlerinde *Cistus laurifolius* L. ekstraktlarının değişen konsantrasyonlarda (6, 3, 1.5, 0.75 ve 0.375×10^{-4} $\mu\text{g/mL}$) % inhibisyonları Şekil 1'de verilmiştir. Şekil 1 değerlendirildiğinde, konsantrasyon azaldıkça bazı ekstraktların (T2, T4, T7, T8 ve T9) % inhibisyon değerlerinde önemli bir değişiklik olmazken, bazı ekstraktlarda (T1, T3, T5 ve T6) düşüş gözlenmektedir. Folin ve Ciocalteu (F–C) (Folin ve ark., 1927) tarafından önerilen yöntem izlenerek *Cistus laurifolius* L. ekstraktları için toplam polifenol içeriği elde edilmiştir. Bu çalışmada, T7 özütü, F–C reaktifini azaltmak için standart olarak kullanılan gallik asitten (GA) daha güçlü bir F–C kompleksi indirgemesi sergiledi. Sonuçlar, g numune başına mg GA eşdeğeri olarak verildi. Ayrıca T7 özütü, sentetik bir antioksidan olan BHT'den daha iyi antioksidan aktivite sergilemiştir (Tablo 2 ve Şekil 3). Sonuç olarak her iki test de T7 ekstraktının çok güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğunu gösterdi. **Plazmit**

DNA Bölünme Çalışmaları

Fenton'un reaksiyonu hidroksil radikalleri üretir. Hidroksil radikallerinin DNA hasarına neden olduğu ve hücre hasarına neden olduğu ve kanser gibi çeşitli insan hastalıklarına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Wang ve ark., 2020). DNA çentikleme deneyleri, DNA'ya zarar veren radikallerin üretimini belirlemek için in vitro model olarak kullanılır. Deneysel verilerimize dayanarak, tüm ekstraktlar, Fenton'un reaksiyonu tarafından oluşturulan DNA hasarına karşı değişen derecelerde oksidatif hasar koruyucu aktivite gösterdi. Fenton reaktifine tabi tutulan DNA bandı yoktur. Tüm metanol özleri, oksidatif stresi etkili bir şekilde azalttı ve DNA'yı Fenton reaksiyonu tarafından üretilen hidroksil radikallerinin zarar görmesinden korudu. Fenton reaktifine maruz kalan DNA'ya metanolik ekstraktların eklendiği şerit 3 ve 9 arasında, doğal süper sarmallı DNA'nın hasarına karşı önemli koruma gözlemlendi. Daha önceki çeşitli çalışmalarda oksidatif hasara karşı DNA koruması için bitki özleri ve fraksiyonları kullanılmıştır (Kumar ve ark.,2013; Akhter ve ark., 2013). Bu sonuçlar, bu çalışmada kullanılan metanolik bitki özütlerinin varlığında DNA'nın hidroksil radikal hasarından korunmasını doğrulamaktadır.

3 MDA-MB-231/CRL-4010 Hücre Hatlarına Uygulanan Ekstraktların IC₅₀ Sonuçları



Şekil 1. MDA-MB-231/CRL-4010 Hücre Hatlarının IC₅₀ değerleri

Ekstraktlar içerisinde meme kanseri (MDA-MB-231) hücresi üzerinde en güçlü sitotoksik etkiyi T4 ekstraktının gösterdiği tespit edildi (IC₅₀:1,41). Meme normal hücrelerinde ise IC₅₀ değeri, meme kanseri hücresine göre yaklaşık 3 kat daha yüksek olduğu bulundu (IC₅₀:3,2). Bu da T4 Ekstraktının meme kanserinde güçlü bir sitotoksik etki gösterdiğini açıklamıştır. T1, T2, T3, T5, T6, T7, T8, T9 Ekstraktlarının MDA-MB-231 (Meme Kanseri Epitel) ve CRL-4010 (Meme Normal Epitel) hücreler üzerindeki etkisine bakıldığında sitotoksik bir etki göstermediği tespit edildi. Kemoterapik madde olan 5-Fluorouracil maddesini kontrol olarak kullandık ve sitotoksik etki gösterdiğini tespit edildi.

SONUÇ

Literatürde önerilen bitki bazlı doğal preparatlar ile çeşitli kanser türlerine karşı önemli in vitro sonuçlar elde edilmiştir. Serbest radikaller, oksidatif stres ve antioksidanlar günümüzde geniş çapta çalışılan konulardır. Oksidatif stresin canlı fizyolojisinde neden olduğu hasarın fizyolojik ve patolojik önemi nedeniyle, antioksidanlar yoğun olarak çalışılmaktadır. Son zamanlarda bitkilerin çeşitli kısımlarından antioksidan etkisi olan maddeler elde edilmekte, çevre dostu ve ekonomik antioksidan maddeler üretilmektedir. Bu konuda literatürde çok başarılı sonuçlar bildirilmektedir. Bu çalışmada literatürdeki bitki bazlı

çalışmaların başarısını göz önünde bulundurarak *Cistus laurifolius* L. bitkisinin çeşitli kısımlarını kullanarak ekstraktlar hazırladık. Bu ekstraktların sitotoksik, antioksidan ve DNA bölünmesi gibi biyolojik özelliklerini araştırdık. Hazırlanan ekstraktlardan bazıları in vitro olarak iyi sitotoksik etkiler göstermiştir. Ekstraktlardan biri ise standartların çok üzerinde antioksidan özellikler göstermiştir. Bu ön sonuçlar çok umut vericidir ve *Cistus laurifolius* L. bitkisinin daha ileri in vivo ve klinik araştırmaların ardından bir antikanser ve antioksidan ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızdaki en önemli bulgulardan biri olarak özellikle metanol ile hazırlanan ekstraktların DNA'nın hidroksil radikal hasarından korunmasını sağlamasıdır.

KAYNAKÇA

- Akhter,F., Hashim, A., Khan, M.S., Ahmad, S., Iqbal, D., Srivastava, A.K., Siddiqu, M.H. (2013). Antioxidant, α -amylase inhibitory and oxidative DNA damage protective property of *Boerhaavia diffusa* (Linn.) root, South Afr. J. Bot. 88 (2013) 265–272, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.024>.
- Akocak, S., Lolak, N., Tuneg, M., Boga, M. (2019). Antioxidant, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition profiles of histamine Schiff bases, J. Turkish Chem. Soc. 6., 157–164, <https://doi.org/10.18596/jotcsa.521291>.
- Alsheikh, W., Sabbagh, G., Kitaz, A., Evaluation of Radical Scavenging Activity, Total Phenolics and Total Flavonoids Contents of *Cistus* Species in Syria, Int. J. Pharmacog. Phytochem. Res., 2016, 8, 1071-1077. <http://impactfactor.org/PDF/IJPPR/8/IJPPR,Vol8,Issue7,Article2.pdf>
- Carev, I., Maravic, A., Ilic, N., Cikes Culic, V., Politeo, O., Zoric, Z., Radan, M., UPLC-MS/MS Phytochemical Analysis of Two Croatian *Cistus* Species and Their Biological Activity, Life, 2020, 10, 112-124. DOI:10.3390/life10070112
- Demetzos, C., Dimas, K., Hatziantoniou, S., Anastasaki, T., Angelopoulou, D. (2001). Cytotoxic and Anti-Inflammatory Activity of Labdane and cis-Clerodane Type Diterpenes, *Planta Med.*, 2001, 67, 614-618. DOI: 10.1055/s-2001-17362
- Erdügan, K. (2021). *Cistus creticus* L. Ve *Cistus laurifolius* L. Standardize Ekstrelerinin Hazırlanması Ve Biyolojik Etkilerinin Araştırılması. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 185313002

- Gurib-Fakim A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Asp Med.* 2006;27(1):1–93.10.1016/j.mam.2005.07.008Search in Google Scholar
- Gürdere, M.B., Aydin, A., Yencilek, B., Ertürk, F., Özbek, O., Erkan, S., Budak, Y., Ceylan, M. (2020). Synthesis, antiproliferative and cytotoxic activities, DNA binding features and molecular docking study of novel enamine derivatives, *Chem. Biodivers.* 17 (2020) e2000139. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000139>
- Folin, O., Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins, *J. Biol. Chem.* 73., 627–650, [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18))
- Kilic, D. D., Siriken, B., Erturk, O., Tanrikulu, G., Gul, M., Baskan, C., Antibacterial, Antioxidant and DNA Interaction Properties of *Cistus creticus* L. Extracts, *J. Int. Environ. Appl. Sci.*, 2019, 14, 110-115. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/810713>
- Köse, M. D. , Tekin, B. N. , Bayraktar, O. , Duman, E. T. & Başpınar, Y. (2017). Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Cistus Ladanifer* . *International Journal of Secondary Metabolite* , Special Issue 2 , 434-444 . DOI: 10.21448/ijsm.376834
- Kumar, V., Lemos, M., Sharma, M., Shriram, V. (2013). Antioxidant and DNA damage protecting activities of *Eulophia nuda* Lindl, *Free Radic. Rntioxid.* 3., 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.fra.2013.07.001>
- Lahcen, S. A., El Hattabi, L., Benkaddour, R., Chahboun, N.,Ghanmi, M., Satrani, B., Tabyaoui, M., Zarrouk, A.,Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of Moroccan *Cistus Creticus* leaves, *Chem. Data Collect.*, 2020, 26, Article 100346. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2020.100346>
- Lolak, N., Akocak, S. (2020). Biological evaluation of aromatic bis-sulfonamide Schiff bases as antioxidant, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors, *Cumhuriyet Sci. J.* 41., 413–418, <https://doi.org/10.17776/csj.595463>.
- Orhan, N., Aslan, M., Şüküroğlu, M., Deliorman Orhan, D. (2013). In vivo and in vitro antidiabetic effect of *Cistus laurifolius* L. and detection of major phenolic compounds by UPLC–TOF-MS analysis, *J. Ethnopharmacol.* 146 (2013) 859-865. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.02.016>
- Özbek, O ., Budak, Y., Berkel, C., Ozyigit, Ç., Yanar, Y. (2020). The use of *Marrubium vulgare* L. plant extracts in the control of fungal plant pathogens,

Int. J. Agric. Environ. Food. Sci. 4., 476–482, <https://doi.org/10.31015/jaefs.2020.4.11>.

Özbek, O., Sağlam, B., Usta, N.C., Budak Y. (2022). GC–MS analysis and anti-microbial activity of *Prunella vulgaris* L. extracts, *J. Indian Chem. Soc.* 99., 100460, <https://doi.org/10.1016/j.jics.2022.100460>.

Sezik, E., Tabata, M., Yeşilada, E., Honda, G., Goto, K., & Ikeshiro, Y. (1991). Traditional medicine in Turkey I. Folk medicine in northeast Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(2), 191-196.

Soydam Aydın, S., Yücel, E. (2021). Anti-proliferative effect of *Cistus laurifolius* on human cervical adenocarcinoma (Hep2C), human muscle rhabdomyosarcoma (RD), mouse fibrosarcoma (Wehi 164) cell line, *Bio. Div. Con.* 14 (2) 236-241. <https://doi.org/10.46309/biodicon.2021.908458>

Vasiliki, G., Charalampia, D., Haralabos, K. C., In Vitro Antioxidant, Antithrombotic, Antiatherogenic and Antidiabetic Activities of *Urtica dioica*, *Sideritis euboica* and *Cistus creticus* Water Extracts and Investigation of Pasta Fortification with the Most Bioactive One, *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2019, 20, 874-880. DOI: 10.2174/13892010206661903281 14343

Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., ... & Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of ethnopharmacology*, 46(3), 133-152.

Wang, W.T., Liao, S.F., Wu, Z.L., Chang, C.W., Wu, J.Y. (2020). Simultaneous study of antioxidant activity, DNA protection and anti-inflammatory effect of *Vernonia amygdalina* leaves extracts, *PLoS One* 15., e0235717, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235717>.

BÖLÜM 20

Laurocerasus officinalis
**M. ROEM TAKSONUNUN YAPRAK N
(Azot) DİNAMİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Prof. Dr. Tuğba ÖZBUCAK¹
Dr. Gülaycan POLAT KESKİN²

¹ Ordu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Orcid: 0000-0002-4784-3537

² Ordu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Orcid: 0000-0001-6255-5456

GİRİŞ

Bitkiler ihtiyaç duydukları mutlak besin elementleri sayesinde hayatlarını devam ettirmektedirler. Azot (N) bitkilerin yaşamsal faaliyetleri için büyük miktarda ihtiyaç duyduğu dolayısıyla bitki gelişimini en çok sınırlayan elementlerden birisi olarak bilinmektedir (Bilgin ve Güzel, 2017; Bolat ve Kara, 2017; Özbucak ve Sağlam, 2021). Bitkilerde bulunan besin elementi içeriğinin belirlenmesinde bitkinin besin maddelerinin depolandığı yapraklar önemli bitki kısımlarıdır (Xue ve Luo, 2002). Yapraklar aynı zamanda bitkilerin komünite fonksiyonlarının belirlenmesinde de önemli göstergelerdir (Karavin ve Kılınc, 2011). Bitkilerin önemli bir organı olan yapraklar zaman ve mekâna bağlı olarak morfolojik ve fizyolojik açıdan iklim, toprak gibi ekolojik faktörlere karşı önemli varyasyonlar gösterirler (Zhao ve ark., 2015; Yalçın, 2018). Bu varyasyonlar bitkilerde besin elementlerinin kullanım stratejilerine de etki etmektedir (Brant ve Chen, 2015; Güzel, 2017). Rezorbsiyon bitkilerin yaprak besin elementleri ile ilgili geliştirdiği önemli bir strateji mekanizmasıdır (Yılmaz ve ark., 2014). Rezorbsiyon bitkilerde emilen besin elementi kullanımını arttıran ve bitkilerin toprak besin elementlerine bağımlılığını azaltan bir koruma stratejisidir. Aynı zamanda bitkinin büyümesi, gelişmesi, üremesi, rekabeti üzerinde etkisi olup besin elementi döngüsünü de kontrol etmektedir (Kutbay ve Ok, 2003; Kutbay ve ark., 2005; Lü ve ark., 2012). Yaprak besin element içerikleri, toprak özellikleri ile yağış miktarı ve sıcaklık gibi ekolojik faktörler rezorbsiyon üzerinde etkili olmaktadır (Milosevic ve ark. 2009; Türkiş ve Özbucak 2010; Özbucak ve ark., 2011; Sürmen ve ark., 2012).

Rosaceae familyasının *Laurocerasus* cinsine ait olan *Laurocerasus officinalis*, ülkemizde karayemiş, taflan, tahnal, laz kirazı, laz yemişi olarak bilinmektedir. Bitkinin anavatanı Doğu Karadeniz kıyılarıdır. Bölgenin vejetasyonunda yaygın olarak bulunmaktadır. Fenolik bileşikler ve antioksidan yönünden zengin olan *L. officinalis*'in meyvesinden ve yaprağından tıbbi olarak faydalanılmaktadır. Alzheimer, mide ülseri, egzama, boğaz ağrısı, şeker hastalığı gibi pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca bitkiden yol kenarlarında, parklarda, bahçelerde süs bitkisi olarak da yararlanılmaktadır (Davis, 1965; Ayaz ve ark., 1997; Liyana-Pathirana ve ark., 2006; İslam ve Deligöz, 2012; Vahapoğlu ve ark., 2018; Hürkul ve Köroğlu, 2021; Anonim, 2023).

Yapılan çalışmada Ordu ilinden iki yıllık periyotta (2019-2020) genç, olgun ve senesens döneminde toplanan *L. officinalis*'in Azot (N) içeriği, N Rezorbsiyon Kullanım Verimlilik (NRE), N Rezorbsiyon Kullanım Yeterliliği (NRP), Protein içerikleri ile toprak özellikleri incelenmiştir.

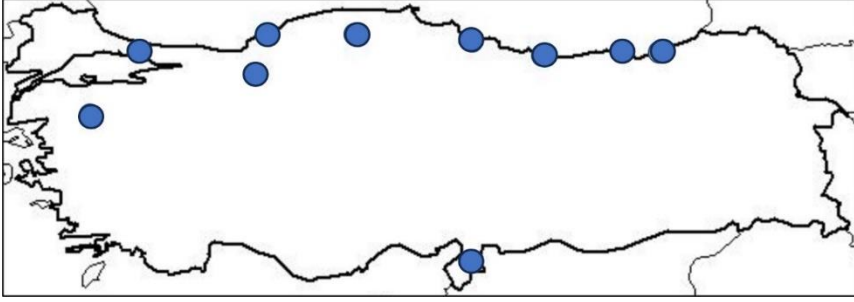
MATERYAL VE METOT

Materyal

L. officinalis taksonu deniz seviyesinden başlayıp 2000 m yüksekliklere kadar yetişebilen, 6 m'ye kadar boylanabilen, yaprak dökmeyen çalı veya küçük ağaçlardır (Şekil 1). Mart-Nisan aylarında çiçek açıp, Temmuz-Eylül aylarında meyve dönemine geçmektedir. Yaprakların üst kısmı parlak koyu yeşil renkte, alt kısmı ise mat olup açık yeşil renktedir. Uca doğru sivrilen yaprakların kenarları genellikle dişlidir. Meyveleri kırmızı, siyah ve mor renkte olabilmekte ve ham haldeyken buruk bir tada sahipken, olgunlaştıktan sonra buruk tadı azalmaktadır. Farklı toprak tiplerinde yetişebilmektedir. Bu çalışmada materyal olarak *L. officinalis* taksonunun yaprakları kullanılmıştır. *L. officinalis*'in dünya genelindeki yayılış alanları Kuzey İrlanda, Güney ve Batı Kafkasya, Orta ve Batı Asya, Batı Avrupa, Balkanlar ve İran'dır. Türkiye'de ise Akdeniz bölgesinin bazı kesimleri, Ege bölgesi, Marmara bölgesi ve Doğu Karadeniz bölgesinde yayılış göstermektedir (Davis, 1965; Kolaylı ve ark., 2003; İslam ve Deligöz, 2012; Ergüney ve ark., 2015; Anonim, 2023) (Şekil 2).



Şekil 1. *L. officinalis*'in genel görünüşü ve meyvesi

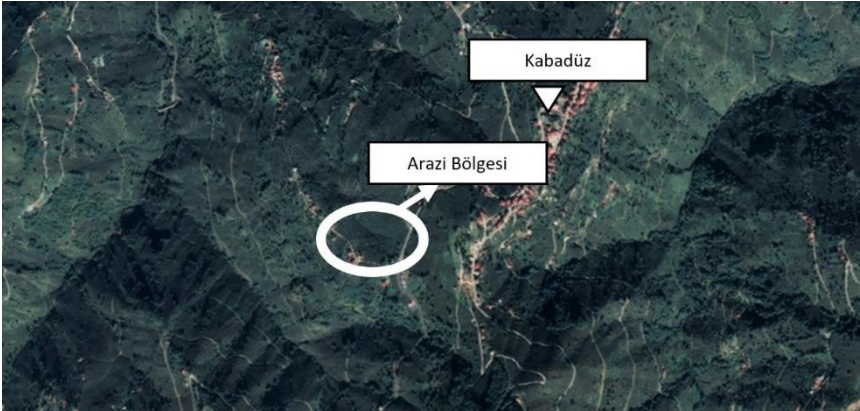


Şekil 2. Laurocerasus officinalis Türünün Türkiye Üzerindeki Yayılışı

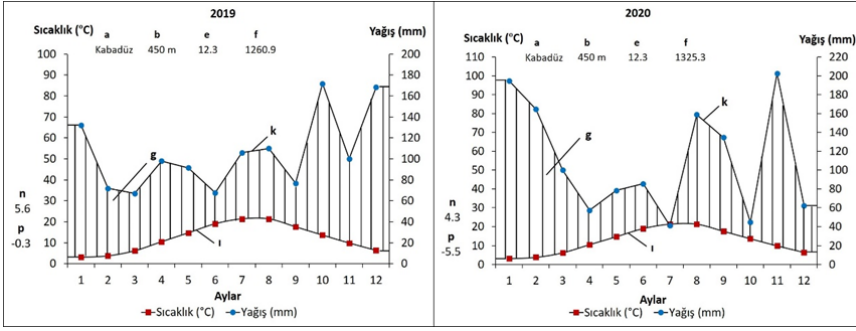
Metot

1. Örneklerin Toplanması

Örnekler, Ordu İli Kabadüz ilçesinde (450 m) belirlenen 3'er popülasyondan toplanmıştır (Şekil 3). Ön arazi çalışmasında işaretlenen bireylerden 2019 ve 2020 yıllarında bitkinin genç, olgun ve senesens dönemlerinde alınan yaprak örnekleri kullanılmıştır. Çalışma alanına ait hazırlanan iklim diyagramları Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 3. Çalışma Lokalitesi (Ordu İli Kabadüz İlçesi-450 m)



Şekil 4. Çalışma alanının 2019 ve 2020 yıllarına ait Walter İklim Diyagramları (a: Meteoroloji istasyonunun yeri, b: İstasyonun deniz seviyesinden yüksekliği, c: Sıcaklık için ölçüm süresi (yıl), d: Yağış için ölçüm süresi (yıl), e: Yıllık ortalama sıcaklık (°C), f: Yıllık toplam yağış (mm), g: Yağışlı devre, h: Kurak devre, ı: Sıcaklık eğrisi, k: Yağış eğrisi, m: Muhtemel donlu aylar, n: En soğuk ayın ortalama minimum sıcaklığı, p: Mutlak minimum sıcaklık)

Çalışma alanında meteoroloji istasyonu bulunmadığı için ortalama sıcaklık değerleri ve ortalama yağış değerleri Ordu il merkezi verilerinden enterpolasyon yapılarak hesaplanmıştır (Kılınç ve ark., 2006). İklim verilerine bakıldığında, 2019 yılında sıcaklığın düşük (12.3°C), yağışın yüksek (1260.9 mm) olduğu dalgalanan bir yağış eğrisi görülmektedir. 2020 yılında ise 2019 ile aynı sıcaklık (12.3°C) görülmeyle beraber, 2019'a göre biraz daha fazla (1325.3 mm) ama düzensiz yağış rejimi dikkat çekmektedir (Şekil 4).

2. Laboratuvar Çalışmaları

Toplanan yaprak örnekleri temizlendikten sonra sapları kesilerek yaş ağırlıkları belirlenmiş ve bir gün boyunca preslendikten sonra alanları ölçülmüştür. Kuru ağırlıklarını hesaplamak için 60 °C'de inkübatörde bekletilmiştir. Sabit bir ağırlığa ulaşan yapraklar öğütülerek analize hazırlanmıştır. Azot(N) analizi ve diğer hesaplamalar aşağıda belirtilmiştir.

3. Azot Analizi

Yaprak örneklerinin Azot (N) analizi Kjeldahl yöntemi esas alınarak yapılmıştır. Öğütülmüş olan bitki örneklerinden 0.25 g alınarak Kjeldahl yakma ünitesinin tüplerine konularak üzerlerine 5 ml sülfürik asit ve katalizör tablet eklenmiştir. Yakma ünitesine konulan tüplerin renkleri çağla yeşiline dönüncüye kadar 400 °C' de yakmaya devam edilmiştir. Yakma işlemi tamamlandıktan sonra ılıyan tüplere 25 ml saf su eklenmiştir. Daha sonra 10 ml %4' lük borik asit ve 5 damla metil red indikatörü konulan bir erlen ile yakılan tüpler sırayla destilasyon cihazına yerleştirilerek destilasyon işlemi yapılmıştır. Bu işlem sonunda asit ve indikatörle pembe renge dönmüş olan erlendeki çözelti sarı renge dönmüştür. Bu

çözelti 0.1 N HCl ile titre edilerek tekrar pembe renge dönene kadar harcanan HCl miktarı belirlenmiştir. Harcanan HCl miktarı(ml)x0.14/ Kullanılan numune miktarı (0.25 g) denklemi ile %N hesaplanmıştır (Kacar ve İnal 2010).

5. Yaprak Azot (N) içeriği

Yaprak N içeriği = Toplam yaprak kuru ağırlığı x ham azot konsantrasyonu / SLA (Spesifik yaprak alanı) denklemleri ile g/dm^2 cinsinden hesaplanmıştır (Cornelissen ve ark., 1997). Protein değeri ise %Protein = %N x 6.25 formülü ile belirlenmiştir.

6. N Rezorbsiyon Kullanım Verimlilik (NRE) Değerinin Belirlenmesi

N rezorbsiyon kullanım verimliliği hesaplanırken, yaprakların en olgun olduğu aydaki maksimum besin elementi içeriğinden senesens dönemindeki minimum besin elementi içeriği çıkarılarak en olgun olduğu aydaki besin elementi içeriğine bölünür ve 100 ile çarpılır (Gusewell, 2005).

7. N Rezorbsiyon Kullanım Yeterliliği (NRP) Değerinin Belirlenmesi

N rezorbsiyon kullanım yeterliliği hesaplanırken senesens yapraklarındaki en yüksek N elementi içeriği alınır.

8. Toprak Parametrelerinin Belirlenmesi

Toprakların kimyasal ve fiziksel analizleri Ankara Toprak, Gübre ve Su kaynakları Araştırma Enstitüsü'nde yaptırılmıştır. N (%) mikro-Keldahl metodu ile, P (%) amonyum-molibdat- Stannus klorid metodu ile, Organik madde (%) Walkkey – Black metodu ile K (%), Ca (%) ve Mg (%) atomik absorpsiyon spektrofotometre ile ve toprak pH'sı pH metre ile belirlenmiştir. % nem miktarı ise toprağın yaş ve kuru ağırlık farkı hesaplanarak belirlenmiştir. Toprağın tekstür analizi Bouyoucus hidrometre metodu ile hesaplanmıştır (Kacar, 1984).

Bulgular ve Tartışma

Laurocerasus officinalis taksonunun 2019 ve 2020 yılına ait 3 gelişme evresinde (genç, olgun ve senesens) toplanan yaprak numunelerinde %N, N içeriği (g/dm²), protein değerleri (%), N rezorbsiyon kullanım verimliliği ve yeterliliği parametreleri incelenmiştir. Bu parametrelere ait tanıttıcı istatistik değerleri ile N içeriğinin hesaplanmasında kullanılan SLA değerleri Tablo 1’de verilmiştir.

		2019			2020		
Parametre	Dönem	n	Ortalama	Standart Sapma	n	Ortalama	Standart Sapma
%N	Genç	3	5.263	0.632	3	4.870	0.191
	Olgun	3	4.930	1.069	3	4.817	0.342
	Senesens	3	4.480	1.071	3	4.407	0.331
N içeriği (g/dm ²)	Genç	3	74.837	11.259	3	76.443	7.530
	Olgun	3	53.357	15.679	3	53.577	10.921
	Senesens	3	60.480	25.920	3	72.093	18.336
Protein (%)	Genç	3	32.900	3.975	3	30.450	1.212
	Olgun	3	30.800	6.678	3	30.100	2.129
	Senesens	3	28.000	6.705	3	27.533	2.051
SLA (dm ² /g)	Genç	3	0.667	0.023	3	0.610	0.036
	Olgun	3	0.903	0.076	3	0.920	0.050
	Senesens	3	0.810	0.056	3	0.720	0.105
NRE	Genç						
	Olgun	36.54			18.45		
	Senesens						
NRP	Genç						
	Olgun	89.59			89.97		
	Senesens						

Tablo 1. N dinamikleri ile ilgili istatistikî değerler

Tablo 1'deki %N değerleri incelendiğinde, 2019 yılının genç, olgun ve senesens dönemi değerlerinin 2020 yılına göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bununla beraber, her iki yıl için %N değerleri genç gelişim döneminde olgun ve senesens dönemine göre daha yüksek bulunmuştur. Yaprak besin elementi konsantrasyonlarının yaprak döken türlerde genç dönemde yüksek, olgun dönemin başlangıcına kadar aşağı yukarı sabit iken yaprağın absisyonundan önce azalmaya başladığı bilinmektedir. Bazı herdem yeşil türler için de benzer durumlar ifade edilmiştir (Hevia ve ark., 1999; Türkü ve Özbucak, 2010). Çalışma materyalimiz olan herdem yeşil *L. officinalis* 'te genç fazda yüksek olan N konsantrasyonu bu sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Herdem yeşil türlerde N gibi makroelementler etkin bir şekilde kullanılarak olumsuz çevresel faktörlere daha iyi uyum sağlanabilmektedir (Aerts, 1995). Başlangıç fazında yeni yapraklarda görülen yüksek besin elementi içeriğinin kaynağı bir önceki vejetasyon periyodunda senesense uğramış yapraklardan çekilen ya da depolanan besin elementi de olabilir (Fircks ve ark., 2001; Güzel, 2017). Gelişim döneminin başlangıcındaki yüksek besin elementleri yaprakların oluşumundan sonraki metabolik süreçlerde gerekli olan protein, lipit, karbonhidrat gibi organik bileşiklerin yapı taşlarıdır (Arneith ve ark., 1996). Yılmaz, (2013), metabolizma ile ilişkili olan N' un yaprakların ilk oluştuğu genç dönemde en yüksek daha sonra azalan miktarlarda olduğunu belirtmiştir.

N içeriği değerleri açısından ise %N değerlerinin aksine 2020 yılındaki değerler 2019 yılına göre daha yüksektir. 2019 ve 2020 yıllarında en yüksek N içeriği genç gelişme döneminde en düşük değer ise olgun dönemde görülmektedir. N konsantrasyonu değerlerinden farklı olarak içerik hesaplamalarında SLA değerleri de kullanılmaktadır. Bu da değişen SLA değerlerine bağlı olarak N içeriğini değiştirmektedir. Yapılan çalışmada sıcaklık-yağış iklim diyagramlarına bakıldığında sıcaklığın her iki yıl için aynı, yağışın ise 2020 yılında biraz fazla olduğu görülmektedir. Sıcaklık, yağış, rüzgâr gibi abiyotik ekolojik faktörlerde görülen varyasyonlar ve bitki besin elementlerinin bu faktörlerden etkilenme oranı SLA değerlerinde mevsimsel değişimlere neden olabilir (Kwon, 2016). 2020 yılında artan yağış miktarına bağlı olarak SLA değerlerinin azaldığı N içerik değerlerinin arttığı görülmektedir. Bu durum içeriğin hesaplanmasında kullanılan formül ile de uyumludur.

2019 ve 2020 yılları % Protein açısından değerlendirildiğinde %N değerleri ile paralellik göstermektedir. Aynı şekilde her iki yıl için de en yüksek değer genç dönemde, en düşük değer ise senesens döneminde olduğu görülmektedir. Türlerin besin elementi değerlerinin fizyolojik ve fenolojik gelişme dönemlerine göre değiştiği bildirilmiştir (Güzel, 2017). Yapılan çalışmada da 2019 ve 2020

yıllarına ait protein değerlerinin bitkinin gelişim fazlarına bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir.

Besin elementlerinin senesense uğramış yapraklardan dayanıklı dokulara transferi olarak bilinen rezorbsiyon ağaç ve çalılarda besin elementlerinin korunması adına geliştirilmiş önemli bir stratejidir (Kutbay ve ark., 2005; Özbucak ve ark., 2008; Kılıç ve ark., 2010; Yalçın, 2018). NRE ve NRP rezorbsiyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılan iki yaklaşımdır (Yalçın, 2018). Yapılan çalışmada, 2020 yılı NRE değerinin (18.45) 2019 yılına göre (36.54) daha düşük olduğu görülürken, NRP değerleri açısından, 2019 değeri (89.59) ile 2020 yılı değeri (89.97) arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Çevresel etkilere bağlı olarak iklim ve toprak özelliklerinde görülen değişiklikler bitkilerde besin elementi rezorbsiyonu üzerinde etkili olabilmektedir (Kutbay ve Ok, 2003; Bilgin ve ark., 2016; Bilgin ve Güzel, 2017; Sürmen, 2020). Özellikle yağış, rezorbsiyon emilim stratejilerinin belirlenmesinde önemli bir role sahiptir (Xu ve ark., 2021). Aynı zamanda NRE'nin bizim çalışmamızda olduğu gibi yağış artışına bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Vergutz ve ark. 2012). Bazı herdem yeşil türlerin NRE değerleri, Escudero ve ark., (1992) tarafından %29-46.7, Killingbeck ve Costigan (1988) tarafından %25.7 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada belirlenen 2019 NRE değeri literatür ile uyumlu iken 2020 NRE değeri daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni rezorbsiyon mekanizmasının tam olarak etkili olmaması olabilir (Özbucak ve ark., 2009).

NRP değerleri bazı herdem yeşil türlerde, Aerts (1996) tarafından 7.30, Kılıç ve ark., (2010) tarafından 17.71-20.69, Karavin (2010) tarafından 8.90-9.40 olarak bildirilmiştir. Mevcut çalışmadaki bulunan NRP değerleri literatüre göre yüksek bulunmuştur. NRP değerinin 50'nin altında olmasının rezorbsiyon yeterliliğinin fazla olduğunu gösterdiği ifade edilmiştir (Killingbeck, 1996). Oysa bizim çalışmamızda bulunan değerlerin bu değer üzerinde olması N rezorbsiyonunun biyokimyasal olarak yeterli gerçekleşmediğini göstermektedir.

Toprak Özellikleri ile İlgili Bulgular

Çalışma alanında belirlenen üç lokaliteden 2020 yılında alınan toprak numuneleri ile ilgili EC (dS/m), ekstrakte edilebilir magnezyum (ppm), ekstrakte edilebilir kalsiyum (ppm), N (%), bitkiye yarayışlı fosfor (kg/da), bitkiye yarayışlı potasyum (kg/da), nem (%), suyla doymuş toprakta pH, su ile doygunluk (%), organik madde (%) ve bünye sınıfına ait değerler Tablo 2'de, toprak analizi için tanıtıcı istatistik sonuçları ise Tablo 3'te verilmiştir. Tablo 2'ye bakıldığında

lokalitelerin toprak özelliklerine ait değerler arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmektedir.

BÖLGE	L	EC (dS/m)	EEM (ppm)	EEK (ppm)	N (%)	BYF (kg/da)	BYP (kg/da)	Nem (%)	SDT pH	SD (%)	OM (%)	BS
450m	1	1.12	1976.25	4735.25	0.448	8.30	62.9	113.50	6.52	81	1.87	C
	2	1.10	1826.25	1826.25	0.504	8.60	61.6	114.50	6.49	82	1.11	C
	3	1.20	1867.50	1867.50	0.28	1.30	62.9	113.80	6.50	83	0.78	C

Tablo 2. Toprak Analizi Sonuçları (L: Lokalite, EC: Elektrik İletkenliği, EEM: Ekstrakte Edilebilir Magnezyum, EEK: Ekstrakte Edilebilir Kalsiyum, N: Azot, BYF: Bitkiye Yarayışlı Fosfor, BYP: Bitkiye Yarayışlı Potasyum, SDT pH: Suyla Doymuş Toprakta pH, SD: Su ile Doygunluk, OM: Organik Madde, BS: Bünye Sınıfı, C: Killi)

Tablo 3 ve 4'te verilen toprak analiz sonuçlarına bakıldığında, bölgenin killi özellikte bünyeye sahip olduğu belirlenmiştir. EC (Elektriksel iletkenlik) değeri açısından çok hafif tuzlu, ekstrakte edilebilir magnezyum değerinin yüksek, ekstrakte edilebilir kalsiyum değerinin orta, % N değerinin düşük, bitkiye yarayışlı fosforun yüksek, % nemin orta, çok hafif asidik ve organik madde açısından düşük özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir (Anonim, 2020).

Parametre	n	Ortalama	Std. Sapma
EC (dS/m)	3	1.140	0.053
Ekstrakte Edilebilir Magnezyum (ppm)	3	1890.000	77.490
Ekstrakte Edilebilir Kalsiyum (ppm)	3	2809.667	1667.732
N (%)	3	0.411	0.117
Bitkiye Yarayışlı Fosfor (kg/da)	3	6.067	4.131
Bitkiye Yarayışlı Potasyum (kg/da)	3	62.467	0.751
Nem (%)	3	113.933	0.513
Suyula Doymuş Toprakta PH	3	6.503	0.015
Su ile Doygunluk (%)	3	82.000	1.000
Organik Madde (%)	3	1.253	0.559

Tablo 3. Toprak Analizi İçin Tanıtıcı İstatistik Değerleri

Sonuç

Bu çalışmada Ordu ili 450 m rakımında belirlenen üç örnek parselden 2019 ve 2020 yıllarında genç, olgun ve senesens döneminde toplanan *L. officinalis* yaprak örneklerinin %N, N ve protein içerikleri, NRE, NRP değerleri ile bölgenin toprak özellikleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

Küresel iklim değişikliğinin sıcaklık ve yağış gibi iklim elemanları üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Bu durumun karasal ekosistemin önemli elemanları olan bitkilerin besin elementi dinamiklerini etkileyeceği öngörülmektedir. Bu noktada küresel iklim değişikliği sürecinin ekosistem

fonksiyonları üzerindeki etkilerini inceleyebilmek için yapılan besin elementi dinamikleri ve rezorbsiyon çalışmalarının arttığı görülmektedir. Bu nedenle yapılan çalışmanın bu konuda bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

Teşekkür

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenen A2009 numaralı projenin bir kısmıdır.

Kaynaklar

- Aerts, R. (1995). The advantages of being evergreen. *Trends in Ecology and Evolution*, 10, 402-407.
- Aerts, R. (1996). Nutrient resorption from senescing leaves of perennials: are there general patterns?. *Journal of Ecology*, 84, 597-608.
- Anonim. (2020). Users/test/Downloads/toprak-analiz-sonuclarinin-degerlendirmesi.pdf
- Anonim. (2023). *Laurocerasus officinalis*. <http://www.tubives.com>-(Erişim tarihi: 09.12.2023).
- Arneth, A., Kelliher, FM., Bauer G, Hollinger, DY., Byers, JN., Hunt, JE., McSeveny, TM., Ziegler, W., Vygodskaya, NN., Milukova, I., Sogachov, A., Varlagin, A. ve Schulze, ED. (1996). Environmental regulation of xylem sap flow and total conductance of *Larix gmelinii* trees in eastern Siberia. *Tree Physiology*, 16, 247-255.
- Ayaz, FA, Kadioğlu, A., Reunanen, M. ve Var, M. (1997). Sugar composition in fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its three cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 82–86.
- Bilgin, A. ve Güzel, Ş. (2017). Foliar resorption and nutrient changes in leaves and soils of *Tilia rubra* subsp. *caucasica* (Linden) along an altitudinal gradient during the growing season. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(2a), 1607-1621.
- Bilgin, A., Zeren, Y. ve Güzel, S. (2016). Foliar N and P resorption and nutrient (N, P, C, and S) contents of *Vaccinium arctostaphylos* L. and *Vaccinium myrtillus* L. from East Black Sea region of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 40, 137-146.
- Bolat, İ. ve Kara, Ö. (2017). Bitki besin elementleri: kaynakları, işlevleri, eksik ve fazlalıkları. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 19(1), 218-228.
- Brant, AN. ve Chen, HYH. (2015). Patterns and Mechanisms of Nutrient Resorption in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, 471–486.

- Cornelissen, JHC., Werger, MJA., Castro-Diez, P., Van Rheenen, JWA. ve Rowland, AP. (1997). Foliar nutrients in relation to growth, allocation and leaf traits in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia*, 111, 460-469.
- Davis, PH. (1965-1985). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 1- 9, *Edinburgh University Press*, Edinburgh.
- Ergüney, E., Gülsünoğlu, Z., Fıratlıgil Durmuş, E. ve Kılıç Akyılmaz, M. (2015). Karayemiş tozu fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi. *Akademik Gıda*, 13(2), 108-114.
- Escudero, A., del Arco, JM., Sanz, IC. ve Ayala, J. (1992). Effects of leaf longevity and retranslocation efficiency on the retention time of nutrients. *Oecologia*, 90, 80-87.
- Fircks, YO., Ericsson, T. ve Sennerby-Forsse, L. (2001). Seasonal variation of macronutrients in leaves, stems and roots of *Salix dasyclados* Wimm. grown at two nutrient levels. *Biomass Bioenergy*, 21, 321-234.
- Gusewell, S. (2005). Nutrient resorption of wetland graminoids is related to the type of nutrient limitation. *Functional Ecology*, 19, 344-354.
- Güzel, Ş. (2017). Fırtına Vadisi'nde Bazı Odunsu Taksonların Yüksekliğe Bağlı Makroelement Değişimi ve Rezorbsiyon. Doktora Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Rize.
- Hevia, F., Minoletti, ML., Decker, KLM. ve Boerner, REJ. (1999). Foliar nitrogen and phosphorus dynamics of three *Chilean nothofagus* (Fagaceae) species in relation to leaf lifespan. *American Journal of Botany*, 86, 447-455.
- Hürkul, MM. ve Köroğlu, A. (2021). Türkiye'de doğal olarak yetişen bazı *Cotoneaster Medik.* (Rosaceae) türlerinin karşılaştırmalı morfolojik özellikleri. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 45(1), 12-33.
- İslam, A. ve Deligöz, H. (2012). Ordu ilinde karayemiş (*Laurocerasus officinalis* L.) seleksiyonu, *Akademik Ziraat Dergisi*, 1(1), 37-44.
- Kacar, B. (1984). Bitki besleme. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara. 317s.
- Kacar, B. ve İnal, A. (2010). Bitki Analizleri. Nobel Yayın Dağıtım 2. Baskı, Bölüm:9-31, ISBN: 978-605-395-036-3, Yayın No:1241, Ankara, S: 171-697.
- Karavin, N. (2010). Bir *Quercus cerris* L. var. *cerris* ormanında bulunan yaprak döken (*Quercus cerris* L. var. *cerris*) ve yaprak dökmeyen (*Phillyrea latifolia* L.) iki türde yaprakta N ve P rezorbsiyonunun, dekompozisyonunun ve mineral besin maddesi değişiminin incelenmesi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

- Kılıç, D., Kutbay, HG., Özbucak, TB. ve Hüseyinova, R. (2010). Foliar resorption in *Quercus petraea* subsp. *iberica* and *Arbutus andrache* along an elevational gradient. *Annals of Forest Science*, 67, 213-220.
- Kılınç, M., Kutbay, HG., Yalçın, E. ve Bilgin, A. (2006). Bitki ekolojisi ve bitki sosyolojisi uygulamaları. Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 362 s.
- Killingbeck, KT. (1996). Nutrients in senesced leaves: keys to the search for potential resorption and resorption proficiency. *Ecology*, 77, 1716-1727.
- Killingbeck, KT. ve Costigan, SA. (1988). Element resorption in a guild of understory shrub species: niche differentiation and resorption thresholds. *Oikos*, 53, 366-374.
- Kolaylı, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F. ve Dinçer, B. (2003). Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) fruit grown in the Black Sea Region. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7489-7494.
- Kutbay, HG. ve Ok, T. (2003). Foliar N and P resorption and nutrient levels along an elevation gradient in *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. *Annals of Forest Science*, 60, 449-454.
- Kutbay, HG., Ok, T., Bilgin, A. ve Yalcin, E. (2005). Seasonal nutrient levels and foliar resorption in *Juniperus phoenicea*. *Belgian Journal of Botany*, 138, 67-75.
- Kwon, B., Kim, HS., Jeon, J. ve Yi, MJ. (2016). Effects of temporal and interspecific variation of specific leaf area on leaf area index estimation of temperate broadleaved forests in Korea. *Forests*, 7, 215.
- Liyana-Pathirana, CM., Shahidi, F. ve Alasalvar, C. (2006). Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chemistry*, 99(1), 121-128.
- Lü, XT., Freschet, GT., Flynn, DFB. ve Han, XG. (2012). Plasticity in leaf and stem nutrient resorption proficiency potentially reinforces plant-soil feedbacks and microscale heterogeneity in a semi-arid grassland. *Journal of Ecology*, 100, 144-150.
- Milosevic, T., Milosevic, N., Glisic, I. ve Paunovic, G. (2009). Leaf nutritional status and macronutrient dynamics in European hazelnut (*Corylus avellana* L.) under western Serbian conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 3169-3178.
- Özbucak, TB., Kutbay, HG., Kılıç, D., Korkmaz, H., Bilgin, A., Yalçın, E. ve Apaydın, Z. (2008). Foliar resorption of nutrients in selected sympatric tree species in gallery forest (Black Sea Region). *Polish Journal of Ecology*, 56, 227-237.
- Özbucak, TB., Kutbay, HG., Yalçın, S. ve Kılıç DD. (2011). Foliar nitrogen (N), phosphorus (P) dynamics and foliar resorption of *Corylus avellana* var. *avellana*. *Ekoloji*, 81, 1-7.

- Özbucak, T. ve Sağlam, A. (2021). *Phytolacca americana* L. Bitkisinin Farklı Habitatlardaki Azot ve Fosfor Makro Element Değerlerinin Karşılaştırılması. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 11(2), 113-123.
- Özbucak, TB., Türkış, S. ve Çakmak, A. (2009). An ecological study on some Rhododendron species distributed around Ordu province. *Research Journal of Biological Sciences*, 2, 71-77.
- Sürmen, B. (2020). İstilacı *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (Simaroubaceae) türünün yaprak N ve P rezorbsiyonu. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 100. Yıl Özel Sayısı, 7, 35-50.
- Sürmen, B., Kutbay, HG. ve Kılıç, DD. (2012). Hacıosman Tabiatı Koruma Alanı (Samsun/Türkiye) Subasar Ormanı'nda azot tespiti yapan *Alnus glutinosa* L. ile azot tespiti yapmayan *Acer campestre* L. ağaç türlerinde yaprak rezorbsiyonu. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1), 13-19.
- Türkış, S. ve Özbucak, T. (2010). Foliar resorption and chlorophyll content in leaves of *Cistus creticus* L. (Cistaceae) along an elevational gradient in Turkey. *Acta Botanica Croatica*, 69(2), 275-290.
- Vahapoğlu, B., Altan, EN. ve Gülseren, İ. (2018). Karayemiş meyvesinin biyoaktif özellikleri ve fonksiyonel gıdalarda kullanım potansiyeli. *The Journal of Food*, 43(5), 751-764.
- Vergutz, L., Manzoni, S., Porporato, A., Novais, RF. ve Jackson, RB. (2012). Global resorption efficiencies and concentrations of carbon and nutrients in leaves of terrestrial plants. *Ecological Monographs*, 82, 205-220.
- Xu, M., Zhu, Y., Zhang, S., Feng, Y. Zhang, W. ve Hana, X. (2021) Global scaling the leaf nitrogen and phosphorus resorption of woody species: Revisiting some commonly held views. *Science of the Total Environment*, 788, 147807.
- Xue L. ve Luo S (2002). Seasonal changes in the nutrient concentrations of leaves and litter in a young *Cryptomeria japonica* stand, *Scandinavian Journal of Forest Research*. 17, 495-500 Karavin, N. & Kılınç, M. (2011). Yaprak döken *Quercus cerris* var. *cerris* ve herdemyeşil *Phillyrea latifolia* da sla ve lma'nın yöne, mevsime ve iklimsel parametrelere bağlı olarak değişimi. *Ekoloji*. 20(81), 21-29.
- Yalçın, E. (2018). Ekosistemlerde Yaprığın Ekolojik Fonksiyonları. *Black Sea Journal of Engineering and Science*, 1(2), 68-82.
- Yılmaz, H. (2013). Farklı fenolojik gelişim basamaklarına sahip bazı herdem yeşil bitkilerde azot ve fosfor geri alınımı üzerine bir araştırma. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Yılmaz, H., Kutbay, HG., Kılıç, DD. ve Sürmen, B. (2014). Foliar nitrogen and phosphorus resorption in an undisturbed and *Pinus pinaster* Ait planted forests in Northern Turkey. *Revue D'Ecologie-La Terre Et La Vie*, 69: 39-48.
- Zhao, HX., Duan, BL. ve Lei, YB. (2015). Causes for the unimodal pattern of leaf carbon isotope composition in *Abies faxoniana* trees growing in a natural forest along an altitudinal gradient. *Journal of Mountain Science*, 12, 39-48.

BÖLÜM 21

TOPRAK MİKROBİYAL FAALİYETİNE NANOTEKNOLOJİK YAKLAŞIMLAR

Doç. Dr. Nacide KIZILDAĞ ÖZDAL¹

Prof. Dr. Hüsniye AKA SAĞLIKER²

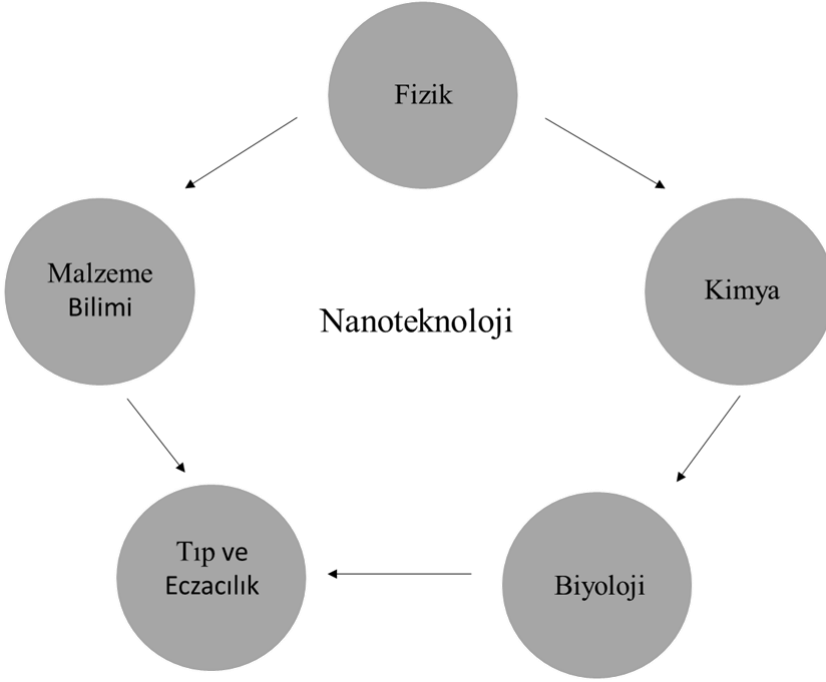
¹ Çukurova Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, 01330, Adana
Orcid: 0000-0001-6687-223X

² Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 80000,
Osmaniye, Orcid: 0000-0003-3807-1827

GİRİŞ

Nanopartiküller, nanoteknolojide önemli bir yere sahip olan ve geleceğin ileri teknolojisi olarak düşünülen 100 nm' den daha küçük boyuttaki partiküllerdir. Geniş yüzey alanına ve yüksek yüzey enerjisine sahip olmalarının yanı sıra (Song ve Ge, 2019) yıldız, piramit, küre, çubuk ve kafes gibi çeşitli şekillerde bulunabilirler (Liao vd., 2008; Kim vd., 2010; Chen vd., 2013; Kladko vd., 2021). Bu nanopartiküller, gümüş, altın, çinko, demir gibi birçok farklı inorganik ve metalik maddelerden oluşabilmektedir. Nanopartiküllerin çeşitli şekillerde ve farklı boyutlarda bulunmaları, geniş bir kullanım alanının oluşmasına katkıda bulunmuş ve günümüzde birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılmasına olanak sağlamıştır (Altammar, 2023). Nanoteknolojinin gelişmesiyle bu alanlar daha da gelişmeye ve genişlemeye devam etmektedir.

Nano yapılı kimyasal materyal olan nanopartiküller, aynı kimyasalların daha büyük boyutlu parçacıklarına kıyasla elektrokimyasal, katalitik ve optik özellikler açısından çok daha farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir (Erkoç, 2011). Bu farklılık nanopartiküllerin makro boyutlu partiküllerle aynı atomlardan oluşmalarına rağmen, farklı bir oluşum geometrisine sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (Ünşari ve Perendeci, 2016). Nanopartiküllerin özellikle endüstride kendilerine geniş yer bulmasının en temel nedeni boyutun küçülmesi ile değişen fiziksel ve kimyasal özellikleridir. Daha az atık üretme ve ekonomik olma özelliklerine sahip olmaları nedeniyle, günlük kişisel ihtiyaçlardan uzun ömürlü tüketim malzemelerine kadar birçok üründe kullanılmaktadır. Geleceğin teknoloji ürünü olarak kabul edilen nanopartiküller, son yıllarda nanoteknolojik gelişmelerin artması nedeniyle başta fizik, kimya, biyoloji, tıp, eczacılık, gıda, tarım gibi birçok alanda araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir (Şekil 1).



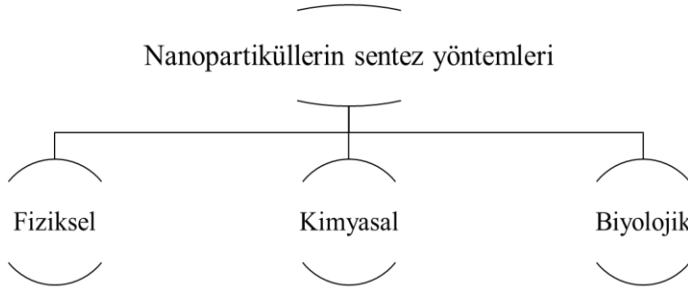
Şekil 1. Nanoteknolojinin uygulama alanları

Biyoteknoloji alanında biyoyumlu malzemelerin geliştirilmesinin hayati önem kazandığı klinik uygulamalarda, çeşitlendirme amacıyla farklı organik ve/veya inorganik fonksiyonlara sahip gruplarla modifiye edilen karbon nanotüpler, en çok araştırılan ileri teknoloji malzemeleri arasında yer almaktadır. Bu malzemelerin potansiyel uygulamaları doku mühendisliğinde yoğun olarak kullanılan biyonosensörlerden yapay doku iskelelerine ve hatta ilaç dağıtım araçlarına kadar uzanmaktadır (Paul ve Robeson, 2008).

Nanoteknolojik gelişmeler birçok alanda olduğu gibi çevre alanında da yoğun olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Düşük maliyetli, çevre dostu alternatif malzemelerin üretilmesinde kullanılabilmesi gibi, var olan kaynaklarımızın korunması ve kirleticilerin toplanıp bertaraf edilmesinde de kullanılabilir. Çevre ve insan sağlığının en önemli faktör olduğu düşünüldüğünde çevreye duyarlı tarımsal faaliyetlerin yürütülmesi son derece önemlidir. Bu nedenle günümüzde ve gelecekte tarım alanlarında meydana gelebilecek potansiyel olumsuzlukların ortadan kaldırılması için yeni teknikler aranmaktadır. Son yıllarda yapılan kapsülleme çalışmalarının tarımsal alanlardaki kısa süreli uygulamalarda oldukça iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Kapsülleme

doğrultusunda sentezlenen nanopartiküller, ekim alanlarında kullanılan herbisitlerin bitkilerde neden olduğu fitotoksositeye bağlı sorunları ortadan kaldırmak için kullanılmaktadır (Bhushan, 2012).

Uzun yıllardır nanopartiküller fiziksel (plazma arkı, bilyalı öğütme, piroliz ve lazer desorpsiyon) ve kimyasal yöntemlerle (Sol-jel yöntemi, kimyasal buhar, sonokimyasal çökeltme, solvotermal yöntemler vb.) sentezlenmektedir. Bu yöntemlerin dışında son zamanlarda gelişen teknolojiyle birlikte biyolojik ajanlar kullanılarak nanopartiküller de biyolojik olarak sentezlenmektedir. Fiziksel ve kimyasal sentez yöntemlerinin karmaşıklığı, maliyetli olması, toksik madde kullanım gerekliliği ve biyomedikal uygulamalara uygun olmama gibi birçok dezavantajı bulunmaktadır. Biyolojik sentez ise uygulanmasının daha kolay olması, nispeten ekonomik olması ve çevre dostu olması nedeniyle tercih nedeni haline gelmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Nanopartiküllerin sentezlenme yöntemleri

Nanopartiküllerin biyolojik sentezinde fenolik gruplar, polisakaritler, proteinler ve organik asitler indirgeyici ve kaplama maddeleri olarak kritik bir rol oynamaktadır. Bitki ekstraktlarının biyolojik indirgeyici ajan olarak kullanılması, hücre kültürüne ihtiyaç duyulmaması, bitki atıklarının değerlendirilmesi ve yeniden kullanılması, sentez süresinin kısa olması gibi nedenlerden dolayı daha tercih edilebilir görünmektedir. Bitki ekstraktları ile biyolojik olarak sentezlenen nanopartiküllerin fiziksel özellikleri, bitkinin türüne, ortamın sıcaklığına,

reaksiyonun süresine ve metal iyonunun konsantrasyonuna göre değişiklik göstermektedir (Koca vd., 2022).

Bu bağlamda son zamanlarda bitkilerin yaprak, meyve, dal gibi kısımları kullanılarak nanopartikül sentezine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Yapılan çalışmalar biyolojik ajanlar arasında bitki yaprak ekstraktları ile sentezlenen nanopartiküllerin yüksek miktarlarda üretime uygun olduğunu ve bu nanopartiküllerin son derece stabil bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymuştur (Harshiny vd., 2015).

Metalik nanopartiküllerin çeşitli endüstriyel ürünlerde kullanılması hava, su ve toprak gibi çevresel bileşenlerin nanopartiküllere maruziyetini de arttırmıştır. Bu bileşenler arasında özellikle toprak, diğer ekosistemlere (hava, su) kıyasla nanopartiküllerin toplandığı en önemli ortamın olduğu bilinmektedir (Sun vd., 2015; Simonin ve Richaume, 2015). Nanopartiküller endüstriyel üretim sırasında, arıtma çamurlarından, depolama alanlarından veya kazara dökülmeler sonucu toprağa nüfuz edebilir. Bu ortamdaki metalik nanopartiküller toprağın organik madde, pH, elektriksel iletkenlik, organik karbon ve nitrojen gibi fiziko-kimyasal özelliklerini önemli ölçüde etkilemezken, topraktaki mikrobiyal popülasyon üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Rashid vd., 2017).

Küçük boyutları ve geniş yüzey alanları nedeniyle nanopartiküller genellikle ağır metal içerikli kirleticilerin ekosistemden yüksek verimlilikle uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca nano boyutlu pestisitlerin tarım ürünlerinde pestisit kalıntılarının olumsuz etkilerini ortadan kaldırması açısından tarımsal mücadele çalışmalarında umut verici olduğu bildirilmektedir. Nanopartiküller bazı çalışmalarda toksik etki gösterirken bazılarında ise herhangi bir etki göstermemektedir (Barrena vd., 2009; Garcia vd., 2012). Bu açıdan bakıldığında nanopartiküllerin toprakta yaşayan mikroorganizmaların aktiviteleri üzerinde toksik etki yaratıp yaratmadığı konusunda bilgi vermek için çok sayıda ve daha detaylı çalışmaların yapılması oldukça gerekli görünmektedir. Topraktaki mikroorganizmaların nanopartiküllere karşı tepkisi veya toleransları, bu bileşiklerin ekolojik denge üzerindeki etkileri hakkında önemli ve değerli bilgiler sağlayacaktır. Çünkü mikroorganizmaların bozunma kabiliyetleri ve potansiyelleri, ekosistemlerin devamlılığını ve dolayısıyla yaşamın sürdürülebilirliğini sağlamaktadır.

Toprak mikroorganizmalarının çoğunluğu metal indirgeme ve metalik nanopartikül sentezi yapma yeteneğine sahiptir. Bu organizmalar yalnızca birkaç metale karşı direnç geliştirdiğinden, üretilen metal nanopartikülün türü kritik öneme sahiptir (Sing vd., 2016). Metalik nanopartiküller topraktaki besin

maddelerinin ve toksik bileşiklerin biyoyararlanımını değiştirebilir ve bunların doğal bileşiklerle etkileşimi mikroorganizmalar için antimikrobiyal etkiyle sonuçlanabilir (Simonet ve Valcárcel, 2009, Sedefoğlu vd., 2023). Ayrıca nanopartiküllerin topraktaki toksik organik bileşiklerle etkileşime girmesi durumunda mikroorganizma aktivitelerindeki toksisitesinin azaldığı görülmektedir (Fabrega vd., 2009; Dinesh vd., 2012; Pachapur vd., 2015). Bakır (Cu), çinko (Zn), titanyum (Ti), magnezyum (Mg), paladyum (Pd), altın (Au) ve gümüş (Ag) gibi nanopartiküller son zamanlarda endüstrinin ve araştırmacıların dikkatini çekmektedir.

Çalışmalar, yukarıda belirtilen nanopartiküller arasında yer alan özellikle Ag ve Pd'nin bakteri, virüs, mantar gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkilere sahip olduğunu kanıtlamıştır (Shankar vd., 2003; Albrecht vd., 2006; Gong vd., 2007; Hazarika vd., 2017). Ayrıca nano boyutlu pestisitlerin tarım ürünlerinde pestisit kalıntılarının olumsuz etkilerini ortadan kaldırması açısından tarımsal mücadele çalışmalarında umut verici olduğu bildirilmektedir.

Toprak ekosistemlerindeki mikroorganizmalar toprak organik madde (TOM) ayrışımı, azot fiksasyonu, bitki besin elementlerinin döngüsü ve topraktaki karbonun depolanması gibi birçok biyokimyasal süreçlere katılmaktadır. Toprakta oluşan bu mikrobiyal faaliyetleri incelemek, anlamak ve optimize etmek için günümüzde çeşitli nanoteknolojik yaklaşımlardan yararlanılmaktadır. Nanopartiküller ile toprakların yapı ve özelliklerinin iyileştirilmesi, nano boyuttaki sensörler ile topraktaki mikrobiyal faaliyetin izlenmesi, nanopartiküllerle hazırlanan gübreler ile bitki beslenmesinin daha etkili sağlanması (Sedefoğlu vd., 2022), nanoherbisitler sayesinde tarımda yabancı otlarla mücadele bu nanoteknolojik yaklaşımlardan bazılarıdır.

Kil, organik madde ve pH gibi toprak özellikleri, topraktaki nanopartiküllerin toksisitesini belirleyen en önemli parametrelerdir (Waalewijn-Kool vd., 2014). Bu toprak parametreleri pestisitler, ağır metaller veya polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi yaygın kirleticilerin biyoerişilebilirliğini ve davranışını önemli ölçüde etkilemektedir (Labud vd., 2007). Nanopartiküllerin toprak özelliklerinden nasıl etkilendiği, mikroorganizmaları ne ölçüde ve nasıl etkilediğine ilişkin çalışmalar oldukça sınırlıdır. Toprak mikroorganizmaları biyokimyasal döngüler (karbon, nitrojen, kükürt ve fosfor döngüleri), bitki verimliliği ve iklim düzenlemesi gibi birçok önemli fonksiyonda hayati bir rol oynamaktadır.

Mikrobiyal topluluklar, çevresel bozulmaya karşı toprağın en hassas ekolojik göstergeleri olup nanopartiküllerin toprak fonksiyonu ve kalitesi üzerindeki

etkilerini araştırmak için iyi bir model olabileceği düşünölmektedir. Simonin ve ark. (2015), düşük dozda TiO₂ nanopartikölünün toprak karbon mineralizasyonunu azalttığını ve bu nanopartikölün incelenen topraktaki mikrobiyal popölasyon üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını açıklamıştır (Simonin vd., 2015). Başka bir araştırmada, *Phoenix dactylifera* ölüörtüsü karıştırılan kumlu topraklara ZnONP ilave edilmiş ve nanopartikölün etkisi araştırılmıştır. ZnONP'lerin etkisiyle mikrobiyal biyokötle karbonu ve koloni oluşturan birim sayısında önemli bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca ZnONP karıştırılan bu topraklarda karbon ve azot mineralizasyonu ile atmosfere salınan CO₂ emisyonunda da azalma meydana gelmiştir (Rashid vd., 2017). Kızıldağ ve ark. (2019) ayrıca *Peganum harmala* L. bitkisinden biyolojik sentezle üretilen TiO₂ ve ZnO nanopartiköllerinin farklı dokudaki topraklarda yaşayan mikroorganizmalarda toksik etkiler oluşturduğunu bildirmiştir.

SONUÇ

Günümüz şartlarında artan ihtiyaçları karşılamak üzere geliştirilen nanopartiköller ödukça popöler hale gelerek farklı alanlardaki bilimsel çalışmalara yeni bir bakış açısı yaratmıştır. Ancak nanopartiköllerin kullanıldığı bazı alanlardaki özellikle topraktaki potansiyel etkileri ile ilgili çalışmalar ödukça sınırlıdır. Toprak ortamında nanopartiköllerin konsantrasyonları hızla artmakta ve bunların olumlu ve olumsuz etkileri konusunda ödukça az şey bilinmektedir. Bu çalışmada nanopartiköllerin sentezi ve toprak üzerindeki olası etkileri hakkında genel bilgiler verilmiş olup, bu etkiler konusunda literatürdeki boşluğun ortaya konulması amaçlanmıştır. Ayrıca bu nanopartiköllerin çevresel etkisi ve insan sağlığı açısından sürdürülebilir ve dengeli kullanımına bağlı olarak nanoteknolojik yaklaşımların geliştirilmesi önemli bir yer tutmaktadır.

KAYNAKLAR

- Albrecht, M.A., Evans, C.W., Raston, C.L. (2006). Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green chemistry*, 8(5), 417-432.
- Altammar, K.A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1155622.
- Barrena, R., Casals, E., Colón, J., Font, X., Sánchez, A., Puentes, V. (2009). Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. *Chemosphere*, 75(7), 850-857.
- Chen, H., Shao, L., Li, Q., Wang, J. (2013). Gold nanorods and their plasmonic properties. *Chemical Society Reviews*, 42(7), 2679-2724.
- Dinesh, R., Anandaraj, M., Srinivasan, V., Hamza, S. (2012). Engineered nanoparticles in the soil and their potential implications to microbial activity. *Geoderma*, 173, 19-27.
- Erkoç, Ş. (2011). Nanobilim ve Nanoteknoloji, ODTÜ Yayıncılık, Ankara, Türkiye,
- Fabrega, J., Fawcett, S.R., Renshaw, J.C., Lead, J.R. (2009). Silver Nanoparticle Impact on Bacterial Growth: Effect of pH, concentration, and organic matter. *Environmental Science & Technology*, Vol. 43, No. 19, pp. 7285–7290.
- García, A., Delgado, L., Torà, J.A., Casals, E., González, E., Puentes, V., Font, X., Carrera, J., Sánchez, A. (2012). Effect of cerium dioxide, titanium dioxide, silver, and gold nanoparticles on the activity of microbial communities intended in wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 199, 64-72.
- Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., Yang, X. (2007). Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(28), 285604.
- Harshiny, M., Iswarya, C.N., Matheswaran, M. (2015). Biogenic synthesis of iron nanoparticles using *Amaranthus dubius* leaf extract as a reducing agent. *Powder technology*, 286, 744-749.
- Hazarika, M., Borah, D., Bora, P., Silva, A.R., Das, P. (2017). Biogenic synthesis of palladium nanoparticles and their applications as catalyst and antimicrobial agent. *PLoS One*, 12(9), e0184936.
- Kim, T.W., Chung, P.W., Lin, V.S.Y. (2010). Facile synthesis of monodisperse spherical MCM-48 mesoporous silica nanoparticles with controlled particle size. *Chemistry of Materials*, 22(17), 5093-5104.
- Kızıldağ, N., Cenkseven, S., Koca, F.D., Sağlıker, H.A., Darici, C. (2019). How titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles do affect soil microorganism activity?. *European Journal of Soil Biology*, 91, 18-24.

- Kladko, D.V., Falchevskaya, A.S., Serov, N.S., Prilepskii, A.Y. (2021). Nanomaterial shape influence on cell behavior. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10), 5266.
- Koca, F.D., Halici, M.G., Işık, Y., Ünal, G. (2022). Green synthesis of Ag-ZnO nanocomposites by using *Usnea florida* and *Pseudevernia furfuracea* lichen extracts and evaluation of their neurotoxic effects. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 1-8.
- Labud, V., Garcia, C., Hernandez, T. (2007). Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. *Chemosphere*, 66(10), 1863-1871.
- Liao, H.G., Jiang, Y.X., Zhou, Z.Y., Chen, S.P., Sun, S.G. (2008). Shape-controlled synthesis of gold nanoparticles in deep eutectic solvents for studies of structure–functionality relationships in electrocatalysis. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(47), 9100-9103.
- Pachapur, V., Brar, S.K., Verma, M., Surampalli, R.Y. (2015). Nano-ecotoxicology of natural and engineered nanomaterials for animals and humans. *Nanomaterials in the Environment*, 421-437.
- Paul, D.R., Robeson, L.M. (2008). Polymer nanotechnology: nanocomposites. *Polymer*, 49(15), 3187-3204.
- Rashid, M.I., Shahzad, T., Shahid, M., Ismail, I.M., Shah, G.M., Almeelbi, T. (2017). Zinc oxide nanoparticles affect carbon and nitrogen mineralization of *Phoenix dactylifera* leaf litter in a sandy soil. *Journal of Hazardous Materials*, 324, 298-305.
- Sedefoğlu, N., Zalaoglu, Y., Bozok, F. (2022). Green synthesized ZnO nanoparticles using *Ganoderma lucidum*: Characterization and In Vitro Nanofertilizer Effects. *Journal of Alloys and Compounds*, Volume 918, <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2022.165695>
- Sedefoğlu, N., Er, S., Veryer, K., Zalaoglu, Y., Bozok, F. (2023). Green synthesized CuO nanoparticles using macrofungi extracts: Characterization, nanofertilizer and antibacterial effects. *Materials Chemistry and Physics*, Volume 309, <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.128393>
- Shankar, S.S., Ahmad, A., Sastry, M. (2003). *Geranium* leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnology Progress*, 19(6), 1627-1631.
- Singh, P., Kim, Y.J., Zhang, D., Yang, D. C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 34(7), 588-599.
- Simonet, B. M., Valcárcel, M. (2009). Monitoring nanoparticles in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393, 17-21.

- Simonin, M., Richaume, A. (2015). Impact of engineered nanoparticles on the activity, abundance, and diversity of soil microbial communities: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 13710-13723.
- Simonin, M., Guyonnet, J.P., Martins, J.M., Ginot, M., Richaume, A. (2015). Influence of soil properties on the toxicity of TiO₂ nanoparticles on carbon mineralization and bacterial abundance. *Journal of Hazardous Materials*, 283, 529-535.
- Song, W., Ge, S. (2019). Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry, *Molecules*, Vol. 24, No. 6, pp. 1033.
- Sun, P., Zhang, K., Fang, J., Lin, D., Wang, M., Han, J. (2015). Transport of TiO₂ nanoparticles in soil in the presence of surfactants. *Science of the Total Environment*, 527, 420-428.
- Ünşari E.K., Perendeci, N.A., (2016). Nanopartiküllerin çevresel akıbetleri ve anaerobik parçalanma prosesine etkileri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 22(6), 503-512.
- Waalewijn-Kool, P. L., Rupp, S., Lofts, S., Svendsen, C., van Gestel, C. A. (2014). Effect of soil organic matter content and pH on the toxicity of ZnO nanoparticles to *Folsomia candida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 108, 9-15.

BÖLÜM 22

DENEY HAYVANLARI ARAŞTIRMA MERKEZLERİNDE KİMYASAL TEHLİKELER VE ALINACAK ÖNLEMLER

Doç. Dr. Dilek SAĞIR¹

¹ Sinop Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi.

GİRİŞ

Hayvan araştırma merkezleri, deney hayvanlarıyla yapılan araştırma süreçlerinde uygulanan çeşitli işlemlere özgü olarak çok çeşitli tehlikeleri bünyesinde barındırmaktadır (Barkley & Richardson, 1984). Gerek merkez çalışanları gerek araştırmacılar tüm bu risklere maruz kalmaktadır (National Research Council, 1997; Thomann, 2003). Hayvanlarla yapılan araştırmalar belirli materyallerden kaynaklanan potansiyel riskleri içermektedir. Hayvan araştırma merkezlerindeki tehlikeler; kimyasal, biyolojik, radyolojik ve fiziksel tehlikeler olmak üzere dört grupta incelenebilir. Bu tehlikeler içerisinde yer alan kimyasal tehlikeler laboratuvar ve hayvan odası ortamlarında her yerde bulunur. Yüzeysel dezenfeksiyonundan hayvanların anestezi uygulamaları/ötenazi işlemlerinde ve doku takibi sürecinde birçok işlemde çok çeşitli kimyasal maddeler kullanılmaktadır (Thomann, 2003). Araştırma protokolleri, toksik kimyasalların hayvanlara verilmesini içerebilir ve ajanlar ve/veya bunların metabolitleri, hayvan tesisi ortamına ve atık akıntılarına karışarak çevre sağlığı açısından da önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

Bu kimyasallara maruziyetin kontrol edilmesi, dikkatli bir tehlike tanıma, risk değerlendirmesi, kontrol önlemlerinin geliştirilmesi, risklerin ve kontrol önlemlerinin iletilmesi ve belirtilen kontrollerin kullanılmasını sağlamak için deney hayvanları araştırma merkezlerinde çalışan personele ve araştırmacılara eğitim yapılması gerekmektedir (Lunn & Sansone, 2023; Schmitt et al, 2017). Hayvan araştırmaları sürecinde sağlam bir sağlık ve güvenlik programının oluşturulması hem araştırmacıların hem hayvan üretim ve bakım sürecinde rol alan personelin sağlığı ve güvenliği için hem de hayvanların biyogüvenliğinin sağlanması açısından son derece önemlidir. Bu çalışmada deney hayvanları araştırma merkezlerinde hayvan bakımı ve kullanımıyla ilişkili kimyasal tehlikeler konusunda bilgilere yer verilmiştir.

ARAŞTIRMALARDA KİMYASALLARIN KULLANIMI

Araştırma hayvanlarının bakımı ve kullanımı ile ilgilenen çoğu çalışan, hayvan bakımı ve laboratuvar ortamlarında kullanılan çeşitli kimyasal tehlikelere maruz kalmaktadır (Fontes, 2008). Çok çeşitli alanlarda deneysel çalışmalar yapan araştırmacılar pek çok deney hayvanında kimyasalların organ sistemleri, gelişimi ve hastalık tedavisi üzerindeki etkisini veya belirli bir rahatsızlığa neden olma yeteneklerini incelemektedir (Arslan et al, 2023). Kimyasal tehlikeler aynı zamanda anestezi gazların ve ötenazi için kullanılan ilaçların kullanımını da içerir. Bu ilaçların birçoğu aynı zamanda emniyet kontrolü gerektiren maddeler olarak da listelenmektedir (National Research Council, 1997). Ayrıca deney

hayvanlarında toksin çalışmaları da yaygındır. Difteri toksini birçok fare modelinde belirli bir fenotipi tetiklemek için kullanılmaktadır ancak bu toksine araştırmacının ya da merkez çalışanının maruz kalması insanlarda intoksikasyonlara neden olabilir. Botulinum toksini ve tetrodotoksin fizyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan çok güçlü toksinlerdir ve güvenlik/erişim kontrolü için gözetim gerektirir (National Research Council, 1997; Thomann, 2003).

Çoğu merkezde hayvan tesisi personeli, araştırma protokolünde yer alan tehlikelerin ötesinde tehlikelerle karşı karşıya kalmaktadır. Zeminleri, duvarları ve kafesleri temizlemek için kullanılan temizlik maddeleri ve dezenfektanlar çalışanlar için çok tehlikeli olabilir ve sıçrama ve dökülmelere karşı korunmak için kişisel koruyucu ekipman gibi ek önlemler gerektirebilir (National Research Council, 1997; Villano et al, 2017). Kafes yıkama sistemleri tarafından kullanılan büyük miktarda kimyasallar nedeniyle, dezenfektan karıştırmak için kullanılan büyük istasyonlar ve kafes yıkama deterjanlarının kullanıldığı alanlar yüksek tehlike alanıdır (National Research Council, 1997; Thomann, 2003).

Hayvan tesisleri, asitler ve bazlar gibi yüzlerce galon kimyasal madde içerebilir. Tehlikeli kimyasalların potansiyel etkileri, kontrol önlemleri, saf malzemenin atılımı, metabolitlerin potansiyel toksisitesi, atılımın süresi ve tehlike varlığı ve genel tehlike profilini ele almak için risk değerlendirmeleri ve analizlerin yapılması gerekir. Yapılan risk değerlendirmesi sonucunda elde edilen veriler araştırmacılar ve hayvan bakım personeli için alınacak gerekli önlemler ve kontroller ile personel için gerekli kişisel koruyucu ekipman ile ilgili uygun rehberlerin oluşturulması amacıyla kullanılmalıdır (National Research Council, 1997; Thomann, 2003; Villano et al, 2017).

KİMYASALLARIN ÖZELLİKLERİ

Yanıcılık, korozyon, reaktivite ve patlayıcılık kimyasalların tehlikeli özellikleridir. Toksikite, kimyasalların genellikle en az tahmin edilebilen tehlikeli özelliğidir. Toksik kimyasallara maruz kalmak akut veya kronik sağlık etkilerine neden olabilir. Bir araştırma ortamında kullanılacak toksik kimyasalların genel sınıfları kanserojenler, alerjenler, asfiktanlar, korozifler, hepatotoksik maddeler, iritanlar, mutajenler, nefrotoksik maddeler, nörotoksik maddeler ve teratojenlerdir (Balkan & Balkan, 2013). Toksik maddelerle ilişkili sağlık riskleri hem kimyasalların doğal toksisitesine hem de bunlara maruz kalmanın niteliğine ve kapsamına bağlıdır. Hayvan bakım faaliyetleri, çalışanların maruz kalma potansiyelini ciddi şekilde etkileyebilir. Bu nedenle, araştırma hayvanlarının bakımı ve kullanımıyla ilişkili kimyasalların toksik tehlikelerinin fark

edilebilmesi ve kontrol altına alınabilmesi için çalışanların kimyasal maruziyetine neden olabilecek hayvan bakımı uygulamalarının dikkatle değerlendirilmesi gerekir (National Research Council, 1997; Thomann, 2003).

Araştırma hayvanlarının bakımı ve kullanımında tipik kimyasal maruziyet kaynakları dezenfektanlar, pestisitler, anestezi gazları ve dokuları korumak için kullanılan kimyasallardır. Kaynaklar, kasıtlı olarak yüksek derecede toksik kimyasallara maruz bırakılan hayvanları içerebilir. Bir diğer önemli kaynak ise deneysel prosedürlerden kaynaklanan yataklık ve diğer atık malzemelerin bertaraf edilmesidir (National Research Council, 1997; Thomann, 2003).

Dezenfektanlar ve deterjanlar arasında sabunlar, temizlik kimyasalları, asit içeren kimyasallar, alkoller (en yaygın olarak etanol ve izopropanol), aldehytlar (formaldehit ve glütaldehit dahil) ve halojenli maddeler (klorlu ve iyotlu ağartıcılar gibi) bulunmaktadır. Bazı fenolik bileşikler (potasyum o-fenilfenat ve potasyum o-benzil-p-klorofenat dahil) ve kuaterner amonyum bileşikler de dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Ingraham & Marotta Fleischer, 2003; Thomann, 2003)

Hayvan tesislerinde çeşitli pestisitler kullanılabilir, ancak çoğu hayvan tesisi hayvanlar üzerindeki potansiyel etkileri nedeniyle pestisit kullanımını kısıtlamaktadır. Koruyucu olarak kullanılan birincil kimyasal %10'luk nötr tamponlu çözelti olarak formalin olmakla birlikte, zaman zaman başka malzemeler de kullanılmaktadır (Arslan, et al, 2023). Dokuları korumak için kullanılan formaldehit ve glütaldehit gibi bazı kimyasallar hassas kişilerde alerjik tepkiye neden olabilir (Ahmadi-Noorbakhsh et al, 2021). Kanseri, spontan abortus ve karaciğer hastalığı da dahil olmak üzere çeşitli meslek hastalıkları atık anestezi gazlarına maruz kalma ile ilişkilendirilmiştir. Hayvan ameliyathanelerinde atık anestezi gazlarına maruziyetin izlenmesi, anestezi veren ekipmanın hayvanlara uygun hale getirilmesindeki zorluk nedeniyle sağlık ve güvenlik programının önemli bir parçasıdır. Yanıklar ve cilt tahrişi, hayvan bakımı ve kullanımıyla ilişkili en yaygın kimyasal yaralanmalardır. Kimyasal kullanımıyla ilişkili yaralanma ve hastalık riski, maruziyeti azaltan veya önleyen uygulamalarla en aza indirilebilir (Andersen & Winter, 2017).

GENEL HAYVAN BAKIMI VE KULLANIMIYLA İLİŞKİLİ KİMYASAL TEHLİKELER

Doku Fiksatifleri

Formaldehit ve glütaldehit sıklıkla doku fiksatifleri olarak kullanılır. Formaldehit'e fazla miktarda veya uzun süreli maruz kalmak kanserojen olarak

sınıflandırılmaktadır (Bajard et al, 2023). Çalışanların 15 dakikalık süre boyunca havada 2 ppm'yi aşan düzeyde formaldehit konsantrasyonuna maruz kalmamasını gerektirir (Thomann, 2003). Kanserojen potansiyeline ek olarak formaldehit, göze sıçraması halinde ciddi yaralanmalara ve kornea hasarına neden olabilir. Havadaki 0,1 ppm'yi aşan konsantrasyonlar gözlerde, burunda ve boğazda tahrişe neden olabilir. Daha yüksek düzeyde havadaki konsantrasyonu öksürüğe, dispne ve taşikardiye neden olabilir. Tahrişin şiddeti konsantrasyonlar arttıkça artar; 100 ppm ise yaşam ve sağlık açısından doğrudan tehlikelidir (Thomann, 2003). Ayrıca Formaldehite tekrar tekrar maruz kalmak bazı kişilerin duyarlılaşmasına da neden olabilir. Duyarlılık ilk maruziyetten günler, haftalar veya aylar sonra ortaya çıkabilir. Duyarlı bireyler, çoğu insanda asemptomatiktir ya da göz irritasyonu, üst solunum yolu irritasyonu ve astım atağına sebep olabilir. Merkezin havalandırma sisteminin olması, çalışanların gözlerini ve yüzlerini korumak için gözlük ve yüz siperliği takmaları ve kimyasallara dayanıklı eldiven giymeleri önemlidir (National Research Council, 1997; Thomann, 2003). Formaldehitin uçucu olma özelliği döküldüğü zaman artan şekilde önemli ölçüde artan risklidir. Dökülmenin temizlenmesi için özel solunum koruması ve diğer kişisel koruyucu ekipmanlar gereklidir ve bu işlem yalnızca özel eğitimli personel tarafından gerçekleştirilmelidir (Balkan & Balkan, 2013).

Korozif (Aşındırıcı) Maddeler (Kuvvetli Asitler ve Bazlar)

Kimyasal maddelerin temas yerindeki kimyasal etkiyle canlı dokuda görünür tahribat veya geri dönüşü olmayan değişikliklere neden olması korozif etki olarak tanımlanır (Hall et al, 2019). Korozif etkiye neden olan korozif maddeler katı, sıvı veya gaz şeklinde olabilir (Thomann, 2003). Korozif etkiler sadece ciltte ve gözlerde değil aynı zamanda solunum yollarında ve yutulması durumunda gastrointestinal sistemde de meydana gelebilir. Bu maddelere hem laboratuvarında hem de hayvan bakım ortamında yaygın olarak rastlanır (Hall et al, 2019). Brom, sülfürik asit, fosforik asit, sulu sodyum hidroksit çözeltisi ve hidrojen peroksit korozif sıvılara örnek olarak verilebilir. Sodyum hidroksit ve fenol korozif katılardır. Klor, amonyak ve nitrojen dioksit, hayvan araştırma ortamında karşılaşılabilecek korozif gazlardan bazılarıdır (Thomann, 2003).

Korozif maddelerin kullanımını içerecek işler planlanırken, korozyona dayanıklı eldivenler, koruyucu giysiler ve gözlüklerin uygun seçimiyle cildin, yüz kalkanları ile yüzün ve gözlerin yeterince korunmasını sağlanmalıdır. Buna ek olarak, çalışanların korozif maddelere maruz kalabileceği durumlarda işverenlerin, gözlerin ve vücudun hızlı bir şekilde ıslatılması veya yıkanması için uygun olanaklar sağlaması önemlidir (Thomann, 2003; Villano et al, 2017).

Ötenazi Kimyasalları

Ötenazi amacıyla kullanılan yöntemlerin taşıdığı çeşitli riskler nedeniyle personel güvenliğinin sağlanması oldukça önemlidir (Epp & Waldner, 2012; Valentim et al, 2016). Ötenazi maddesi olarak kullanılan inhalanların çoğu, patlama riski (örn. eter), narkoz (örn. halotan), hipoksemi (örn. nitroz oksit ve karbondioksit), bağımlılık (örn. nitroz oksit) riski veya kronik maruziyetten kaynaklanan sağlık etkileri (örn. nitroz oksit ve karbon monoksit) nedeniyle personel için son derece tehlikelidir. Potansiyel maruziyetleri kontrol etmek için yeterli yerel havalandırma kontrolü uygulanmalıdır. Ötenazi için kullanılan, uçucu olmayan farmasötik ajanlar, perkütanöz veya temasla maruz kalma riski taşır ve bu tekniği uygulayan personelin eğitimi, bilgisi ve yetkin olması önemlidir (Thomann, 2003).

Deneyel Protokollerle İlişkili Tehlikeler

Deney protokolleriyle ilişkili tehlikeler deneysel ajanın tehlikeli nitelikleri ve deneysel prosedürlerin karmaşıklığı ve türünden etkilenir (Barkley & Richardson, 1984). Örneğin, yutma çalışmaları için bir test kimyasalının yeme dahil edilmesi sırasında, karıştırma ve diyetin aktarılması sırasında oluşan kontamine toz, solunum veya deri yoluyla maruziyetle sonuçlanabilir. Deney hayvanlarının derisine uygulanan test materyali, hayvanlara dokunulması, saçlarının kesilmesi, yatakların değiştirilmesi veya hayvan odasının zemininin süpürülmesi yoluyla yayılabilir. Buharlar, test malzemelerinin cilde uygulanması sırasında potansiyel maruz kalma kaynaklarıdır. Bir hayvanın enjeksiyon yoluyla bir ajana maruz bırakılması, kazara kendi kendine aşılama riski yaratır. Solunum zorlukları özellikle tehlikelidir ve yalnızca uygun deneyime ve koruyucu ekipmana sahip araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmelidir.

Atık Anestezi Gazları

İnhalasyon anesteziikleri (eter, halotan, metoksifluran, izofluran, nitroz oksit gibi) insan sağlığı açısından çok tehlikelidir. Eser miktarda inhalasyon anesteziik ajanlara maruz kalınması bile gebeliğin erken evrelerinde spontan düşük ve konjenital anomaliler ile ilişkilendirilmiştir. Üstelik, yüksek düzeyde temizlenmemiş atık anesteziik gazların, maruz kalan bireyler üzerinde olumsuz nörolojik etkiler veya üreme riskleri veya onların yavrularında gelişimsel anormallikler potansiyeli oluşturduğu endişesini artıran biyolojik bir olasılık vardır. Atık anesteziik gazlara mesleki maruziyetin azaltılması konusunda gerekli önlemlerin merkez tarafından alınması gerekmektedir. Sızıntıları önlemek için anestezi ekipmanının kullanımı, hayvan için en uygun boyuttaki endotrakeal tüpün seçilmesi, uygun temizleme yönteminin kullanılması ve anesteziik gazların

kaçak emisyonlarını en aza indirmek için prosedür boyunca dikkatli olunması bu önlemler arasında yer alır (Stimpfel & Gershey, 1991; Thomann, 2003).

Tehlikeli İlaçlar

Genotoksisite, kanserojenlik, teratojenite veya infertilite, deney hayvanlarında veya tedavi edilen hastalarda düşük dozlarda ciddi organ veya toksik belirtiler yapan ilaçlar tehlikeli ilaçlar olarak tanımlanmaktadır (Lunn & Sansone, 2023; Saganuwan, 2017; Thomann, 2003). Tehlikeli ilaçların toksisitesi ve etkinliğine ilişkin verilerin çoğu hayvan araştırmalarından elde edilmektedir ve bu tür araştırmalar için özel önlemler gerekmektedir (Saganuwan, 2017; Thomann, 2003; Van Norman, 2019).

Dezenfektanlar ve Sterilantlar

Dezenfektanlar ve sterilantlar, cansız yüzeylerdeki belirli patojenik mikroorganizmaları yok etmek veya geri dönülemez şekilde etkisiz hale getirmek için tasarlanmış ajanlardır. Hayvan bakımında birçok farklı sınıftan dezenfektan ve sterilant kullanılmaktadır (Jones et al, 2014; National Research Council, 1997; Thomann, 2003). Bu toksik bileşiklerin her birinin belirli potansiyel sağlık etkileri, güvenli kullanım için standartları ve önerileri, önerilen çevresel izleme ve maruziyet kontrol yöntemleri vardır. Bir dezenfektan veya sterilantın kullanımdan önce seyreltilmesi veya etkinleştirilmesi gerektiğinde son derece dikkatli olmak gerekmektedir (Jones et al, 2014). Konsantre maddeler, rutin işlemlerde kullanılan "kullanım-seyreltme" konsantrasyonundan daha toksik, korozif veya tahriş edicidir. Konsantre ürünün kullanımı kişisel koruyucu ekipman veya özel uygulamaları gerektirebilir (Thomann, 2003).

Glutaraldehit genellikle ısıya duyarlı ekipmanlar için yüksek seviyeli dezenfektan olarak kullanılır (Jones et al, 2014). Aynı zamanda histoloji ve patoloji laboratuvarlarında doku fiksasyonunda ve x-ışınlarının geliştirilmesinde sertleştirici ajan olarak da kullanılır. Glutaraldehite maruz kalma, boğaz ve akciğer irritasyonu, astım ve astım benzeri semptomlar, burun irritasyonu, hapşırma, hırıltılı solunum, burun kanaması, gözlerde yanma, döküntüler, ellerde lekelenme ve diğer semptomlar dahil olmak üzere hem akut hem de kronik semptomlara neden olabilir. Glutaraldehit solüsyonlarının hazırlanması veya aktive edilmesi, ekipmanın dezenfekte edilmesi, dokuların fiksasyonu veya röntgen filmlerinin işlenmesi sırasında solunması veya cilt teması sonucu bu kimyasala maruz kalınabilir. Glutaraldehit asla çevresel yüzeylerin genel dezenfeksiyonu/dekontaminasyonu amacıyla kullanılmamalıdır. Glutaraldehit kullanımında kontrol önlemleri arasında havalandırma, cilt temasını önlemek için

eldiven, gözlük veya yüz siperi ve önlük kullanmak ve tüm kapların kapatılması yer alır (National Research Council, 1997; Thomann, 2003).

Kimyasal Tehlikelerin Yönetimi

Deney hayvanları araştırma merkezlerinde araştırmacıların ve merkez çalışanlarının çok çeşitli amaçlarla kullanılan kimyasal maddelere maruziyetinin önlenmesi için alınacak önlemleri genel olarak şu şekilde sıralanabilir (Akins et al, 2005; Fontes, 2008; Jones et al, 2014; Lilienblum et al, 2008; National Research Council, 1997; Thomann, 2003; Villano et al, 2017);

- Mühendislik kontrollerinin (kimyasal duman davlumbazı kurulmasını, iş süreçlerinin tehlikeden izole edilmesini sağlayan bariyerler yapılması gibi) yapılması,

- İdari kontroller ve çalışma uygulamalarının planlanması, tehlikelerin mevcut olup olmadığını veya mevcut olma ihtimalinin olup olmadığını belirlemek için işyerini değerlendirmesi

- Araştırma ve hayvan bakım personelinin eğitiminin sağlanması (mevcut riskler, koruyucu kişisel ekipmanların kullanımı, uygulama prosedürleri gibi.)

-Kişisel koruyucu ekipmanların merkezde yeterli çeşit ve oranda mevcut olması (göz ve yüz koruyucular, eldivenler, koruyucu giysiler, maske gibi solunumsal koruyucu ekipmanlar, koruyucu ayakkabılar gibi.)

-Konu ile ilgili rehberlerin takip edilmesi ve önerilerin uygulanması.

Laboratuvar araştırmalarıyla ilişkili tehlikeler hayvan tesisi bağlamında ele alındığında, güvenli ve sağlıklı bir işyeri elde etmek için farklı stratejiler uygun olabilir. Araştırma tehlikeleri hakkında daha az bilgi sahibi olabilecek yeni bir grup çalışan, laboratuvardan oldukça farklı koşullar altında potansiyel olarak tehlikeli deneysel ajanlara maruz kalabilir. Bu nedenle araştırma hayvanlarının bakımını yapan ve kullanan çalışanların sağlık ve güvenliğinin korunması konusunun son derece önemlidir. Bu konuda merkezlerin gereken tedbirleri alması önemli bir sorumluluktur.

SONUÇ

Araştırma hayvanlarının bakımını yapan ve kullanan kurumların hayvanların sağlığını ve refahını koruma yükümlülüğü konusunda birçok detay yasal mevzuatla düzenlenerek güvence altına alınmıştır. Ancak, kurum çalışanlarının mesleki sağlık risklerinin en aza indirilmesinde düzenlemelere halen gereksinim vardır. Mesleki güvenlik ve sağlık hususları, programın veya tesisin büyüklüğünden bağımsız olarak hayvan bakımı ve kullanım programı

yönetiminin temel kaygılarıdır. İlgili güvenlik ve sağlık kaygılarını uygun şekilde ele almak için, tehlike tanımlama konusunda ortak bir çaba sarf edilmelidir. Ekip yaklaşımı, personelin mevcut olabilecek tehlikeleri, uygulanabilecek düzenlemeleri ve politikaları, gerekli destek ve eğitimi ve seçilen ve uygulanan müdahaleleri veya hafifletme stratejilerini etkileyebilecek kurumsal politika ve yükümlülükleri tam olarak anlamasına yardımcı olabilir. Tüm personelin güvenliğini, sağlığını ve refahını koruyan bir programın genel olarak tasarlanması ve yürütülmesi gereklidir. Güvenli bir çalışma ortamının oluşturulması, çalışma ortamında kullanılan tesis ve ekipmanların fiziksel özellikleriyle başlar. Hayvan tesisindeki tehlikelerin kontrolüne yönelik mühendislik kontrollerine ek olarak, idari kontroller de tehlike kontrolüne yönelik bir başka etkili tekniktir. Eğitim ve denetimle sağlanan bilinçli tutumlar tüm bu risklere bağlı hastalık ve sakatlıkların önüne geçecektir (Schmitt et al, 2017).

KAYNAKLAR

- Ahmadi-Noorbakhsh, S., Mirabzadeh Ardakani, E., Sadighi, J., Alvavood, S. J., Farajli Abbasi, M., Farzad-Mohajeri, S., ... & Shamsi Gooshki, E. (2021). Guideline for the care and use of laboratory animals in Iran. *Lab animal*, 50(11), 303-305.
- Akins, C.K., Panicker, S.E., & Cunningham, C.L. (2005). *Laboratory animals in research and teaching: Ethics, care, and methods*. American Psychological Association.
- Andersen, M.L., & Winter, L.M. (2017). Animal models in biological and biomedical research-experimental and ethical concerns. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91, e20170238.
- Arslan, M., Anadol, E., & Özer, A. (Eds.). (2023). *Bilimsel Araştırmalarda Laboratuvar Hayvanları & Deneysel Modeller*. Akademisyen Kitabevi.
- Bajard, L., Adamovsky, O., Audouze, K., Baken, K., Barouki, R., Beltman, J. B., ... & Blaha, L. (2023). Application of AOPs to assist regulatory assessment of chemical risks—Case studies, needs and recommendations. *Environmental Research*, 217, 114650.
- Balkan, A., & Balkan, M. (2013). Hayvan Çalışmalarında Etik, Laboratuvar Standardizasyonu ve Hayvan Bakımı ile İlgili Yasal Zorunluluklar, *Türk Toraks Dergisi*, 14,(6): 6-9.
- Barkley, W.E., & J.H. Richardson. (1984). *The control of biohazards associated with the use of experimental animals*. Orlando: Academic Press.
- Epp, T., & Waldner, C. (2012). Occupational health hazards in veterinary medicine: physical, psychological, and chemical hazards. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(2), 151.

- Fontes, B. (2008). Institutional responsibilities in contamination control for research animals and in occupational health and safety for animal handlers. *ILAR journal*, 49(3), 326-337.
- Hall, A.H., Jacquemin, D., Henny, D., Mathieu, L., Josset, P., & Meyer, B. (2019). Corrosive substances ingestion: a review. *Critical reviews in toxicology*, 49(8), 637-669.
- Jones, M., Schofield, S., Jeal, H., & Cullinan, P. (2014). Respiratory protective equipment reduces occurrence of sensitization to laboratory animals. *Occupational medicine*, 64(2), 104-108.
- Lilienblum, W., Dekant, W., Foth, H., Gebel, T., Hengstler, J.G., Kahl, R., ... & Wollin, K.M. (2008). Alternative methods to safety studies in experimental animals: role in the risk assessment of chemicals under the new European Chemicals Legislation (REACH). *Archives of toxicology*, 82, 211-236.
- Lunn, G., & Sansone, E.B. (2023). *Destruction of hazardous chemicals in the laboratory*. John Wiley & Sons.
- National Research Council. (1997). *Occupational health and safety in the care and use of research animals*. National Academies Press.
- Saganuwan, S.A. (2017). Toxicity studies of drugs and chemicals in animals: an overview. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 20(4).
- Schmitt, J.M., Wilson, D.E., & Raber, J. M. (2017). Occupational safety and health. Management of animal care and use programs in research, education, and testing, 279-318.
- Stimpfel, T.M., & Gershey, E.L. (1991). Selecting anesthetic agents for human safety and animal recovery surgery. *The FASEB Journal*, 5(7), 2099-2104.
- Thomann, W.R. (2003). Chemical safety in animal care, use, and research. *ILAR Journal*, 44(1), 13-19.
- Valentim, A.M., Guedes, S.R., Pereira, A.M., & Antunes, L.M. (2016). Euthanasia using gaseous agents in laboratory rodents. *Laboratory Animals*, 50(4), 241-253.
- Van Norman, G.A. (2019). Limitations of animal studies for predicting toxicity in clinical trials: is it time to rethink our current approach?. *JACC: Basic to Translational Science*, 4(7), 845-854.
- Villano, J.S., Follo, J.M., Chappell, M.G., & Collins Jr, M.T. (2017). Personal protective equipment in animal research. *Comparative Medicine*, 67(3), 203-214.

BÖLÜM 23

YARA İYİLEŞMESİNDE DOĞAL BİYOPOLİMERLER

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin YILDIZ¹

¹ Sakarya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
Orcid: 0000-0003-2855-0496

Giriş

Doku bütünlüğünün bozulmasına yara denir. İnsanoğlu yaşamı boyunca çeşitli yaralar ile karşılaşır. Bu yaralar basit yaralar olabileceği gibi kronik yaralar da olabilir. Dünyada nüfusun % 1-1,5'i akut ve kronik yara problemi yaşamaktadır (Yücel, Terzioğlu ve Göker, 2022).

Yara iyileşmesi, hasarlı dokuların onarımı için yürütülen doğal bir süreçtir. Hasar görmüş dokunun onarımı amacıyla gerçekleşen hücresel faaliyetler sonucunda bu süreç dokunun iyileşmesi ile tamamlanır. Bu süreçte iyileşme için kullanılacak malzemelerin bazı özelliklere sahip olması beklenir. Bu özelliklerin içerisinde en kritik olanlar ise, malzemenin biyoyoumlu ve toksik olmamasıdır (Sezer ve diğerleri, 2019).

Yara tedavisi sırasında kullanılan malzeme, yara çevresinde nemli bir ortam oluşturmalıdır (Kurtoğlu ve Karataş, 2009). Aynı zamanda da yaradan salgılanan sıvıları emebilme yeteneğine sahip olması beklenir. Bunun içinde malzemelerin su tutma kapasitelerinin fazla olması gerekir (Gregory ve diğerleri, 2021).

Doğal kaynaklardan üretilmiş olan malzemeler, biyomalzeme olarak sıklıkla yara iyileştirmede kullanılır (Sinem Uğur ve diğerleri, 2022). Biyopolimerler de, yara iyileşmesi için uygun ortamı yaratacak özelliklere sahip malzemeler arasındadır. Bu özellikler nem, anjiyogenez, antimikrobiyal, hücre proliferasyonu, granülasyon, epitelizasyon, immünojenik, yapısal dayanıklılık ve stabilite gibi biyomoleküler özellikleridir. Günümüzde akut ve kronik yaraların tedavisinde oldukça etkili malzemeler olarak selüloz, aljinat, kondroitin sülfat (CS), hialüronik asit (HA), kollajen, vb. gibi çeşitli biyopolimerler kullanılmaktadır (Arif ve diğerleri, 2021).

Polilaktik asit (PLA), kitin, kitosan veya fibrin, kolajenler, poliglikolik asit (PGA), poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), poli (hidroksil alkanoatlar) (PHA'lar) ise doku mühendisliği ve yara iyileştirme uygulamaları için kullanılan farklı biyobazlı malzemeler arasında yer alırlar (Biswal, 2021).

Yara örtülerinden en sık kullanılanları; aljinat örtüleri, poliüretan filmler, hidrojel örtüler, hidrokolooid örtüleri ve köpüklerdir (Mutlu ve Yılmaz, 2019). Doğal kaynaklı polimerler ise; kitin/kitosan, kollajen, aljinik asit, hialuronik asit, fukoidan, poly-n-asetil glukozamindir (Bahar-Üner, 2021).

Yara iyileşmesini sağlamak ve dokunun eski haline dönmesini hızlandırmak için geçmişte de günümüzde de yaranın üzeri örtülmüştür. Geçmişte bu işlem gazlı bez, pamuk ile yapılırken günümüzde yara örtüleri geliştirilmiştir (Yücel ve diğerleri, 2022).

Bu inceleme yara örtüsü olarak kullanılan doğal biyopolimerlerle ele alınacaktır.

Yara örtüsünün özellikleri

İdeal bir yara örtüsü şu özelliklere sahip olmalıdır:

- Yaranın ve çevresinin nemli kalmasını sağlamalı,
- Havanın geçişine engel olmamalı,
- Fazla eksudayı uzaklaştırabilmeli,
- Yarayı yabancı maddelerden ve mikroorganizmalardan korumalı,
- Yarayı mekanik olarak korumayabilmeli,
- Esnekliği olmalı, vücudun hareketlerine uyum sağlayabilmeli,
- Kolay uygulanabilmeli,
- Biyouyumluluk, biyobozunurluluk özelliği olmalı,
- Toksik ve alerjen olmamalı,
- Hastaya konfor sunmalı, ağrıyı azaltmalı,
- Yaralı bölgenin ısını korumalı,
- Yaraya yapışmamalı,
- Yaradaki kötü kokuyu emmeli (Yücel ve diğerleri, 2022; Öztaş, 2021).

Doğal biyopolimerler

Aljinatlar, yara örtü malzemelerinde oldukça fazla uygulama alanı bulunan biyopolimerlerdendir. Bunun nedeni, hidrosil, karboksil fonksiyonel grupları içermeleri nedeniyle kolay işlenebilir olmalarıdır. Aljinatlar eşsiz özelliklere sahip olmaları nedeniyle yara örtülerinin üretimi ve doku mühendisliğinde ideal materyaller arasında yer alır (Kurtoğlu ve Karataş, 2009; Acuner, 2023).

- Yara iyileşmesinde elzem olan yara ortamının nemli kalmasını sağlar.
- Enfeksiyon gelişimini kısıtlayacak jeller oluşturur ve jeller yaranın ideal nem ve sıcaklıkta kalmasını sağlar. (Kurtoğlu ve Karataş, 2009).
- “Nemli iyileştirici” olarak tanımlanır (Kurtoğlu ve Karataş, 2009).
- Epitelizasyon ve granül dokusunun oluşumunu destekler (Acuner, 2023).

Aljinata kalsiyum ve çinko iyonları ilavesi ile sırası ile yara üzerinde farmakolojik aktiviteye ve kanamayı dindirme özelliğine de sahip olabilen yara örtüleri elde edilmiştir (Kurtoğlu ve Karataş, 2009).

Aljinattan elde edilen yara örtülerinde nem ihtiyacı olduğu için kuru ve nekrotik doku ile kaplanmış yaralarda kullanımı tercih edilmemelidir. Kullanımı

durumunda yarayı nemsiz bırakarak iyileşmeyi olumsuz etkileyebilirler (Boateng ve diğerleri, 2007).

Doğal fizikokimyasal karakteri nedeniyle selüloz da yara iyileşmesindeki araştırmalarda önemli yere sahiptir (Gregory ve diğerleri, 2021). Bitkisel kaynaklı selülozla kıyaslandığında bakteriyel selüloz medikal uygulamalarda daha fazla tercih edilir. Bunun sebebi, bakteriyel selülozun daha yüksek saflık, daha güçlü biyolojik adaptasyon, daha yüksek kristallik vb. özelliklere sahip olmasıdır. Mikrofibrieller yapısı, yüksek su tutma kapasitesi, yüksek gerilme mukavemeti ve yüksek gözenekliliği nedeniyle, yara örtüsü malzemesi olarak da kullanılır (Çalman, 2021).

Kondroitin Sülfat (CS), anti-enflamatuar, antioksidan, anti-tümör, antikoagülan ve antitrombojenik aktivitelere sahip bir biyopolimerdir. CS, hidrofilik bir biyopolimer olması nedeniyle beklenen mekanik stabiliteye sahip değildir. Farklı polimerlerle birlikte kullanılarak bu eksikliği giderilir. Toksisitesinin düşüklüğü, biyobozunur ve biyouyumlu olması gibi özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda dikkat çekici malzemeler arasındadır (Acuner, 2023).

Yine ipek temelli biyomalzemeler inflamatuvar tepkileri ve hücre çoğalmasını destekleme yeteneğine sahip fibröz bir protein olması nedeniyle biyomedikal uygulama alanı olan bir doğal polimerdir (Yücel ve diğerleri, 2022).

Yara örtülerinde kullanılan doğal polimerlerden biri olan hiyalüronik asit (HA), bir mukopolisakkarittir. Doku onarımına ve yara iyileşme hızına etki ederek iyileşmeyi hızlandırır ve mikroorganizmaların bakteriyostatik etkisine karşı dokuyu korurlar (Bahar-Üner, 2021). Kitosan ile birlikte hyaluronik asitten oluşturulan kompozitlerin yara iyileştirmede etkili ve ekonomik olduğu tespit edilmiştir (Xu, Ma, Shi, Gao ve Han, 2007).

Kitosan da bir lineer bir polisakkarit yapısında bir polimerdir. Yara tedavisinde antifungal, bakterisidal özelliğe ve oksijen geçirgenliğine sahip olması nedeniyle kullanılır. Bununla birlikte, düşük toksisiteye, biyobozunurluluğa ve biyouyumluluğa sahip olan kitosana biyomedikal uygulamalarda ilgi fazladır. Hidrojel, fiber, membran, scaffold ve sünger gibi farklı formlarda hazırlanan kitosan formları mevcuttur. Bu formlardan membran formuna aljinat, hiyaluronik asit, polietilen glikol diakrilat, polivinil-alkol, γ -poli (glutamik asit) ve 2-hidroksietil metakrilat gibi polimerlerin ilavesi ile yara iyileştirme özelliği artırılır (Bahar-Üner, 2021).

Fukoidan ise deniz yosunlarından elde edilen bir polisakkarittir. Non-toksik, biyoyumlu ve biyobozunurdur. Bunlara ilaveten, antioksidan, antikoagulan, antikanser, antiviral, antialerjik ve antiinflamatuvar etkilere de sahip olması nedeniyle biyomedikal olarak kullanımı geniştir (Yünkül, 2019).

Biyobozunur ve biyoyumlu olan bir diğer protein kollajendir. Bağ dokuda bolca bulunur. Kitosan ile birlikte kollajenden oluşan membranlar da yara iyileştirmesinde kullanılır. Günümüzde ise kollajen, dermal enfeksiyon, yara örtüleri, catgut (dikiş ipliği), kollajen köpükler gibi çeşitli formlarda biyomedikal uygulamalarda kullanılır (Bahar-Üner, 2021).

Hidrokoloidal örtüler ise; jelatin, pektin, karboksimetilselüloz gibi maddelerden oluşur. Bu örtüler bakterileri geçirmezken, su buharını geçirirler. Genellikle pediyatrik yara bakımı için tavsiye edilen yara örtüleridir. Yara sızıntısı ile temas ederse jel oluşturur. (Yücel ve diğerleri, 2022). Bakterilere karşı bariyer oluşturabilen örtülerdir. Dış yüzeyleri nemli ortama yapışırken, iç yüzeyleri sıvıyı emer. Uygulanmaları kolaydır. Yaraya yapışmazlar fakat çevre dokuya yapışırlar (Pınar, 2021).

Poli-N-Asetil Glikozamin, su mikroalglerinden elde edilir. Hemostatik etkiye sahiptir. Yara tedavilerinde destek malzeme olarak kullanılır (Bahar-Üner, 2021).

Sonuç

Biyopolimerlerin modern yara örtülerinde kullanımı ve bu biyopolimerlerin çeşitliliği her geçen gün artmaktadır.

Yara yüzeyini koruyan ve iyileştirmeyi hızlandıran biyopolimerlerle ilgili yeni araştırmalar ve kompozit malzemeler çeşitliliği arttırmaya devam edecektir ve sonuç olarak yeni tedavi seçeneklerini sunacaktır.

Kaynaklar

Acuner, A. (2023). *Diyabetik Yara İyileşmesinde Kullanılmak Üzere Geliştirilen Çok Katmanlı Akıllı Yara Örtüsü* [Yüksek Lisans Tezi] Başkent Üniversitesi, Ankara.

Arif, M. M., Khan, S. M., Gull, N., Tabish, T. A., Zia, S., Khan, R. U., Awais, S. M., Butt, A. M. (2021). Polymer-based biomaterials for chronic wound management: Promises and challenges. *International Journal of Pharmaceutics*, 598, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120270>.

- Bahar-Üner, D. (2021). Yara İyileştirme Özellikli Polimerlerin Yara Örtülerinde Kullanımı. *IGUSABDER*, 13, 157-181. <https://doi.org/10.38079/igusabder.857250>.
- Boateng, J.S., Matthew, S. K.H., Stevens, H.N.E., Eccleston, G.M. (2007). Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97 (8), 2892-2923 .
- Çalman, F. (2021). *Deri Hastalıklarında Kullanılmak Üzere Bakteriyel Selüloz-Biyopolimer Karışımlarının Geliştirilmesi* [Yüksek Lisans Tezi] Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- Gregory, D. A., Tripathi, L., Fricker, A. T. R., Asare, E., Orlando, I., Raghavendran, V., ve Roy, I. (2021). Bacterial cellulose: A smart biomaterial with diverse applications. *Materials Science & Engineering R*, 145,100623.
- Kurtoğlu, A. H., Karataş, A. (2009). Yara Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar: Modern Yara Örtüleri, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 38 (3), 211-232.
- Mutlu, S.,Yılmaz, E. (2019), Yara Yönetiminde Güncel Yaklaşımlar, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(4), 481 – 494.
- Öztaş, P., (2021). Yara İyileşmesi, Bakımı ve Tedavisi, *Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi Dergisi*, 54 (2), 341-351. DOI: 10.20492/aeahtd.931499.
- Sezer, S., Şahin, İ., Öztürk, K., Şanko, V., Koçer, Z., ve Sezer, Ü. A. (2019). CelluloseBased Hydrogels as Biomaterials. Md. I. H. Mondal (ed.), *Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels, Polymers and Polymeric Composites: A Reference Series*. Springer Nature Switzerland AG.
- Uğur, S., Uğurlu, E., Saygılı, E.İ., Duysak, Ö., Sayın, S. (2022). Aljinatın biyomedikal alanlarda kullanımı, *Marine and Life Sciences*, 4(1), 91-99. DOI: 10.51756/marlife.1084547.
- Xu H, Ma L, Shi H, Gao C, Han C. (2007). Chitosan–Hyaluronic acid hybrid film as a novel wound dressing: in vitro and in vivo studies. *Polymers for Advanced Technologies*.18, 869–875. doi: 10.1002/Pat.906.
- Yücel, S. Terzioğlu, P. Göker, İ. (Ed.) (2022). *Biyomalzemeler*, Nobel Yayımcılık.
- Yünkül, F. (2019). *Vankomisin İçeren Fukoidan-Kitozan Temelli Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması ve İn Vitro Karakterizasyonu* [Yüksek Lisans Tezi] Marmara Üniversitesi, İstanbul.

BÖLÜM 24

BİYOMEDİKAL UYGULAMALARDA POLİÜRETANLAR

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin YILDIZ¹

¹ Sakarya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
Orcid: 0000-0003-2855-0496

Giriş

Biyomalzemeler, organ veya doku işlevlerinin yerini doldurmak, iyileştirmek, desteklemek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, organ ve dokulara hasar vermeyecek doğal veya sentetik malzeme ve malzemelerin bileşimleridir. (Pasinli,2014; Çırak ve Yakıncı, 2020). İşlevleri nedeniyle vücut ile sürekli temas ve etkileşim halinde olan malzemelerdir (Yücel, Terzioğlu ve Göker, 2022).

Biyomalzemelerde malzeme tasarımında ve uygulanmasında en elzem ihtiyaç malzemenin biyouyumlu olmasıdır. Malzemenin kullanımı süresince biyouyumlu olarak tanımlanması için;

- vücutla uyumlu,
- temas ettiği doku ve organların normal fonksiyonlarına engel teşkil etmeyen,
- istenilen işlevleri yaparken vücut sistemine uygun cevap verebilen
- tüm sayılan işlemleri yaparken iltihap oluşturmama kabiliyetine sahip olabilmesi gerekmektedir (Yücel ve diğerleri 2022).

Biyomalzemeler kaynakları bakımından metal, seramik, polimer ve kompozit olarak ayrılmaktadırlar. (Pasinli,2014).

Bu bölümde polimerik biyomalzemeler alanında yaygın olarak kullanılan poliüretan ve uygulama alanları ele alınmaktadır.

Poliüretan ilk kez 1937 yılında Dr. Otto Bayer tarafından üretilen bir polimerdir. (Gültekin, 2006).

Bu keşif, PU'nın II. Dünya Savaşı sırasında özellikle askeri teçhizat ve silahlar için yapıştırıcı, köpük ve elyaf olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır (Wendels ve Av'eros, 2021).

1938'de Du Pont tarafından heksametilen diamin ve adipik asit ile üretilen bir polimer olan Naylon 6,6'nın patenti alınmıştır. Bu polimerden elyaf üretilmesi ve mekanik özelliklerinin iyi olması tekstil endüstrisinde ticari olarak başarılı bir şekilde kullanılabilmesine imkan sağlamıştır.

Otto Bayer, naylonların ticari başarısı ile yarışabilecek malzemeler yapan araştırmalar gerçekleştirmiştir. Otto Bayer'in liderliğini yaptığı araştırmalarında iki işlevli aminler ve izosiyanatların reaksiyonu yoluyla poliüretanlar üretmişlerdir. Daha sonraki çalışmalarında ise, dioller ve diizosiyanatların reaksiyonundan elde edilen polimerler üzerine araştırmalar yapmışlardır. (Wienen, Gries, Cooper ve Heath, 2023).

II. Dünya Savaşının sonunda PU'lar, başta yapıştırıcılar, elastomerler veya kaplamalar olmak üzere diğer uygulama türleri için endüstriyel düzeyde üretilmeye başlamıştır. PU köpüklerin, özellikle de esnek köpüklerin ticari üretimi ancak 1950'li yıllarda başlamıştır. (Wendels ve Av'erous, 2021).

1960-1970'lerde geliştirilen poliüretan iyi biyouyumluluğu ve mekanik özellikleri nedeniyle uzun süreli uygulamalar için elzem olan biyolojik dayanıklılığı sağlayan bir polimerik biyomalzeme olmuştur. 1980'lere geldiğinde Utah Üniversitesi tarafından geliştirilen poliüretan kalp, biyomalzeme teknolojisinin en yüksek teknik başarılarından biri olarak gösterilmiştir. Bu kalbin tam dolaşım desteğini 620 gün boyunca sağladığı belirtilmiştir. Daha sonraki dönemlerde polimerik biyomalzemelerin canlı hücrelerle oluşturulan hibritleri ile yapay doku ve organların üretilmesi ile ilgili çalışmalar ön plana çıkmıştır. Bu çalışmalarda termoplastik PU'lar, yüksek gerilme mukavemetleri, döngüsel yorgunluğa karşı dirençleri ve arzu edilen hemodinamik özelliklerinden dolayı yapay kalp kapakçıkları olarak önerilmiş olsa da; bu uygulamalarda bozunma ve kireçlenme nedeniyle bu cihazların arızalanmasına neden olmaları söz konusu olmuştur (Guan ve diğerleri, 2016; Bernacca, Mackay, Wilkinson ve Wheatley 1995; Hilbert, Ferrans, Tomita, Eidbo ve Jones 1987).

PU'lara polidimetilsiloksan (PDMS) ilavesi ile kalsifikasyona karşı direnç kazandıran çalışmalar ile potansiyel olarak yeni ürünlerin de önünü açan gelişmeler de mevcuttur (Al Kayal ve diğerleri, 2022).

Günümüzde PU'lar aşınmaya karşı dayanıklılıkları, kimyasallara, çözücülere ve yağa karşı yüksek dirençleri ve diğer faydalı fizikokimyasal özellikleri sayesinde ayakkabılar; otomotiv endüstrisi; tıbbi uygulamalarda dahil olmak üzere yaygın olarak kullanılan bir malzeme sınıfıdır (Wienen, Gries, Cooper ve Heath, 2023).

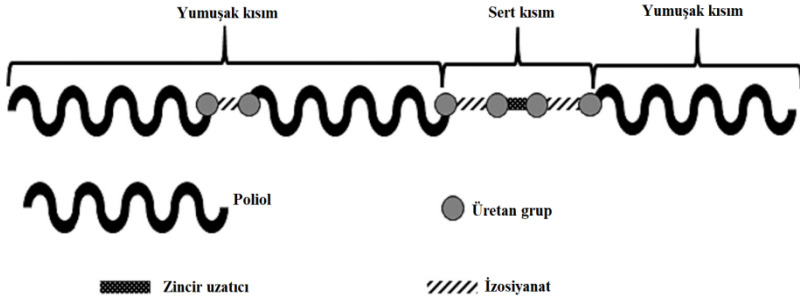
Son zamanlarda ise; polimerik biyomalzemelerin kolay modifiye edilebilmesi avantajından da yararlanılarak yeni yaklaşımlar ve araştırmalar ile dokunun işlevini yerine getirebilmenin yanı sıra hücre ile etkileşimleri kontrol edilebilen biyomalzemeler üretilmesi mümkün olmaktadır. Bu yeni yaklaşımların insan sağlığını korumaya ve sürdürmeye olanak sağlayacağı düşünülmektedir (Yücel ve diğerleri, 2022).

Poliüretanların kullanım alanları

Poliüretanlar modern dünyada boya sanayinden tıba kadar çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Poliüretanın aşınmaya karşı dayanıklılığı,

kimyasallara, çözücülere ve yağa karşı yüksek direnci gibi yapısal özellikleri bu kadar geniş bir alanda kullanılmasına olanak vermektedir. Sentezlenirken hammaddelerde istenilen değişiklikler yapılabilmesi; hedef alana göre mekanik ve fiziksel özellikleri arzu edildiği gibi malzemelerin eldesine imkan vermektedir (Gültekin, 2006).

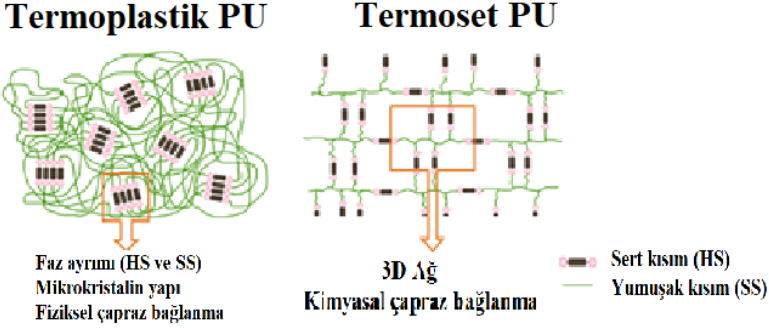
Poliüretanların ana zinciri hem sert hem de yumuşak bölümler içermektedir. Bu durum onun bazı polimer özelliklerini etkilemektedir (Şekil 1). Sert bölümleri (diizosiyanat ve zincir uzatıcı) polimerin kristalliğini (mekanik ve bozunma özelliklerini) etkilerken, yumuşak bölümleri (polioller) ise polimerin biyobozunurluğu üzerine etki etmektedir (Yücel ve diğerleri 2022; Arif ve diğerleri, 2021).



Şekil 1. Poliüretanların kimyasal yapısının şeması (Wienen, Gries, Cooper ve Heath, 2023).

Şekil 1’de yumuşak kısım poliester veya polieter gibi poliollerden oluşmakta iken, sert kısım izosiyanat ve zincir uzatıcıdan oluşmaktadır. Sert kısmın camısı geçiş sıcaklığı yumuşak kısma göre daha yüksektir. Yumuşak kısmın camısı geçiş sıcaklığının düşük olması yapıya esneklik kazandırmaktadır (Gültekin, 2006).

Poliüretanlar termoset ve termoplastik poliüretan olarak ayrılmaktadır ve bu iki yapı arasındaki farklılık Şekil 2’de görülmektedir (Wendels ve Av’erous, 2021).



Şekil 2. Bir TPU ve bir termoset PU'nun şematik gösterimi. (Wendels ve Av'eros, 2021).

Üretan fonksiyonları arasındaki hidrojen bağı formundaki PU zincirleri arasındaki fiziksel etkileşimlerden kaynaklanan bir organize alanlara (sert ve yumuşak kısım) ayrılma söz konusudur. Sentezlenen PU'ların özellikleri daha sonra poliöl doğasına, mimarilerine ve molar kütlelerin yanı sıra sentezde yer alan diizosiyanatlara göre uyarlanabilmektedir (Wendels ve Av'eros, 2021).

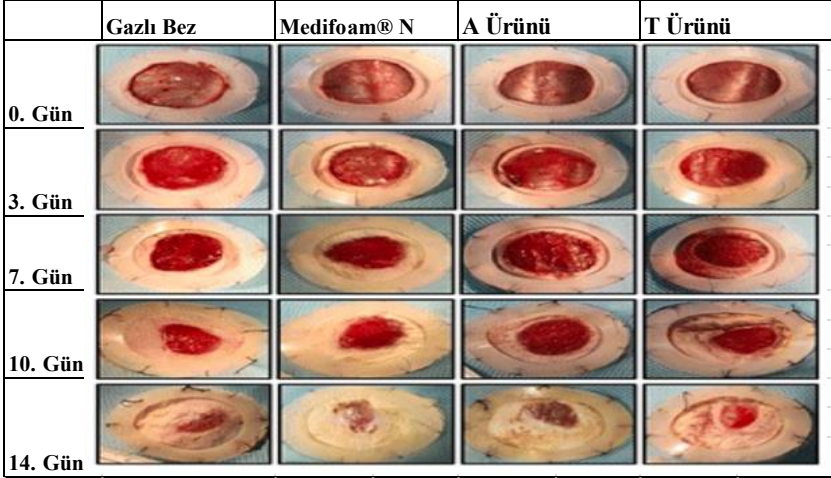
Aynı zamanda poliüretanlar bozunabilen ve bozunamayan türlere sahiptir. İlaç salınımlı biyomedikal uygulamalarında bozunabilen poliüretanlar kullanılmaktadır. Tıbbi cihazlarda ise özellikle kan ile teması olan tıbbi cihazların üretiminde kullanılmaktadır. Üretiminde kullanılan tıbbi cihazlara örnek olarak; kateter ve stentler, kalp kapakçıkları, hemodiyaliz cihazlarındaki kan hattı ve vasküler greftlerde ve yamaların üretimi verilebilir (Sepetçi, 2022).

Poliüretandan elde edilen membran / film, köpük, jel formları ise yapay yara örtülerinde kullanılabilir. Poliüretan filmlerde yarı-geçirgen saydam filmler havayla taşınan bakterilerin yaraya bulaşmasına engel olurlar. Poliüretan filmlerin tercih edildiği yara türü kuru yaralardır. Film yapısındaki poliüretan yara örtüleri yara yüzeyine yapışabilme, esneklik, sürtünmeye karşı deri hasarını önleyebilme gibi avantajlara sahip olması açısından idealdir. Esnek ve yüksek absorpsiyon kapasitesi içeren yumuşak, gözenekli, kısmen yüksek aşınma direnci ve dayanıma sahip poliüretan köpüklerde mevcuttur (Bahar-Üner, 2021).

Poliüretanın mükemmel bariyer özelliği ve oksijen geçirgenliği sayesinde yara pansumanlarının geliştirilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Lee ve diğerlerinin 2016'daki çalışmasında (Lee ve diğerleri, 2016; Arif ve diğerleri, 2021) geleneksel gazlı bez pansumanını ve çeşitli poliüretan köpük pansumanlarını karşılaştırarak gerçek yara iyileşmesini değerlendirmek için bir

hayvan yara iyileşme modeli kullanılmış ve yara iyileştirmede etkili olduğu kanıtlanmıştır.

Çalışmada yara kapanmasını görsel olarak karşılaştırmak için günlük yara iyileşmesine ait fotoğraflar kaydedilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Yara iyileşmesine ait fotoğraflar (Lee ve diğerleri, 2016).

Medifoam® N, Poliüretan Köpük Pansuman, Genewel Co. Korea'dan temin edildiği bildirilmiştir. A Ürünü, Allevyn, pembe yarı geçirgen bir poliüretan filme bağlanmış, yaklaşık altı milimetre kalınlığında yumuşak, hidrofilik poliüretan köpük tabakasından oluşturulmuştur ve Smith & Nephew Co.'dan temin edildiği bildirilmiştir. T Ürünü film Tegaderm (3 M Co.)'dan temin edildiği bildirilmiştir.

Test edilen pansumanlardan yalnızca gazlı bez yara yapışmasına dair kanıt göstermiştir. 14. Günde, tüm gruplardan alınan numuneler, gazlı bez dışında yaraya hiçbir malzeme yapışmadan neredeyse iyileşmiştir; bu, ret semptomları olarak ikincil cilt bozukluğunun ve pirojenik, alevlenme veya iltihaplanmanın etkili bir şekilde önlendiğini kanıtlamıştır.

Tüm test grupları için örnekler hızlı bir iyileşme oranı göstermiştir ve yara pansuman malzemelerinin yara iyileşmesini etkili bir şekilde desteklediğini onaylamıştır (Lee ve diğerleri, 2016);

Poliüretanın biyomalzeme olarak bir başka uygulaması ise; ortopedik uygulamalardır (PolyNovas). Bu sistem fizyolojik sıcaklıkta polimerleşen ve vücuda enjekte edilebilen Lisin diizosiyanat (LDI) temelli bir sistemdir. Farklı polioller kullanılarak üretilen poliüretanlarla biyobozunur özelliklerini

ayarlanabilmek mümkündür. Böylece farklı uygulamalar yapılabilmektedir (Yücel, Terzioğlu, Göker, 2022).

Bu uygulamalar arasında kardiyak (Asadpour ve diğerleri, 2018; Jamadi ve diğerleri, 2016; Tao, Wu, Cosgriff-Hernandez ve Jacot, 2020), kırık (Jiang ve diğerleri, 2018), sinir kanalları (Niu ve diğerleri, 2014; Wu, Wang, Guo, Shao ve Ma, 2016; Xu, Niu, Zhu, Liu ve Liu, 2016), damarlar (Castillo-Cruz ve diğerleri, 2019; Kucinska-Lipka, Gubanska, Janik ve Sienkiewicz, 2015; Rocco, Maxfield, Best, Dean ve Breuer, 2014; Yu, Mi, Zhang, Thomson ve Turng, 2018) gibi spesifik yumuşak dokuyu taklit eden uygulamalar veya spesifik olmayan uygulamalar (Fang ve diğerleri, 2015; Xu, Huang, Tang ve Hong, 2017; Zhao, Dong, Guo ve Ma, 2017) yer almaktadır (Wendels ve Av'rous, 2021).

Poliüretanlar, vücut içinde stabil ve inert olması gereken kateterlerin ve vasküler grafitlerin üretiminde kullanılabilirken aynı zamanda vücutta tamamen bozulan doku iskeleleri ve ilaç salım sistemlerinin yapımında da kullanılmaktadır (Yücel, Terzioğlu, Göker, 2022).

İlaç salınım sistemlerinde ilacın polimer içindeki çözünürlüğü ve yayılabilirliği, PU'nun kimyasal yapısından etkilenmektedir.

Örneğin, PU bölümlerinin kristallliği, moleküler ağırlığı ve sert ve yumuşak bölümler arasındaki oran gibi PU özelliklerinin tümü, ilacın PU yoluyla çözünürlüğünü ve yayılabilirliğini etkileyebilir (Tallury, Alimohammadi ve Kalachandra, 2007; Almeida ve diğerleri, 2012; Zhou ve diğerleri, 2012; Hsu ve Langer, 1985; Verstraete ve diğerleri, 2016; Wienen, Gries, Cooper ve Heath, 2023).

Bu etkiler PU'nın ilaç salınım sistemleri de dahil birçok medikal uygulamada kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır.

PU'nın tek başına kullanımının yanı sıra diğer polimerlerde karışımları da en az PU kadar geniş kullanım alanı bulmaktadır. Biyobozunur polimerlerin diğer polimerlerle çeşitli karışımları ile uygulamalardaki farklı problemler giderilebilmektedir. Örneğin, Poli(laktik asit) (PLA) ticari biyobozunur polimerlerden en çok kullanılanlardan biridir. Buna rağmen düşük tokluğa sahip olması uygulama alanını kısıtlamaktadır. PLA'nın termoplastik poliüretan (TPU) ile birleşiminde PLA'nın peklik ve tokluğu dengelenerek bu kısıtın önüne geçilebilmektedir. Bunun nedeni PLA'nın, TPU yumuşak segmentini oluşturan poliester veya polieter grubu ile kısmen uyumluluk göstermesidir (Kemaloğlu-Doğan, 2014).

Elde edilen PLA/TPU karışımlarının şekil hafızalı biyomedikal cihazlar ve doku iskelesi üretiminde kullanılabileceğini ifade eden çalışmalar da mevcuttur. Son yıllardaki çalışmalarda poliester/polieter poliöl temelli termoplastik poliüretan (TPU)'ların tercih edilme nedeni PLA'yı toklaştırmaktır (Feng ve Ye, 2011; Hong ve diğerleri, 2011; Li ve Shimizu, 2007; Nijenhuis, Colstee, Grijpma ve Pennings, 1996; Anderson, Lim ve Hillmyer, 2003; Piorkowska, Kulinski, Galeski ve Masirek, 2006).

TPU biyoyumluluk ve biyobozunurluk gereksinimlerini karşılama yanısıra Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından biyoyumluluğu onaylı bir polimer olan bir polimerdir (Hassan, Mauritz, Storey ve Wiggins, 2006; Hong ve diğerleri, 2011).

TPU görece düşük erime sıcaklığına ve yüksek bozunma sıcaklığına sahip olması nedeniyle de çok çeşitli proseslerde kullanılmaktadır. Poliüretan üretimindeki reaktanların seçimindeki geniş yelpaze çok farklı fiziksel özellikler içeren poliüretanlar üretilmesine olanak vermektedir (Özdemir, 2001). Bu nedenle onlardan dünya pazarında katma değere sahip ürünler elde edilmektedir (Kemaloğlu Doğan, 2014).

Son yıllarda geliştirilen şekil hafızalı PU'ların da (SMPU'lar) çapraz bağlama yöntemine göre termoset ve termoplastik SMPU'lara ayrılabilirler.

Termoplastik SMPU'lar, şekil sabitliği ve şekil geri kazanımı da dahil olmak üzere şekil değişikliği ile dış uyaranlara yanıt verme yeteneğine sahiptir. Şekil değişikliğinin itici gücü olarak implantasyon öncesi ve sonrasında sıcaklık ve pH gibi çevresel değişiklikler kullanılabilir. Kıkırdak onarımı için SMPU'lar hakkında nadir araştırmalar bildirilmiş olmasına rağmen, bu özel özellik, kıkırdak onarımı için minimal invazif cerrahide kullanılabilir (Huang, Wang, Wang, Chen ve Tong, 2023).

Liang, Zhang, ve Guo (2022) tarafından ise polikaprolakton (PCL), poli(etilen glikol (PEG) ve anilin trimer (AT) bazlı şekil hafızalı elektroaktif antioksidan poliüretan elastomerler geliştirmiştir (Şekil 3). İnsan vücut sıcaklığına yakın bir Tg'ye sahip olan filmler, iyi bir şekil hafızası kapasitesi sergiler ve bu, çatlak yaraların şekil iyileştirme destekli kapatılması yoluyla yara iyileşmesi için faydalıdır.

Ayrıca köpük pansuman olarak yaygın bir şekilde poliüretan köpükler kullanılmaktadır.

Yara iyileşme sürecinde bakteriyel kontaminasyon süreci tehdit eden ve yaranın kapanmasına engel olan durumlardan biri olduğu kabul edilmektedir.

Yara iyileşmesini hızlandırmak için biyoaktif moleküllerin (Choi ve diğerleri, 2017) yanı sıra antibiyotikler (Michailidou ve diğerleri, 2019; McGann, Streifel, Lundin ve Wynne 2017), gümüş (Pyun ve diğerleri, 2015), ZnO (Wang ve diğerleri, 2014; Buzarovska ve diğerleri, 2019), katyonik polimerler (Ding ve diğerleri, 2019; Tran ve diğerleri, 2015), bitkisel ekstraksiyonlar (Schuhladen, Mukoo, Liverani, Nescakova ve Boc-caccini, 2020), biyoaktif cam (BG) (Schuhladen ve diğerleri, 2020), ve diğerleri (Khodabakhshi ve diğerleri, 2019; dos Santos, Alcaraz-Espinoza, da Costa ve de Oliveira, 2018; Kaur, Chattopadhyay, Jain, Tyagi ve Singh, 2016) geliştirilmiş antibakteriyel özellik, hücre çoğalması ve migrasyon özelliğe sahip pansumanlar vermek üzere gözenekli köpüklere dahil edilmektedir (Liang ve diğerleri, 2022).

Köpük pansuman olarak poliüretanların kullanımı ile yara iyileşmesinin hızlandırılması hastalar için konforlu bir iyileşme süreci ve yaşam kalitesini artırması yönünden önemlidir.

Aynı zamanda yara pansuman uygulamalarına yönelik PU köpüklerin çeşitli avantajları söz konusudur. Bunlar :

- Ayarlanabilir gözenekliliğe sahip olması,
- Gözenek boyutları sayesinde yara bölgesine yapışmasının düşük olması,
- Yeterli nem ve gaz geçirgenliği sunabilmeleri (Wendels ve Av'eros, 2021).

Biyoaktif özellikler ayrıca antibakteriyel aktivite için gümüş NP'ler ve kanıtlanmış bir bitkisel yara iyileştirici ajan olan asiaticoside gibi çeşitli ajanlar ile sağlanabilmektedir (Wendels ve Av'eros, 2021).

Farklı polimerler ve biyoaktif moleküller gibi pek çok madde ile karışabilir olması da gelecekte yeni uygulamalarda kullanılacak yeni biyomedikal ürünler elde edilebilmesine ve cihazlar tasarlanmasına imkan verecektir.

Sonuç

Poliüretanlar (PU'lar), pek çok uygulama için geniş bir çeşitlilikte fizikokimyasal, mekanik ve yapısal özellikler sergileyen önemli bir polimer ailesidir. Biyomedikal uygulamalara uygun oldukları kanıtlanmış olup bu alanda yıllardır kullanılmaktadırlar.

Özellikle implante edilebilir biyomateryaller için PU'lar, canlı dokularla temas halinde olduklarında bozunma türlerine karşı dayanıklı olacak şekilde dikkatlice tasarlanmaktadır.

Bununla birlikte, bu çalışmaların bazı eksiklikleri olabilmektedir:

- düşük biyobazlı içerik,
- kalıntı katalizör toksisitesi,
- bozunma ürünlerine ilişkin bilgi eksikliği

Bununla birlikte, poliüretan sentezi esnasında üçüncül aminler gibi katalizörlerin kullanılması halinde bu katalizörlerin sıklıkla polimer içerisinde bulunduğu da göz ardı edilmemesi gereken bir durumdur. Bu tutunma genel olarak kabul edilen biyoyumluğun aksine sentezin her adımında güvenlik kaygısı oluşturmaktadır. Toksikite kanıtlanmış organometalik katalizörlerin kullanımı, PU sentezleri için hala altın standart olarak kabul görmektedir (Wendels ve Av'eros, 2021).

Son olarak, biyomedikal uygulamalarda biyobazlı PU'lardaki gelecekteki eğilimler, tamamen biyobazlı malzemelerin geliştirilmesine yönelik çalışmalarda SMPU'lar gibi akıllı yapıların büyük ilgi görebileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Al Kayal, T., Losi, P., Asaro, M., Volpi, S., Bonani, W., Bonini, M., Soldani, G. (2022). Analysis of oxidative degradation and calcification behavior of a silicone polycarbonate polyurethane-polydimethylsiloxane material. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 110, 1109–1120, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37357>.
- Almeida, A., Brabant, L., Siepmann, F., de Beer, T., Bouquet, W., van Hoorebeke, L., Siepmann, J., Remon, J.P., Vervaet, C. (2012). Sustained release from hot-melt extruded matrices based on ethylene vinyl acetate and polyethylene oxide. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 82, 526–533, <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.08.008>.
- Anderson, K. S., Lim, S. H., Hillmyer, M. A., (2003). Toughening of polylactide by melt blending with linear low density polyethylene. *Journal of Applied Polymer Science*, 89, 3757–3768.
- Arif, M. M., Khan, S. M., Gull, N., Tabish, T. A., Zia, S., Khan, R. U., Awais, S. M., Butt, A. M. (2021). Polymer-based biomaterials for chronic wound management: Promises and challenges. *International Journal of Pharmaceutics*, 598, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120270>.
- Asadpour, S., Yeganeh, H., Ai, J., Kargozar, S., Rashtbar, M., Seifalian, A., Ghanbari, H. (2018). Polyurethane-polycaprolactone blend patches: scaffold characterization and cardiomyoblast adhesion, proliferation, and function. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 4 (12) 4299–4310, <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00848>.

- Bernacca, G.M., Mackay, T.G., Wilkinson, R, Wheatley, D.J. (1995). Calcification and fatigue failure in a polyurethane heart valve. *Biomaterials*, 16 279–285, [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(95\)93255-c](https://doi.org/10.1016/0142-9612(95)93255-c).
- Buzarovska, A., Dinescu, S., Lazar, A.D., Serban, M., Pircalabioru, G.G., Costache, M, et al. (2019). Nanocomposite foams based on flexible biobased thermoplastic polyurethane and ZnO nanoparticles as potential wound dressing materials. *Materials Science and Engineering C*, 104,109893.
- Castillo-Cruz, O., Aviles, F., Vargas-Coronado, R., Cauich-Rodriguez, J.V., Chan-Chan, L.H., Sessini, V., Peponi, L. (2019). Mechanical properties of l-lysine based segmented polyurethane vascular grafts and their shape memory potential. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 102 887–895, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.073>.
- Choi, H.J., Thambi, T., Yang, Y.H., Bang, S.I., Kim, B.S., Pyun, D.G.,et al. (2017). AgNP and rhEGF-incorporating synergistic polyurethane foam as a dressing material for scar-free healing of diabetic wounds. *RSC Advances*, 7(23) 13714–13725.
- Çırak, Z.D., Yakıncı, D. B. (2020). Tıbbi Uygulamalarda Kullanılan Biyouyumlu Biyomalzemeler. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, ISSN: 2147-7892, 8 (2) 515-526. <https://doi.org/10.33715/inonusaglik.745301>.
- Ding, Y., Sun, Z., Shi, R., Cui, H., Liu, Y., Mao, H. et al. (2019). Integrated endotoxin adsorption and antibacterial properties of cationic polyurethane foams for wound healing. *ACS Appl Mater Interfaces*, 11(3),2860–2869 .
- dos Santos, M.R., Alcaraz-Espinoza, J.J., da Costa, M.M., de Oliveira, H.P., (2018). Usnic acid-loaded polyaniline/polyurethane foam wound dressing: preparation and bactericidal activity. *Materials Science and Engineering C*, 89,33–40.
- Fang, J., Ye, S.H., Wang, J., Zhao, T., Mo, X., Wagner, W.R. (2015). Thiol click modification of cyclic disulfide containing biodegradable polyurethane urea elastomers. *Biomacromolecules*, 16 (5) 1622–1633, <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00192>.
- Feng, F., Ye, L. (2011). Morphologies and mechanical properties of polylactide/thermoplastic polyurethane elastomer blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 119, 2778–2783.
- Guan, J. , Cooper, S.L., (Eds.) (2016). *Boffito, M., Sartori, S., Ciardelli, G. Polyurethanes for cardiac applications, in: Advances in Polyurethane Biomaterials*. Woodhead Publishing, Duxford, pp. 387–416.

- Gültekin, G. (2006). *Yara Örtü Malzemesi Uygulamaları İçin Yağ Asidi Temelli Poliüretan Filmlerin Üretimi* [Yüksek Lisans Tezi] İTÜ
- Hassan, M. K., Mauritz, K. A., Storey, R. F., Wiggins, J. S. (2006). Biodegradable aliphatic thermoplastic polyurethane based on poly(ϵ -caprolactone) and L-Lysine diisocyanate. *Journal of Applied Polymer Science*, 44, 2990-3000.
- Hilbert, S.L., Ferrans, V.J., Tomita, Y., Eidbo, E.E., Jones, M. (1987). Evaluation of explanted polyurethane trileaflet cardiac valve prostheses, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 94, 419–429.
- Hong, H., Wei, J., Yuan, Y., Chen, F.P., Wang, J., Qu, X., Liu, C. S. (2011). A novel composite coupled hardness with flexibility poly(lactic acid) toughen with thermoplastic polyurethane. *Journal of Applied Polymer Science*, 121, 855–861.
- Hsu, T.T., Langer, R. (1985), Polymers for the controlled release of macromolecules: effect of molecular weight of ethylene-vinyl acetate copolymer. *Journal of Biomedical Materials Research*, 19, <https://doi.org/10.1002/jbm.820190409>.
- Huang, X., Wang, Z., Wang, H., Chen, D., Tong, L. (2023). Novel strategies for the treatment of osteoarthritis based on biomaterials and critical molecular signaling. *Journal of Materials Science & Technology*, 149, 42-55.
- Jamadi, E.S., Ghasemi-Mobarakeh, L., Morshed, M., Sadeghi, M., Prabhakaran, M.P., Ramakrishna, S. (2016). Synthesis of polyester urethane urea and fabrication of elastomeric nanofibrous scaffolds for myocardial regeneration. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 63 106–116, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.051>.
- Jiang, T., Kai, D., Liu, S., Huang, X, Heng, S., Zhao, J., Chan, B.Q.Y., Loh, X.J., Zhu, Y., Mao, C., Zheng, L. (2018). Mechanically cartilage-mimicking poly(PCL-PTHF urethane)/ collagen nanofibers induce chondrogenesis by blocking NF- κ B signaling pathway. *Biomaterials*, 178, 281–292, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.06.023>.
- Kaur, A., Chattopadhyay, S. Jain, S., Tyagi, A., Singh, H., (2016). Preparation of hydrogel impregnated antimicrobial polyurethane foam for absorption of radionuclide contaminated blood and biological fluids. *Journal of Applied Polymer Science*, 133 (30),43625.
- Kemaloğlu-Doğan, Ş. (2014). *Biyomalzeme Olarak Kullanılabilecek Poli(Laktik Asit)/Poliüretan Polimer Karışımları* [Doktora Tezi] Kocaeli Üniversitesi.
- Khodabakhshi, D., Eskandarinia, A., Kefayat, A., Rafienia, M., Navid, S., Karbasi, S., et al. (2019). In vitro and in vivo performance of a propolis-coated polyurethane wound dressing with high porosity and antibacterial efficacy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178,177–84.

- Kucinska-Lipka, J., Gubanska, I., Janik, H., Sienkiewicz, M. (2015). Fabrication of polyurethane and polyurethane based composite fibres by the electrospinning technique for soft tissue engineering of cardiovascular system, *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 46, 166–176, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.10.027>.
- Lee, S.M., Park, I.K., Kim, Y.S., Kim, H.J., Moon, H., Mueller, S., Young-II Jeong, Y.I. (2016). Physical, morphological, and wound healing properties of a polyurethane foam-film dressing. *Biomaterials Research*, 20, 15, <https://doi.org/10.1186/s40824-016-0063-5>.
- Li, Y., Shimizu, H. (2007). Toughening of polylactide by melt blending with a biodegradable poly(ether)urethane elastomer. *Macromolecular Bioscience*, 7, 921–928.
- Liang, Y., Liang Y., Zhang, H., Guo, B. (2022). Antibacterial biomaterials for skin wound dressing, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17, 353–384, <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2022.01.001>.
- McGann, C.L., Streifel, B.C., Lundin, J.G., Wynne, J.H. (2017). Multifunctional polyHIPE wound dressings for the treatment of severe limb trauma. *Polymer (Guildf)*, 126, 408–418 .
- Michailidou, G., Christodoulou, E., Nanaki, S., Barmpalexis, P., Karavas, E., Vergkizi-Nikolakaki, S., et al. (2019). Super-hydrophilic and high strength polymeric foam dressings of modified chitosan blends for topical wound delivery of chloramphenicol. *Carbohydrate Polymers*, 208, 1–13.
- Nijenhuis, A., Colstee, J. E., Grijpma, D. W., Pennings, A. J. (1996). High molecular weight poly(L-lactide) and poly(ethylene oxide) blends: thermal characterization and physical properties. *Polymer*, 37, 5849.
- Niu, Y., Chen, K.C., He, T., Yu, W., Huang, S., Xu, K. (2014). Scaffolds from block polyurethanes based on poly(ϵ -caprolactone) (PCL) and poly(ethylene glycol) (PEG) for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*, 35 (14) 4266–4277, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.02.013>.
- Özdemir, Y. (2001). *Surface Modification and Biocompatibility Studies of Polyurethane Membranes* [Yüksek Tezi] Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.
- Pasinli, A. (2004). Biyomedikal Uygulamalarda Kullanılan Biyomalzemeler. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, (4) 25-34. www.teknolojikarastirmalar.org ISSN:1304-4141.
- Piorkowska, E., Kulinski, Z., Galeski, A., Masirek, R., (2006). Plasticization of semicrystalline poly(L-lactide) with poly(propylene glycol). *Polymer*, 47, 7178-7188.

- Pyun, D.G., Yoon, H.S., Chung, H.Y., Choi, H.J., Thambi, T., Kim, B.S. et al. (2015). Evaluation of AgHAP-containing polyurethane foam dressing for wound healing: synthesis, characterization, in vitro and in vivo studies. *Journal of Materials Chemistry B*, 3 (39), 7752–7763.
- Rocco, K.A., Maxfield, M.W., Best, C.A., Dean, E.W., Breuer, C.K. (2014). In vivo applications of electrospun tissue-engineered vascular grafts: a review. *Tissue Engineering Part B*, 20 (6) 628–640, <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2014.0123>.
- Schuhladen, K., Mukoo, P., Liverani, L., Nescakova, Z., Boccaccini, A.R., (2020). Manuka honey and bioactive glass impart methylcellulose foams antibacterial effects for wound healing applications. *Biomedical Materials*, 15(6), 065002.
- Sepetçi, S. (2022). *Sözlü Karar Analizi Yöntemi Temelinde Salgın Durumlarında Polimerik Biyomalzeme Üreten Firmaların Kalite Performanslarının Değerlendirilmesi* [Yüksek Lisans Tezi] Başkent Üniversitesi.
- Tallury, P., Alimohammadi, N., Kalachandra, S. (2007). Poly(ethylene-co-vinyl acetate) copolymer matrix for delivery of chlorhexidine and acyclovir drugs for use in the oral environment: effect of drug combination, copolymer composition and coating on the drug release rate. *Dental Materials*, 23, 404–409, <https://doi.org/10.1016/j.dental.2006.02.011>.
- Tao, Z.W., Wu, S., Cosgriff-Hernandez, E.M., Jacot, J.G. (2020). Evaluation of a polyurethane-reinforced hydrogel patch in a rat right ventricle wall replacement model. *Acta Biomaterialia*, 101, 206–218, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.10.026>.
- Tran, P.L., Hamood, A.N., de Souza, A., Schultz, G., Liesenfeld, B., Mehta, D., et al. (2015). A study on the ability of quaternary ammonium groups attached to a polyurethane foam wound dressing to inhibit bacterial attachment and biofilm formation. *Wound Repair Regen*, 2015, 23(1):74–81.
- Üner-Bahar, D. (2021). Yara İyileştirme Özellikli Polimerlerin Yara Örtülerinde Kullanımı. *IGUSABDER*, 13, 157-181. <https://doi.org/10.38079/igusabder.857250>.
- Verstraete, G., Van, R.J., Van, B.P.J., Kasmi, S., De, G.B.G., De, B.T., Remon, J.P., Vervaet, C. (2016). Hydrophilic thermoplastic polyurethanes for the manufacturing of highly dosed oral sustained release matrices via hot melt extrusion and injection molding. *International Journal of Pharmaceutics*, 506 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.057>.
- Wang, P., Zhao, J., Xuan, R., Wang, Y., Zou, C., Zhang, Z., et al. (2014). Flexible and monolithic zinc oxide bionanocomposite foams by a bacterial cellulose

- mediated approach for antibacterial applications. *Dalton Transactions*, 43(18), 6762–6768 .
- Wang, X., Wang, Y., Bi ,S., Wang, Y., Chen, X., Qiu, L. et al. (2014). Optically transparent antibacterial films capable of healing multiple scratches. *Advanced Functional Materials*, 24(3), 403–411 .
- Wendels, S., Av´erous, L. (2021). Biobased polyurethanes for biomedical applications. *Bioactive Materials*, 6 (4) 1083-1106. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.10.002>.
- Wienen, D., Gries, T., Cooper, S. L., Heath, D. E. (2023). An overview of polyurethane biomaterials and their use in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 363, 376–388. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.09.036>.
- Wu, Y., Wang, L., Guo, B., Shao, Y., Ma, P.X. (2016). Electroactive biodegradable polyurethane significantly enhanced Schwann cells myelin gene expression and neurotrophin secretion for p ripheral nerve tissue engineering. *Biomaterials*, 87, 18–31, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.02.010>.
- Xu, C., Huang, Y., Tang, L., Hong, Y. (2017). Low-initial-modulus biodegradable polyurethane elastomers for soft tissue regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9 (3) 2169–2180, <https://doi.org/10.1021/acsami.6b15009>.
- Xu, K.T., Niu, Y.Q., Zhu, Y.H, Liu, X.Y., Liu, C. (2016). Scaffolds of biodegradable block polyurethanes for nerve regeneration. *Advances in Polyurethane. Biomaterials*, 599–629, <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100614-6.00021-4>.
- Yu, E., Mi, H.Y., Zhang, J., Thomson, J.A., Turng, L.S. (2018). Development of biomimetic thermoplastic polyurethane/fibroin small-diameter vascular grafts via a novel electrospinning approach. *Journal of Biomedical Materials Research*, 106 (4) 985–996, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36297>.
- Yücel, S. Terzioğlu, P. Göker, İ. (Ed.) (2022). *Biyomalzemeler*, Nobel Yayıncılık.
- Zhao, X., Dong, R., Guo, B., Ma, P.X. (2017). Dopamine-incorporated dual bioactive electroactive shape memory polyurethane elastomers with physiological shape recovery temperature, high stretchability, and enhanced C2C12 myogenic differentiation. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9 (35) 29595–29611, <https://doi.org/10.1021/acsami.7b10583>.
- Zhou, L., Liang, D., He, X., Li, J., Tan, H., Li, J., Fu, Q., Gu, Q. (2012). The degradation and biocompatibility of pH-sensitive biodegradable polyurethanes for intracellular multifunctional antitumor drug delivery. *Biomaterials*, 33, 2734–2745, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.11.009>.

BÖLÜM 25

BİNA YÖNLENDİRMESİNİN VE ÇATI ŞEKLİNİN ENERJİ TÜKETİM PERFORMANSINA ETKİSİNİN REVİT SİMÜLASYON PROGRAMI İLE ANALİZİ

Saeed MORSALI¹

Feriha YILDIRIM²

¹ Gazi Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Çevre Bilimleri Bölümü, Ankara,
Orcid: 0000-0002-8187-608

² Gazi Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Çevre Bilimleri Bölümü, Ankara,
Orcid: 0000-0003-4938-3922

1. Giriş:

Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli'ne (IPCC) göre, hızlı kentleşme ve iklim değişikliği, bilim camiasının temel endişelerinden bazılarıdır ve Dünya'daki yaşamı ve biyolojik çeşitliliği tehdit etmektedir (IPCC 2020). Küresel ısınmaya en büyük katkı emisyonlardan, özellikle de fosil yakıtların yakılmasından kaynaklanan Karbondioksit (CO₂) emisyonlarından gelmektedir. Bu konudaki endişeler, 1990'ların başında ilk girişimde toplam sera gazı emisyonlarının CO₂'ye indirgenmesine yönelik uluslararası ve ulusal anlaşmaların yürürlüğe girmesine yol açmıştır. Ayrıca fosil yakıtlardan enerji üretimi de küresel ısınmanın bir diğer nedenidir. Farklı endüstri sektörleri arasında inşaat sektörü dünya çapında enerji tüketiminin neredeyse %40'ından sorumludur (Pérez-Lombard, Ortiz, and Pout 2008); Avrupa Komisyonu'na göre binalardaki enerji talebinin çoğu ısıtma ve soğutma işlemlerine gitmektedir, bu da mevcut binaların enerji verimsizliğini göstermektedir.

Bu nedenle, bina enerji performansı hem yöneticiler hem de akademik topluluk arasında bir öncelik haline gelmiştir. Binaların enerji performansına ilişkin en son AB Direktifi (mevcut 2010/31/EU'nun yerini alan 2018/844/EU sayılı Direktif), mevcut binaların 2050 yılına kadar karbonsuzlaştırılmasını hedeflemektedir (Cannavale, Martellotta, and Ayr 2019).

Binaların enerji performansı, bir dizi faktörden etkilendiğinden, enerji tüketimini sürekli bir şekilde değerlendirmek için binalar arasındaki büyük farklılıklar nedeniyle bazı zorluklarla karşılaşmıştır. Binaların genel enerji performansını etkileyen faktörler arasında bina zarfı (kabuğu), kullanılan malzemenin özellikleri, tasarım kuralları, hava koşulları, konum, alınan güneş ışığı ve radyasyon miktarı, inşaat ve yalıtım unsurları, havalandırma, bina sakinlerinin davranışları ve sayısı, aydınlatma, ısıtma, kullanılan cihazlar ve diğer kalite ile ilgili faktörler yer almaktadır. Dahası, genellikle kullanılan ve bu faktörleri dikkate alan iki ana simülasyon yöntemi vardır: fiziksel ve veri tabanlı yöntemler. Bu iki yöntemin kendi avantajları ve eksiklikleri vardır, fiziksel modeller fizik yasalarına ve hava akışı, nem, mikro iklim denklemleri vb. gibi bina parametrelerinin kesin ölçümlerine dayanır. Bu unsurların dinamik davranışları ve yapı malzemelerinin özellikleriyle etkileşimleri karmaşık hesaplamalar gerektirir (Lu, Lü, and Viljanen 2015).

Ancak günümüzde, bilimdeki ilerlemeler sayesinde bilgisayarlar bina enerji davranışını ve kullanılan malzemelerin etkilerini sanal ortamda simüle edebilmekte ve böylece binaların enerji performansını optimize edebilmektedir. Bununla birlikte, AB Komisyonu verilerine göre, 50 yıldan daha eski olan eski

binaların tam sayısı yaklaşık %35'tir ve bina stokunun neredeyse %75'i enerji verimsizdir. Öte yandan, bina stokunun yılda sadece %0,4-1,2'sinin (ülkeye bağlı olarak) yenilediği bir gerçektir (Hickel, 1955). Enerji verimliliği, hizmet veya ürün miktarı başına enerji tüketiminin azaltılması ve bu azalmanın bina konforunda, üretim kalitesi ve miktarında, endüstriyel işletmelerde yaşam standartlarında bir düşüşe neden olmamasıdır (Polat 2018).

Binalarda enerji tüketimini azaltmaya yönelik yeni düzenlemeler, NZEB'nin (Net Sıfır Enerji Bina) tipik bir yıl boyunca sıfır net enerji tüketimine sahip bir binayı ifade ettiği “Net Sıfıra Yakın Enerjili Bina” (NZEB) kavramına yol açmıştır. Net sıfır enerjili bina tanımı, bir bina veya yapı için tüketilen enerji miktarının, üretilen enerji miktarına eşit olduğu durumu ifade eder. Bu, yenilenebilir enerji kaynaklarından elde edilen enerjiyle, bina içinde kullanılan enerjinin dengeye gelmesi anlamına gelir. “Neredeyse net sıfır enerji binalar” ise genellikle yüksek enerji verimliliği sağlayarak tüketilen enerjiyi minimize eder ve geri kalan enerji ihtiyacını yenilenebilir kaynaklardan karşılar. Bu binalar, çevreye duyarlı olmalarının yanı sıra enerji tasarrufunu teşvik eder ve karbon salınımını azaltmaya yardımcı olur (Wang, Gwilliam, and Jones 2009).

NZEB'li binalar, tüm enerji taleplerini yerel olarak mevcut, kirlenici olmayan ve düşük maliyetli kaynaklardan karşılayacak şekilde tasarlanmıştır. NZEB'deki binaların şebekeye bağlı olduğu kabul edilir, böylece enerji talebine göre binalara enerji aktarılabilir veya ek enerji üretimi durumunda şebekeye elektrik eklenebilir; bu nedenle "sıfır" terimi şebeke elektriği ile enerji aktarımı olmaması durumunu ifade eder

Binaların enerji performansı şimdiye kadar çok sayıda disiplini ilgilendirmiştir. Örneğin bir araştırmada (Tronchin 2013) nem, rüzgar hızı ve radyasyon etkisini dikkate alarak, sabit sıcaklık değerlerinde (konfor aralığında) yüzey sıcaklığının “Yaz Günü Derecesi” eğilimi önermiştir. Ayrıca, Yaz Günü Derecesinin nasıl uygulanacağına dair bir örnek sunulmuştur. Bir başka çalışma, sıfır enerjili bina tasarımı için çözümleri belirlemeyi amaçlamış ve enerji performansını optimize etmek için bazı bina teknolojilerini ve ekipmanlarını incelemiştir; NZEB'nin uygunluğunu incelemek için bir simülasyon aracı da kullanılmıştır (Mastouri et al. 2020). Başka bir araştırma çalışmasında (Cannavale et al. 2019), iki tür nanoteknoloji tabanlı cihaz, belirli iklim koşullarına göre donatılmış iki benzer binada karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bir başka çalışma (Nikolaou et al. 2007) Güney Avrupa'daki kentsel binaların enerji verimliliğinde gölgeleme cihazlarının rolünü ortaya koymuştur. Binaların enerji performansına ilişkin çalışmalar, pencere ölçekleri (Guidolin 2014), duvar yalıtımlı binaların enerji tüketimi (Gumbarević and doc. dr. sc. Bojan

Milovanović 2019), elektrokromik pencerelerin bina enerji performansı üzerindeki etkileri (Park et al. 2019), doğal havalandırma etkisi (Moret Rodrigues et al. 2019), tüm bina gelişimi için BIM-LCA entegrasyonu (Naneva et al. 2020), bina enerji performansının değerlendirilmesi için Gündüz Faktörü (Mangione et al. 2018), farklı konumlardaki iki binanın simülasyonu (Eicker, Tereci, and Kesten 2010), bina tasarımı ve zarfın (kabuğu) rolü (Alotaibi 2015) gibi bina fiziksel özellikleri üzerine yapılmıştır.

Bu çalışma ile; (şimdiye kadar yapılmış olan çalışmalarda binaların zarf özelliklerine odaklanan az sayıda örnek bulunduğundan), binaların yönlerini ve çatı tasarımlarının enerji tüketimi üzerindeki etkilerini görebilmek için BIM (Bina Bilgi Modelleme) aracı kullanılarak simülasyon yapılması ve böylece çatı şekli ve yöneliminin bina kabuğu içindeki öneminin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Gerçek zamanlı hava koşullarını ve radyasyonu simüle etmek için etkili bir BIM aracının kullanılması (Revit 2023), bu çalışmanın gerçekçiliğini ve hassasiyetini artıracak önemli bir faktördür. Bu araştırma ile, bina enerji simülasyonu, bina geometrisi, iklim, bina tipi, dış cephe özellikleri ve aktif sistemler (HVAC ve Aydınlatma) gibi faktörlere dayalı olarak beklenen enerji tüketimi (yakıt ve elektrik) ölçülmüştür.

1.1. Binaların Enerji Performansı

Hızlı kentleşme, karmaşık yapılara sahip geniş bir yayılma alanı yarattığından, kentsel mikro iklim modeli değişmiştir. Bu nedenle, iklime dirençli kentsel planlamadaki ilerlemeler çeşitli zorluklarla karşı karşıyadır. Farklı çalışmalara göre, kentsel alanlar küresel enerji üretiminin yaklaşık %70'ini tüketmektedir (IPCC 2020), (Javanroodi and Nik 2019). BM'ye (Birleşik Milletler) göre 2019 yılında, yıllık CO₂ emisyonlarında binaların payı %38'dir ve ayrıca dünya nüfusunun %55'i şehirlerde yaşamakta olduğundan (Global CCS 2021) şehirler ana enerji tüketicileridir. Bu da kentsel gelişimin önemini göstermekte ve 2050 yılında kentsel nüfusun %67 olacağı tahmin edilmektedir (Javanroodi and Nik 2019). Sonuç olarak, bina tasarımında ve yeni sürdürülebilir teknolojilerin kullanımında gerekli olan yeniliğe ek olarak, kentsel gelişim politikalarının uygulanması ve gözden geçirilmesi kaçınılmazdır.

Şimdiye kadar, binaların enerji performansının simülasyonu, kesin bir değerlendirme yapmak için binalar arasındaki büyük farklılıklar nedeniyle bazı zorluklarla karşılaşmıştır. Binaların genel enerji performansını etkileyen faktörler arasında bina kabuğu, kullanılan malzemenin özellikleri, tasarım kuralları, hava koşulları, konum, alınan güneş ışığı ve radyasyon miktarı, inşaat ve yalıtım

unsurları, havalandırma, bina sakinlerinin davranışları ve sayısı, aydınlatma, ısıtma, kullanılan cihazlar ve diğer kalite ile ilgili faktörler yer almaktadır. Ayrıca, genellikle kullanılan iki ana simülasyon yöntemi olup bunlar fiziksel ve veri tabanlı yöntemlerdir. Bu iki yöntemin kendi avantajları ve eksiklikleri vardır, fiziksel modeller fizik yasalarına ve hava akışı, nem, mikro iklim denklemleri vb. gibi bina parametrelerinin kesin ölçümlerine dayanmaktadır. Bu unsurların dinamik davranışları ve yapı malzemelerinin özellikleriyle etkileşimleri karmaşık hesaplamalar gerektirir (Lu et al. 2015).

Ancak bilimdeki ilerlemeler sayesinde günümüzde bilgisayarlar bina enerji davranışını ve kullanılan malzemenin etkilerini sanal ortamda simüle edebilmekte, böylece binaların enerji performansının optimizasyonu sağlanabilmektedir. Ancak veri eksikliği, veriye dayalı yöntemin temel zayıflığıdır, bu bağlamda Yapı Bilgi Modellemesi (BIM) bu boşluğu doldurmak ve bu hedefi hızlandırmak için değerli bir araç haline gelmiştir. Ayrıca BIM, çok disiplinli bilgilerin bir model içinde örtüşmesine olanak tanıyarak tasarım süreci boyunca sürdürülebilirlik önlemleri ve performans analizleri gerçekleştirme fırsatı yaratmaktadır. Önemli bir bilgi de; kentsel mikro iklim modelinin, daha karmaşık bir modelle birlikte daha düşük ortalama rüzgar hızına sahip olma eğiliminde olan kentsel alanların karmaşıklığına bağlı olarak değiştiğidir.

Bu çalışmada hava durumu verileri en yakın hava durumu istasyonundan elde edilmiştir, ancak bu hava durumu dosyaları yerel mikro ölçekli verileri ve aşırı hava koşullarını temsil etmekte başarısız olabilir, bu da büyük pik yüklere neden olabilir ve ortalama olarak daha yüksek toplam enerji talebine neden olabilir (Javanroodi and Nik 2019). Saatlik zaman adımlarıyla Hesaplamalı Akışkanlar Dinamiği (CFD) simülasyonları veya tüm bir kentsel alan için uzun vadeli yerel ölçümlerin kullanılmasındaki bütçe ve zaman kısıtlamaları nedeniyle bu çalışmanın konusu olmayan mikro iklim modellemesi açısından daha fazla çalışma yapılmalıdır.

Binalardaki enerji performansı (1) yıllık hava durumu ve kentsel doku (2) hava değişimi ve sızma, (3) bina kabuğundaki yüzey ısı transfer katsayısı, (4) yapı malzemelerinin niteliği (5) mikro iklim vb birçok faktöre dayanmaktadır; Bahsedilen unsurların yanı sıra, “dış zarflar” binalarda önemli bir rol oynamaktadır. Çatı tipi ve şekli, bina yönelimi, pencerelerin duvarlara oranı, ek malzeme veya yöntem kullanmadan birçok sürdürülebilir bina elde etmek için optimize edilebilecek en etkili unsurlardan bazılarıdır. Yani, Binaların fiziksel özellikleri, enerji akışını, temel özelliklerini, duvarlarını, çatı şeklini ve sanat eserlerini kontrol eder; söz konusu unsurların rengi binaların sıcaklığını, hava akışını ve nemini etkiler.

NZEB konsepti, enerji kullanımını azaltmak için pasif yöntemler ve aynı zamanda aktif ve yenilenebilir teknolojiler kullanarak kendi enerji taleplerini karşılayan bir bina elde etmek için tasarlanmıştır; güneş enerjisi termal/soğutma tesisleri, fotovoltaikler, rüzgar türbinleri, iletken olmayan malzemeler, yalıtımlı pencereler vb. uygulamalar dünya çapında zaten kullanılmaktadır. Yenilenebilir enerjinin şebeke elektriği ile eş zamanlı olarak kullanılması, fazla üretilen enerjinin değiştirilmesi veya enerji kıtlığı durumunda elektrik şebekesine eklenmesi için bir koşul sağlar; bu nedenle NZEB kavramı şebeke elektriğini dikkate almaya devam etmektedir. "Net" terimi, kullanılan enerji ile satılan enerji arasındaki enerji dengesini tanımlamak için kullanılır, şebekeye bağlı binalarda kullanıldığında, denge sıfır olduğunda "net-sıfır enerji" terimi uygulanır (Hernandez and Kenny 2010).

1.2. Yapılarda Çatı Şekli

Çatılar, binaların enerji tüketiminde önemli bir rol oynar ve iklimlendirme tesisi olan veya olmayan binalarda iç mekan termal koşullarını iyileştirerek önemli ölçüde enerji tasarrufu sağlayabilir. Herhangi bir çatının ana işlevi insanları ve eşyalarını dış etkenlerden korumaktır. Ayrıca kışın sıcak havayı veya yazın serin havayı tutarak yalıtım da sağlayabilir. Bilimsel topluluklar tarafından tasarlanan özel çatılar gibi özel olarak tasarlanmış çatılar da vardır. Bu çatı tipleri kentsel ısı adası (UHI) etkilerini azaltabilir ve binaların enerji performansını artırabilir. Ayrıca, bu tür çatıları piyasada düşük maliyetle uygulamak mümkündür. Geleneksel çatılarla karşılaştırıldığında, serin çatılar daha düşük yüzey sıcaklığına sahiptir, bu da bina içine enerji transferini azaltabilir ve dolayısıyla binaların iç mekan konforunu artırabilir. Bir diğer yeni teknik ise yeşil çatılardır, bu teknik çatı alanında bitki örtüsü kullanır, bu teknik geçtiğimiz on yıllarda binalarda enerji performansını ve termal konforu iyileştirmek için kullanılmıştır.

Çatılar hava koşullarına karşı en etkili unsurlardan biridir. Radyasyon ve kar yağışı gibi faktörler çatıları diğer yapı elemanlarına göre daha fazla etkiler. Çatılar, binaların güneşten korunmasından, binaların sıcaklık ve neminin dengelenmesinden sorumludur; çatı genişliğinin değişmesi, yaz ve kış aylarında binaların sıcaklığını etkileyen radyasyon miktarının değişmesine neden olur.

İklim koşullarının önemli bir yük oluşturduğu yerlerde, çatının güneşi yansıtmak yerine emmesi ve ısıyı verimli bir şekilde binadan uzağa yayabilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Yeni çatı malzemeleri mevcuttur ve bunlar binalar üzerindeki soğutma yüklerini azaltmaya, kullanım ömrünü uzatmaya ve güneş tarafından ısıtılan binaların ve diğer yapay yüzeylerin çevre sıcaklığını artıran "ısı

adası" etkisini azaltmaya yardımcı olmaktadır. Hem güneş enerjisini yansıtabilen hem de gündüzleri (radyatif soğutmanın en önemli olduğu zaman) ısı yayabilen malzemeler bulmak zor olmuştur. Yeşil çatılar binaları güneş radyasyonundan korur ve iç bina ortamının sıcaklık ve nemini kontrol eder (Niachou et al. 2001).

Çatıların şekli ve yapısı, yerel iklim modeline göre bir yerden bir yere değişebilir; antik binaların çatılarından modern şehirlere kadar, çatıların teknik işlevi atmosferik olaylarda kritik bir rol oynar. Ancak günümüzde çoğu konut binasında neredeyse benzer modeller kullanılmakta olup, bir binada üç temel çatı tipi bulunmaktadır: 1) Düz çatı, 2) Eğimli çatı 3) Kemerli çatı.

Düz çatılarda renk, malzeme ve kalınlık etkili faktörlerdir, eğimli çatılarda eğimlerin açıları ve yönü kritik bir rol oynar, kemerli (kubbeli) çatı geceleri enerji kaybını geri kazanır ve gün boyunca ısı yükünü azaltmaya katkıda bulunur, ancak endüstriyel ölçekte kullanımı minimumdur. Çatılar ve duvarlar gibi bina kabukları, binaların ısıyı emme ve yayma şeklini etkilemektedir. En etkili yol, bu kabukların yıl boyunca optiklerini ve hatta kalınlıklarını değiştirebilecek şekilde değişmesidir, ancak bu tür malzemelerin ticari uygulaması ve kullanımı şu anda pahalıdır; ayrıca, örneğin yangın güvenliği, işletilebilirlik, kullanılabilirlik, finansal yönler ve sürdürülebilirlik açısından tasarım kodlarını karşılamak için bu tür malzemelerle ilgili araştırmaların dünya çapında tamamlanması gerekmektedir.

1.3. Bina Yönelimi

Binalarda, bina kabuğu, tüm binanın toplam ısı kazancına ve bina kabuğu yoluyla ısı kazancını belirleyen genel ısı transfer katsayısına doğrudan katkıda bulunur. Ayrıca, yönlendirme bina sakinlerinin termal konforunda kritik bir rol oynar. Bina yönelimi açısından, bir bölgedeki radyasyon ve rüzgar gibi iklimsel faktörlere odaklanmak son derece önemlidir. Özellikle tropikal bölgelerde, yönelimin radyasyon ve rüzgar yönü ile etkileşimi açısından ciddi bir şekilde ele alınması gerekmektedir (Al-Tamimi, Fadzil, and Harun 2011). Yönlendirme, gün ışığı ve havalandırma gibi bir dizi faktörü kontrol eder, bu faktörler toplam enerji tüketimine doğrudan katkıda bulunur, bu nedenle optimize edilmiş yönlendirme elde etmek, enerji tasarrufu miktarını en aza indirmede önemli bir rol oynar. Tasarım sürecinde, binanın cephelerindeki radyasyonun hesaplanması önemlidir çünkü bu, binanın termal yükünü etkiler ve mekanın termal konfor miktarını kontrol eder. Ayrıca bina içindeki havalandırma miktarını da etkilemektedir (Prasad et al. 2017).

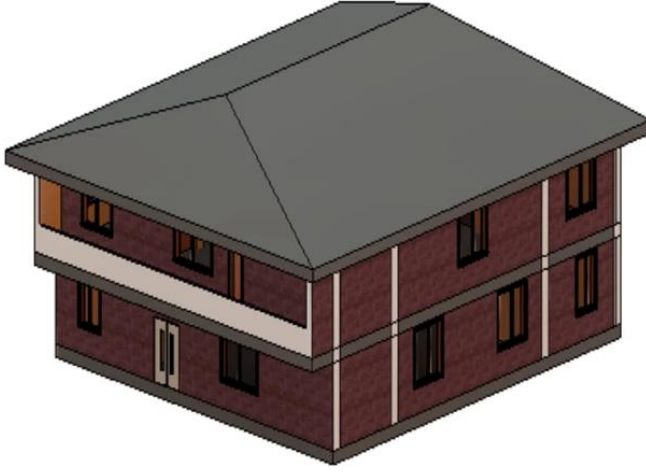
2. Yöntem ve Malzeme

Binalarda çeşitli enerji akışı kaynakları vardır, bunlar arasında ısıtma ekipmanları, bina sakinleri, güneş ışığı, aydınlatma sistemi ve cihazlar yer almaktadır; bu kaynaklardan en önemlisi güneş enerjisidir, binalardaki genel enerji talebini azaltmak için bu enerjiyi etkili bir şekilde kullanılabilir, ancak binaların uygun konumu ve genel bina fiziksel ve kabuğu güneş ışığını en aza indirebilir veya en üst düzeye çıkarabilir, bu nedenle binaların uygun şeklinin ve yönünün tasarımı NZEB konsepti üzerinde önemlidir. Güneş ısı kazancı miktarı, alınan ışık miktarına ve hedefine bağlıdır; ayrıca kullanılan malzemeler ve duvarlar, çatılar, temel, yüzeyden yükseklik gibi bina özelliklerinin tasarımı, güneş ışığının gelişini veya kaybını etkiler, ısı kazancı değerlendirilirken yerel iklim koşulları, güneş konumu, yüzey yansımaları ve termal kapasite dikkate alınmalıdır. Güneş enerjisini kullanım tarzı iki farklı yaklaşımdan oluşur: Birincisi, pasif güneş ısıtması, doğal havalandırma, gün ışığı, termal kütle depolama ve zemin soğutması gibi bina yapısal faktörlerini kullanarak güneş enerjisini toplamak, depolamak ve dağıtmak için mekanik ekipman kullanımını gerektirmeyen veya minimum düzeyde gerektiren pasif sistemlerdir. İkinci tip ise güneş ışığını yakalamak ve faydalı bir forma dönüştürmek için mekanik teknikler kullanan aktif sistemlerdir.

Bu çalışma, MJ/m² kullanılarak yapılan simülasyonlara dayanmaktadır; burada negatif değer dış enerji ihtiyacını, pozitif değer binanın yıllık ihtiyacından daha fazla enerji ürettiğini ve sıfır değer ise Net Sıfır Enerji olarak tanımlanan üretilen enerji ile kullanılan enerji arasındaki dengeyi ifade etmektedir.

3. Binanın Teknik Özellikleri

Tepe noktasının olası çatı şekillerini ve malzemelerini tahmin etmek için bina yönelimi “Revit” simülasyon ortamında modellenmiştir. Bu modelleme, yıllık iklim koşulları ve tüm dış yapı elemanları hakkında ayrıntılı bilgiler içerir; bina konumu, doluluk, ekipman ve elektrik aydınlatma programları (iç ısı kazançları) gibi model girdileri olarak kullanılan tüm bilgiler, gerçekçi simülasyonlar gerçekleştirmek için gereklidir. Simülasyon aracı, modelin güneş ışığına maruz kalan toplam yüzey alanını ve malzeme termal ısı analizi nedeniyle ısı kaybını analiz eden REVIT Autodesk Solar Analysis'dir. Solar Analiz herhangi bir malzeme özelliği varsaymaz. Kullanılan bina modeli her katta üç yatak odası (her katta iki banyo ve toplamda dört banyo) bulunan 20×18 m² ölçülerinde iki katlı bir binayı içermektedir.



Şekil 1: Binanın 3D tasarımı

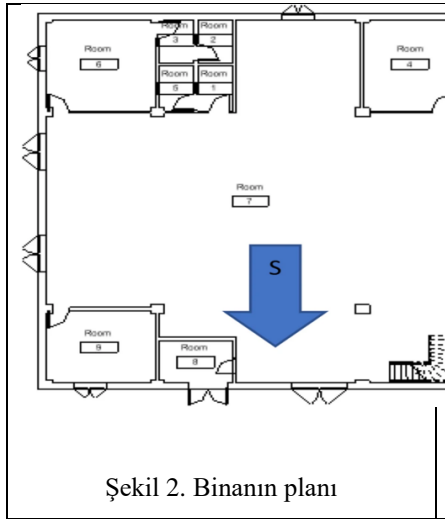
Binanın 3D tasarımı Şekil 1'de, tavan, duvar ve diğer temel özellikleri ise Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Revit modelinden duvarlar, tavan ve temel özellikleri

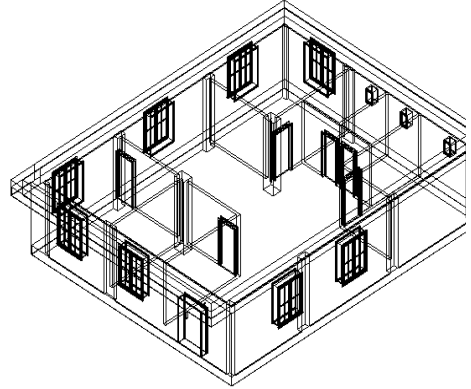
Tavan (beton)	Birim
Kalınlık	42.50 cm
Isı Transfer Katsayısı (U)	0.6084 W/ (m ² .k)
Termal Direnç	1.6437 (m ² . k)/ W
Termal Kütle	341.64 kj/k
Soğurma	0.700000
Pürüzlülük	3
Temel (Yerinde Beton)	
Kalınlık	42.5 cm
Isı Transfer Katsayısı	0.6084 W/ (m ² . K)
Termal Direnç	1.6437 (m ² . k)/ W
Termal Kütle	31.74 KJ/K
Soğurma	0.700000
Pürüzlülük	3

Duvarlar	
Kalınlık	35 cm
Isı Transfer Katsayısı (U)	0.1054 W/ (m ² .k)
Termal Direnç	9.4859 (m ² . k)/ W
Termal Kütle	144.3595 kj/k
Soğurma	0.700000
Pürüzlülük	3

Yazılımdaki modelleri tasarlamak için, aynı malzemeler ve özellikler kullanılarak oluşturulan binanın üstten ve alttan görünüşü ve planı ise Şekil 2 ve Şekil 3'de verilmiştir.



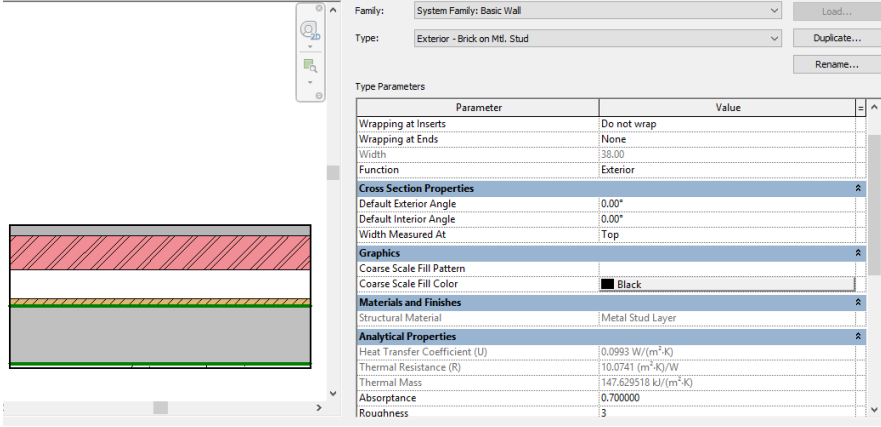
Şekil 2. Binanın planı



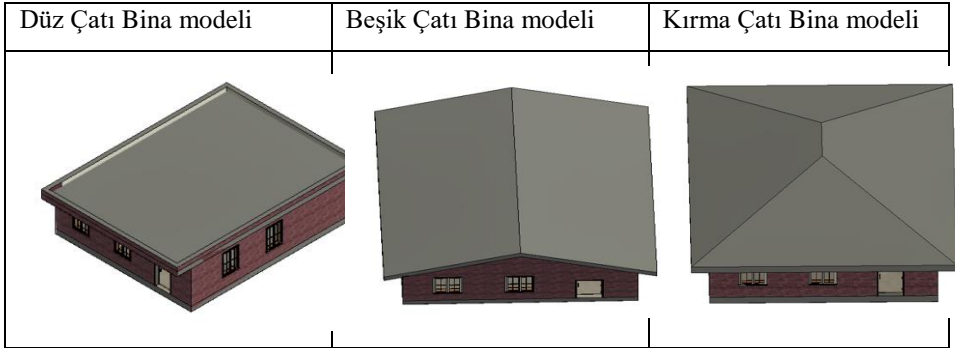
Şekil 3. Binanın üstten görünüşü

Çatı açısının optimizasyonu bu çalışmada dikkate alınmamış olup, varsayılan açılar hem iki eğimli hem de iki yanal çatı için 15° ve 30°'dir. Yüzeylerin tamamen opak veya tamamen şeffaf olduğu varsayılmıştır. En iyi uygulamaları elde etmek için aynı malzeme ve kalınlığa sahip üç çatı şekli simüle edilmiştir. Bu çalışmadaki duvar yapısı (Şekil 4) bakımından, simüle edilen tüm durumlar için yapıların bağlamı aynıdır. Aynı özelliği oluşturmak için yapısal özelliklerdeki herhangi bir değişiklik binadaki ısı transferini etkilemektedir. Modellenen yapıların tümü arasındaki tek fark, analiz edilmesi gereken çatı

şekilleri (düz çatı, beşik çatı ve kırma çatı) olup bunlar ise Şekil 5’de görülmektedir.



Şekil 4. Duvar yapısı



Şekil 5. Binalardaki çatı şekilleri

Tablo 2’de projenin konum istatistiklerinin yanı sıra en yakın meteoroloji istasyonu ve proje kotu görülmektedir.

Tablo 2. Proje Yeri ve Durumu Proje Yeri ve Durumu, Ankara, Türkiye

Özellikler	Değerler
Program sürümü ve derleme	EnergyPlus, Sürüm 9.1.0
Hava dosyası	Güvercinlik AN TUR ISD-TMYx WMO# = 171,310
Enlem [derece]	39.93
Boylam [derece]	32.75
Yükseklik [m]	823.00
Zaman Çerçevesi	2.00
Kuzey eksen açısı [derece]	0.00
Ek G için rotasyon [derece]	0.00
Simüle edilen saatler [saat]	8760.00

Tablo 3. Projenin Güney Yönündeki Projenin Güney Yönündeki Zarf Özellikleri

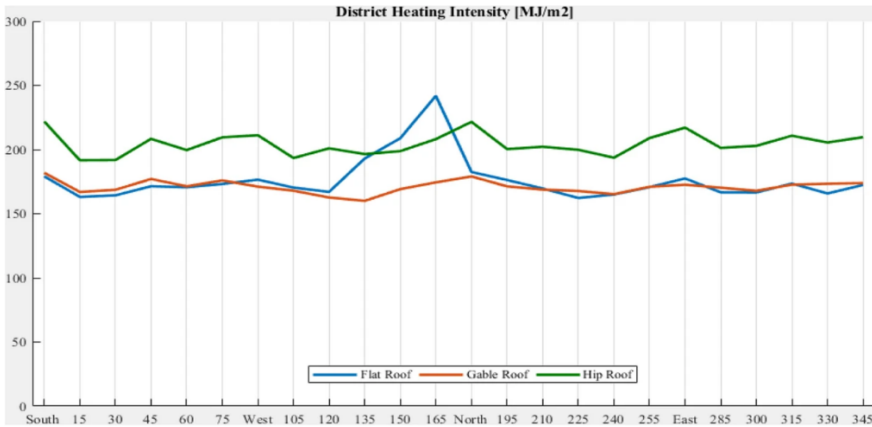
	Toplam	Kuzey (315-45 derece)	Doğu (45-135 derece)	Güney (135-225 derece)	Batı (225-315 derece)
Brüt duvar alanı [m ²]	452.43	101.89	121.97	102.20	126.36
Zemin üstü duvar alanı [m ²]	452.43	101.89	121.97	102.20	126.36
Pencere açıklık alanı [m ²]	56.29	4.96	16.58	14.64	20.11
Brüt pencere/duvar oranı [%]	12.44	4.87	13.59	14.33	15.91
Zemin üstü pencere-duvar oranı [%]	12.44	4.87	13.59	14.33	15.91

4. Enerji Tüketim Analizi

Analiz, çatılar dışında aynı plan ve özelliklere sahip üç binayı içermektedir. Güney yönünde görülebilen Şekil 5'de gösterildiği gibi üç farklı çatı tipi tasarlanmıştır. Binalar daha sonra her 15°'lik aralıkta saat yönünde döndürülmüş ve her bina için dört analiz gerçekleştirilmiştir.

Her 15°'lik dönüş için üç binanın bölgesel ısıtma yoğunluğunu göstermekte olan Şekil 6'te; tüm binaların 120° ile 195° arasında başlayan bir tepe değeri ile dalgalı bir desen gösterdiği görülebilir. Bununla birlikte, kırma ve beşik çatılar düz çatılara göre daha büyük bir tepe değeriyle benzer bir örüntü göstermektedir. Beşik çatılar için minimum ve maksimum değerler sırasıyla 159,98 ve 181,82'dir ve maksimum değer güney yönündedir ve bunun aksine, beşik çatı için minimum enerji tüketimi 135°'dedir. Buna ek olarak, ortalama enerji gereksinimi 170,82'dir ve 21,84 MJ/m² ile en verimli çatı şeklidir. Öte yandan, düz çatı için maksimum ve minimum değerler sırasıyla 165° ve 225° yönleri için eşittir ve düz çatı için ortalama değer 176,12'dir ve 79,58 MJ/m²'lik bir aralığa sahiptir. Kırma çatı için maksimum ve minimum enerji gereksinimleri sırasıyla 221,8 ve 191,62 iken, ortalama değer 204,34 ve aralık 30,18 MJ/m²'dir.

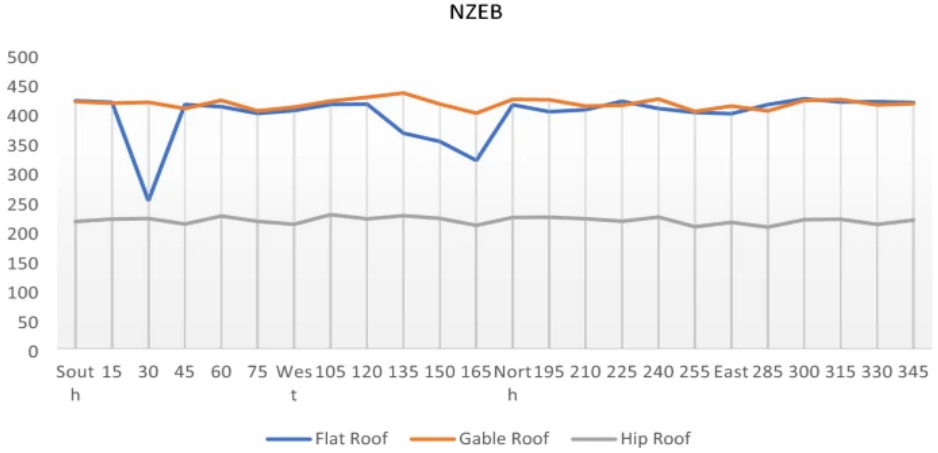
Sonuçların karşılaştırılmasından, düz çatıların bina yönünü değiştirerek ısıtma yoğunluğu açısından daha hassas olduğu, beşik çatıların ise daha az hassas olduğu ve ısıtma yoğunluğu analizi için en etkili enerji performansına sahip olduğu açıktır.



Şekil 6. Her 15°'lik dönüş için üç binanın bölgesel ısıtma yoğunluğu

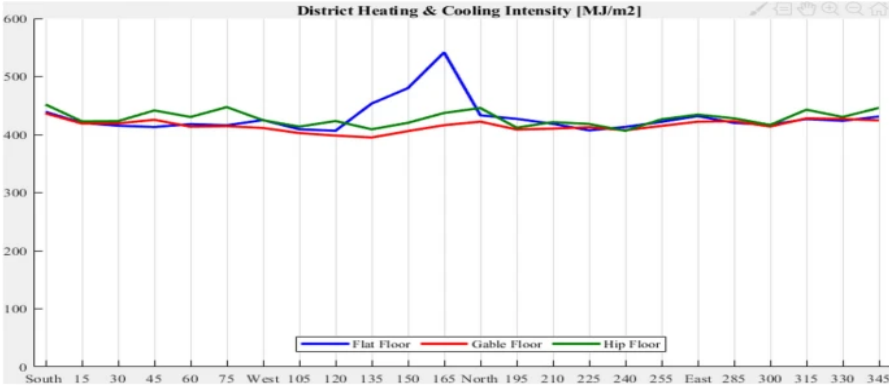
Şekil 7, her 15°'lik dönüş için üç farklı çatı şekli için bölgesel soğutma yoğunluğunu göstermektedir. Kırma çatı tüm yönler için en düşük enerji ihtiyacına sahiptir, maksimum değer 75°'de 237,87 ve minimum değer 195°'de

211,58'dir, değişim aralığı 26,29 ve ortalama 223,72 MJ/m²'dir. Beşik çatı, 20,67 aralık ve 244,72 MJ/m² ortalama ile sırasıyla 234,76 ve 255,43 minimum ve maksimum değerlerle diğer çatı şekillerine göre daha düzenli bir eğilime sahiptir. Soğutma enerjisi gereksinimi açısından, düz çatı sırasıyla 299,79 ve 238,79 maksimum ve minimum değerlerle, 61 aralıkla ve 253,41 MJ/m² ortalama değerle en verimsiz seçenek olarak görünmektedir ve bu değer üç çatı şekli arasında en yüksektir.



Şekil 7. Her 15°'lik dönüş için üç binanın bölgesel soğutma yoğunluğu

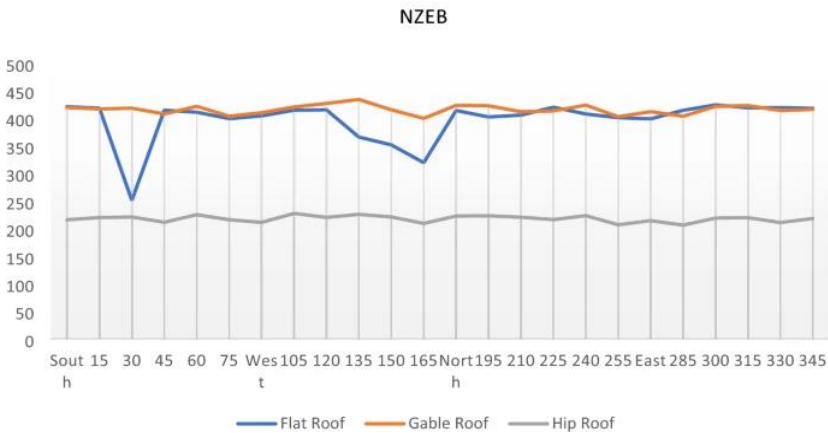
Şekil 8 (soğutma ve ısıtma yoğunluğu gereksinimi için değerlendirildiğinde); 24 yönelimde üç çatı şekli için bölgesel soğutma ve ısıtma yoğunluğu analizini temsil etmektedir. Sonuçlardan beşik çatıların farklı yönlerde daha az hassas olduğu görülmektedir; beşik çatı için maksimum ve minimum değerler sırasıyla 436,56 ve 394,95 olup 41,61'lik bir aralık ve 415,54 MJ/m²'lik bir ortalama sahiptir. Düz çatı ise sırasıyla 541,6 ve 406,58 maksimum ve minimum değerlere sahip olup 135,02'lik bir aralık ve 253,41 MJ/m²'lik bir ortalama değer göstermektedir ki bu değer üç çatı arasında en yüksek olanıdır. Son olarak, kırma çatı için maksimum, minimum, ortalama ve aralık değerleri sırasıyla 451.8, 406.49, 428.07 ve 45.31'dir.



Şekil 8. Her 15°'lik dönüş için üç binanın bölgesel soğutma ve ısıtma yoğunluğu

NZEB senaryosu, tasarımın yenilenebilir kaynaklardan enerji üretme olasılığını belirleyebilir. Güneş panelleri gibi kaynaklardan enerji üretme potansiyeli açısından, beşik çatı şekli tüm yönler için en düşük değere sahiptir, maksimum ve minimum değerler sırasıyla 433,86 ve 399,59'dur ve ortalama değer 415,7'dir. Öte yandan, düz çatı diğerlerinden daha hassastır ve 30°'de 424,13'e kadar yüksek veya 30°'de 251,03'e kadar düşük olabilir, bu da 173,1'lik bir aralığa işaret eder.

Şekil 9'de ise kırma çatının NZEB'de kullanılmak için en yüksek potansiyele sahip olduğu açıktır. Aynı zamanda, 24 farklı yönde güneşe maruz kalan eşit bir çatı alanı olduğundan, bu çatı şekli için maksimum ve minimum değerler sırasıyla 227,33 ve 206,15'tir ve 21,18'lik bir aralığa sahiptir.



Şekil 9. Her 15°'lik dönüş için üç binanın Net Sıfır Enerji potansiyeli

5. Sonuç

Bu çalışmada, farklı çatı tasarımlarının ve bina yönelimlerinin yıllık enerji tüketimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için farklı çatı şekillerine sahip bir bina 24 farklı yönde simüle edilmiştir. Özellikle, düz çatılar 120° ile 180° arasında enerji talebinde sistematik bir artış gösteren bir model sergilemiştir. Buna karşılık, beşik (uçurtma) ve kalça çatılar yönelim açısından daha fazla istikrar göstermiştir. Bu nedenle, düz çatılarla inşa edilen binalar için en uygun yönelimin belirlenmesi enerji tüketimini önemli ölçüde azaltabilir.

Farklı iklim koşullarında, ısıtma veya soğutma önceliklidir ve bu da uygun çatı şeklinin ve bina yönünün seçilmesinin önemini vurgular. Düz çatılı binalar için bina yönelimi, pencere ve giriş cephelerinden daha büyük bir rol oynamaktadır. Duvar ve çatı yüzeylerinin güneşe daha fazla maruz kalması binanın verimliliği ile ilişkilidir.

Beşik ve kırma çatılar için en uygun bina yönelimi, belirli çatı şekillerine bağlı olarak değişmektedir; bu da tasarım aşamasında enerji performansının hesaplanmasının gerekliliğini vurgulamaktadır. Sonuçlar, Türkiye'deki farklı projeler için farklılık gösterebilmekte olup, yerleşim yerinin enlem ve boylamındaki farklılıklar nedeniyle doğru Yapı Bilgi Modellemesi (BIM) yazılımının son derece değerli olduğunu vurgulamaktadır.

Her üç çatı için de aynı malzeme kullanılmasına rağmen, düz çatılarda malzeme miktarı daha az olduğu için maliyet açısından düz çatılar daha çok tercih edilmektedir. İki katlı binalar için, düz çatıların Net-Sıfır Enerji Binaları (NZEB) uygulama olasılığı beşik çatılara göre daha düşüktür. Beşik çatılar kırma çatılara göre daha yüksek enerji talebi göstermektedir. Bu durum, binaların enerji kullanımında çatı şekillerinin önemini vurgulamaktadır. Ancak, güneşe maruz kalan alanın önemi burada daha da büyük olduğundan, çok katlı binalar için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Ayrıca, mevcut binalarda enerji tüketimini etkileyen önemli bir faktör de duvarların güneşe nasıl maruz kaldığıdır. Sokak yönelimlerini doğru bir şekilde entegre ederek bina yönelimini değiştirmek gerekebilir, ancak bu çalışmanın simülasyonunda sokak yönelimleri dikkate alınmamıştır. Net sıfır enerjili binalara ulaşmak için duvar yapıları, malzemeler, pencere/duvar oranı, yalıtım, çatı eğimi ve açısı gibi çeşitli faktörlerin dikkate alınması gerekmektedir. Ayrıca, yenilenebilir teknolojinin pasif enerji yöntemleriyle birleştirilmesi, fayda optimizasyonu ve iç mekan tasarımı gibi alanlarda daha spesifik çalışmalara ihtiyaç duyulmakta olup, endüstri ölçeğinde tasarım kodlarının belirlenmesi için farklı disiplinlerin dahil edilmesi gerekmektedir.

Referanslar

- Al-Tamimi, Nedhal Ahmed M., Sharifah Fairuz Syed Fadzil, and Wan Mariah Wan Harun. 2011. "The Effects of Orientation, Ventilation, and Varied WWR on the Thermal Performance of Residential Rooms in the Tropics." *Journal of Sustainable Development* 4(2):142.
- Alotaibi, Fahad. 2015. "The Role of Kinetic Envelopes to Improve Energy Performance in Buildings." *Journal of Architectural Engineering Technology* 4(3):149–53.
- Cannavale, Alessandro, Francesco Martellotta, and Ubaldo Ayr. 2019. "Energy Performance of Building-Integrated Electrochromic and Photovoltaic Systems." *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 609(6):62004. doi: 10.1088/1757-899X/609/6/062004.
- Eicker, Ursula, Aysegül Tereci, and Dilay Kesten. 2010. "Energy Performance of Buildings in Urban Areas." *Energy* (August).
- Global CCS. 2021. "Global Status Report 2021."
- Guidolin, Elena. 2014. "Impact of Window Amount and Size on User Perception , Daylighting and Energy Demand in an Office Space." 96.
- Gumbarević1, Sanjin, and doc. dr. sc. Bojan Milovanović2. 2019. "Utjecaj Zrakopropusnosti Ovojnice Na Energijsko Svojtstvo Zgrada The Impact of the Envelope Airtightness on the Energy Performance of Building. Doctoral Symposium In Civil Enignerring, 1–8.
- Hernandez, Patxi, and Paul Kenny. 2010. "From Net Energy to Zero Energy Buildings: Defining Life Cycle Zero Energy Buildings (LC-ZEB)." *Energy and Buildings* 42(6):815–21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2009.12.001>.
- Hickel, R. 1955. "Contribution à l'exploration Radiologique Des Vertèbres Lombaires Agrandies et Des Quatre Derniers Interlignes Vertébraux Sur Un Seul Film." *La Presse Médicale* 63(30):619.
- IPCC. 2020. "Special Report on Global Warming of 1.5°C - Errata." *Global Warming of 1.5 °C: Special Report* 1–4.
- Javanroodi, Kavan, and Vahid M. Nik. 2019. "Impacts of Microclimate Conditions on the Energy Performance of Buildings in Urban Areas." *Buildings* 9(8).
- Lu, Tao, Xiaoshu Lü, and Martti Viljanen. 2015. "A New Method for Modeling Energy Performance in Buildings." *Energy Procedia* 75:1825–31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.07.154>.
- Mangione, A., B. Mattoni, F. Bisegna, D. Iatauro, and M. Zinzi. 2018. "On the Validity of Daylight Factor for Evaluating the Energy Performance of Building." Pp. 1–4 in *2018 IEEE International Conference on Environment and Electrical Engineering and 2018 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe (EEEIC / I&CPS Europe)*.

- Mastouri, Hicham, Hicham Bahi, Hassan Radoine, and Brahim Benhamou. 2020. "Improving Energy Efficiency in Buildings: Review and Compiling." *Materials Today: Proceedings* 27:2999–3003. doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.03.270>.
- Moret Rodrigues, A., Miguel Santos, M. G. Gomes, and Rogério Duarte. 2019. "Impact of Natural Ventilation on the Thermal and Energy Performance of Buildings in a Mediterranean Climate." *Buildings* 9(5).
- Naneva, Anita, Marcella Bonanomi, Alexander Hollberg, Guillaume Habert, and Daniel Hall. 2020. "Integrated BIM-Based LCA for the Entire Building Process Using an Existing Structure for Cost Estimation in the Swiss Context." *Sustainability (Switzerland)* 12(9). doi: 10.3390/su12093748.
- Niachou, Aikaterini, Konstantinos Papakonstantinou, Mat Santamouris, Aris Tsangrassoulis, and G. Mihalakakou. 2001. "Analysis of the Green Roof Thermal Properties and Investigation of Its Energy Performance." *Energy and Buildings* 33(7):719–29.
- Nikolaou, T., G. Stavrakakis, I. Skias, and D. Kolokotsa. 2007. "Contribution of Shading in Improving the Energy Performance of Buildings." Pp. 27–29 in *2nd PALENC Conference and 28th AIVC Conference, Building Low Energy Cooling and Advanced Ventilation Technologies in the 21st Century*.
- Park, Bo R., Jongin Hong, Eun J. Choi, Young J. Choi, Choonyeob Lee, and Jin W. Moon. 2019. "Improvement in Energy Performance of Building Envelope Incorporating Electrochromic Windows (ECWs)." *Energies* 12(6).
- Pérez-Lombard, Luis, José Ortiz, and Christine Pout. 2008. "A Review on Buildings Energy Consumption Information." *Energy and Buildings* 40(3):394–98. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2007.03.007>.
- Polat, Halil İbrahim. 2018. "Evaluation of a Municipal Services Building Under the Energy Performance of Buildings Regulation." *International Journal of Progressive Sciences and Technologies; Vol 8, No 2 (2018)*. doi: 10.52155/ijpsat.v8.2.419.
- Prasad, A. K., S. S. Anchan, MSh Kamath, and V. Akella. 2017. "Impact of Building Orientation on Energy Consumption in the Design of Green Building." *Int J Emerg Res Manag Technol ISSN* 6(2):2278–9359.
- Tronchin, Lamberto. 2013. "The Calculation of Energy Performance of Buildings with Summer Degrees." *Advanced Materials Research* 689:3–7.
- Wang, Liping, Julie Gwilliam, and Phil Jones. 2009. "Case Study of Zero Energy House Design in UK." *Energy and Buildings* 41(11):1215–22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2009.07.001>.

BÖLÜM 26

BİTKİ EKSTRAKTLARI KULLANILARAK SENTEZLENEN ZnS NANOPARÇACIKLARININ OPTİK SOĞURMA, OPTİK IŞIMA VE FOTOKATALİTİK ÖZELLİKLERİ

*Doç. Dr. Füreya Elif ÖZTÜRKKAN¹
Prof. Dr. Mustafa YÜKSEK²*

¹ Kafkas Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Kars, Türkiye
ORCID: 0000-0001-6376-4161

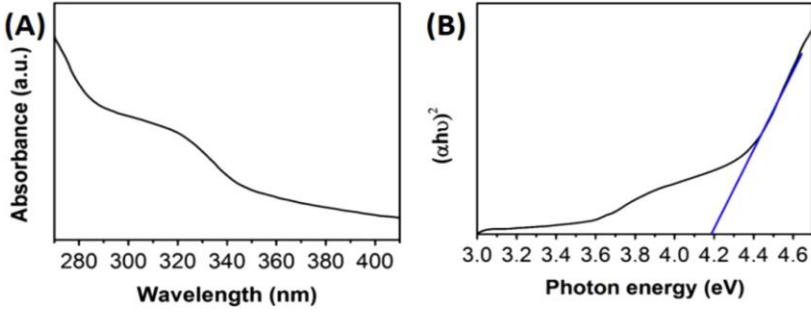
² İskenderun Teknik Üniversitesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü,
İskenderun, Hatay, Türkiye
ORCID: 0000-0003-2169-1827

1. Giriş

Son yıllarda yarı iletken nanoyapılı malzemeler, bulk malzemelerden daha farklı ve benzersiz özellikleri nedeniyle ilgi çekmektedir. ZnS, önemli II-VI yarı iletkenlerinden biridir ve toksik olmayan yapısı, benzersiz optik özellikleri nedeniyle geniş uygulama yelpazesini artırmaya devam eden bir malzemedir (Gebreslassie & Gebretnsae, 2021; Zheng et al., 2015). ZnS düz panel ekranlarda, elektrolüminesans cihazlarda, IR pencerelerde, sensörlerde, lazerler ve ultraviyole yayan diyotlarda kullanılmaktadır. Toksik olmaması nedeniyle ZnS günümüzde atık su arıtımında boyalar, halojenlenmiş türevler ve *p*-nitrofenol gibi organik kirleticilerin parçalanmasında fotokatalizör da olarak kullanılmaktadır. ZnS, izotropik noktalar, küreler ve anizotropik tabakalar, ve disketler gibi çeşitli boyutlarda hazırlanabilmektedir. Çinko sülfür nanopartikülleri, bulk boyuttaki çinko sülfür ile karşılaştırıldığında hacme göre artan yüzey oranı, daha yüksek optik absorpsiyon, daha düşük erime noktası ve makroskobik seviyede kuantum tünelleme etkisi sunduğu rapor edilmiştir (D. Chen et al., 2004; Fujiwara, Hosokawa, Murakoshi, Wada, & Yanagida, 1998; Hu et al., 2005). ZnS nanoparçacıkları elektrokimyasal depolama, lazer ablasyon, solvotermal yöntem, hidrotermal yöntem, mikrodalga ışınlama, sonokimyasal yöntem vb. gibi önemli yöntemler kullanılarak sentezlenmiştir. Ayrıca yeşil kimya kavramı ile birlikte farklı bitki ekstraktları kullanılarak da ZnS nanopartiküllerinin elde edildiği de bilinmektedir. Çevre dostu bu yöntem sayesinde farklı nanoboyutlara sahip birçok nanopartikül elde edilmiştir. Yukarıda bahsedilen birçok eşsiz özelliğe sahip farklı boyutlardaki ZnS nanopartikülleri de bitki ekstraktları kullanılarak elde edilmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin optik ve katalitik özellikleri de değerlendirilmiştir.

2. Farklı Başlatıcı ve Ekstraktlara Bağlı Olarak ZnS Nanoparçacıklarının Optik Soğurma Özellikleri

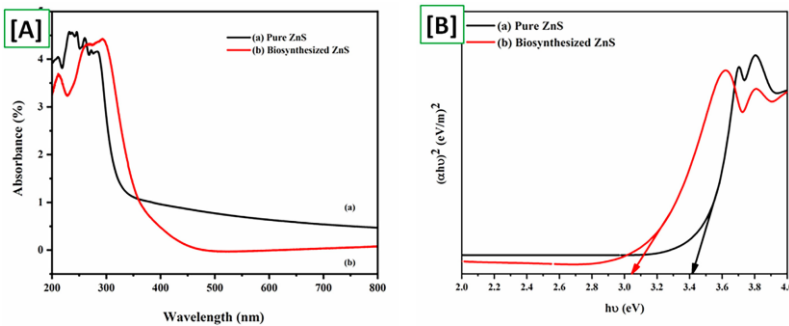
Jinfeng Chen ve arkadaşları indirgeyici ve stabilizatör olarak *Corymbia citriodora* yaprak ekstraktı kullanarak sentezledikleri ZnS nanopartiküllerinin UV-görünür absorpsiyon spektrumu Şekil 1.(A)'da gösterilmektedir. Optik soğurma kenarları ve iyi tanımlanmış eksitonik özellikler, sentezlenen parçacıkların nispeten dar boyut dağılımına sahip olduğunu göstermektedir. ZnS nanoparçacıklarının bant aralığı enerjisi (Eg), Simmons ve arkadaşlarına göre $(h\nu\alpha)^2$ 'ye karşı $(h\nu)$ Tauc grafiği ve eğrilerin doğrusal kısımlarının enerji eksenine ekstrapolasyonu UV-vis spektrumlarından elde edilmiştir (J. Chen, Hu, & Zhi, 2016a).



Şekil 1. (A) Biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin UV-vis absorpsiyon spektrumu, (B) Biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin bant aralığı enerjisinin belirlenmesi.

ZnS nanopartiküllerinin Tauc grafiği Şekil 1.B'de gösterilmektedir. Biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin tahmini optik bant aralığı yaklaşık 4,22 eV olarak hesaplanmıştır (J. Chen et al., 2016a).

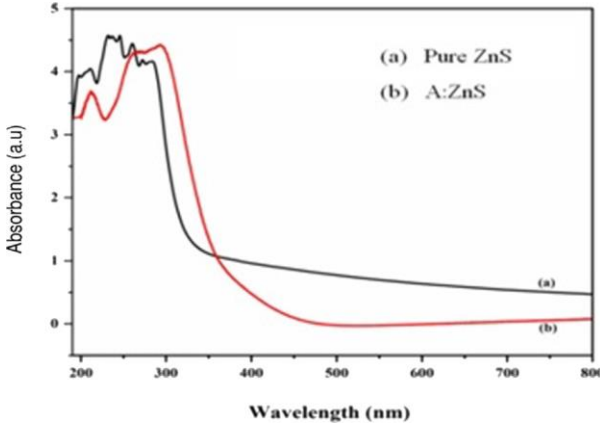
S. Kannan ve arkadaşları, yeşil sentezlenmiş çinko sülfid nanopartiküllerini (ZnS NP'ler) Tridax procumbens'in bitki ekstraktlarını kullanarak ilk kez yaptıkları çalışmada optik soğurma özelliklerini UV-görünür spektroskopisi yardımıyla belirlemişlerdir. UV-Vis-NIR ölçümü, optik absorbansı belirlemek için Hitachi UH5300 spektrometresi kullanılarak yapılmış. Sentezlenen katalizör örnekleri üzerinde oluşan optik soğurma özelliğini ve yüzey kusur merkezlerini bilmek için optik absorpsiyon analizi çalışılmış. Şekil 2 (a-b), hazırlanan ZnS katalizörlerinin UV-DRS analizini göstermektedir. Saf ve biyosentezlenmiş ZnS'nin optik absorpsiyon kenarının sırasıyla 200 ve 400 nm olduğu bulunmuştur.



Şekil 2. (A) Hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin UV-Vis Absorpsiyon spektrumları, (B) Hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin Tauc grafiği (Kannan, Subiramaniam, & Sathishkumar, 2022).

Biyosentezlenen ZnS numuneleri için bant kenarı daha uzun dalga boyu tarafına (395 nm) doğru kaydırılmıştır. Absorpsiyon kenarındaki önemli bir kırmızıya kayma, biyosentezlenen ZnS katalizörünün bant aralığının azaldığını gösterir. Yüzeysel plazmon rezonansı, bitki ekstraktı ile biyosentezlenen ZnS'nin bant aralığı enerjisinin azaltılmasında ve parçacık boyutunun değiştirilmesinde önemli bir rol oynar. Bant aralığı enerjisi, saf ve biyosentezlenmiş ZnS nanopartikülleri için sırasıyla 3,41 ve 3,02 eV olarak belirlenmiştir. Biyosentezlenmiş ZnS katalizörünün daha küçük bant aralığı enerjisi, nanopartiküllerin büyümesi için stabilize edici madde olarak görev yapan ZnS ile yüksek oranda birleşen bitki ekstraktından kaynaklanmaktadır. Biyosentezlenmiş ZnS örneğinin uygun bant aralığı enerjisine sahip olması dolayısıyla fotokatalitik alanda kullanılabilir bir madde olduğunu göstermektedir (Kannan, Subiramaniyam, et al., 2022).

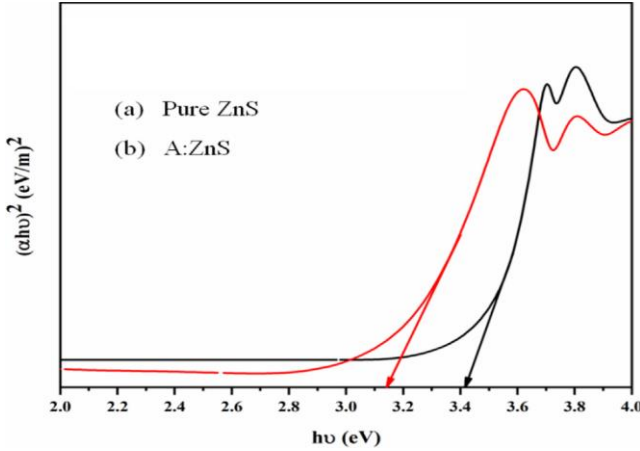
S. Kannan ve arkadaşları yaptıkları bir diğer çalışmada, verimli bir biyokatalizör geliştirmek için basit ve çevre dostu bir biyosentez yaklaşımı kullanmışlanarak, *Acalypha indica* bitkisinden elde edilen ekstraktı temel alan çevre dostu bir sentetik yaklaşım kullanmış ve ZnS nanopartikülünü sentezleyerek optik absorpsiyon özelliklerini incelemişlerdir. Oluşturulan numunelerin optik absorpsiyon özelliğini oda sıcaklığında test etmek için 200-800 nm dalga boyu aralığına sahip bir Hitachi UH5300 spektrometresi kullanılmıştır. Hazırlanan ZnS numunelerinin UV-Vis spektrumları Şekil 3'te gösterilmektedir. Saf ZnS'nin absorpsiyon kenarı 353 nm olarak belirlenmiş ve bu daha sonra biyosentezlenmiş ZnS için daha yüksek dalga boyu tarafına (381 nm) kaymıştır. Soğurma kenarı daha yüksek dalga boyuna kaymıştır, bu da A:ZnS'nin bant aralığının bitki ekstraktı ilavesiyle azaldığını göstermektedir. Düşük koordinasyon, kendisiyle ilişkili yüzeysel plazmon rezonansının yüksek dalga boyuyla gösterilir. ZnS'deki Zn^{2+} iyonu, koordinasyon sayısı azaldıkça daha az elektrostatik potansiyele sahip olur, dolayısıyla her şeyin gerçekleşmesi için daha az enerji gerekir (Kannan, Sathishkumar, & Balamurugan, 2022).



Şekil 3. ZnS/A:ZnS

nanopartiküllerinin UV Görünür absorpsiyon spektrumları (Kannan, Sathishkumar, et al., 2022).

Bant aralığını (E_g) değerlendirmek için Tauc modeli kullanılmış ve bulgular Şekil 4'te sunulmuştur. Saf ZnS ve A:ZnS numuneleri için optik bant aralığı enerjisi sırasıyla 3,51 eV ve 3,25 eV olarak belirlenmiş. Sonuç olarak biyosentezlenen ZnS numunesinin görünür ışığı daha fazla absorbe edeceğini ve fotokatalizörde umut verici bir kullanıma sahip olacağını öngörmüşlerdir (Kannan, Sathishkumar, et al., 2022).

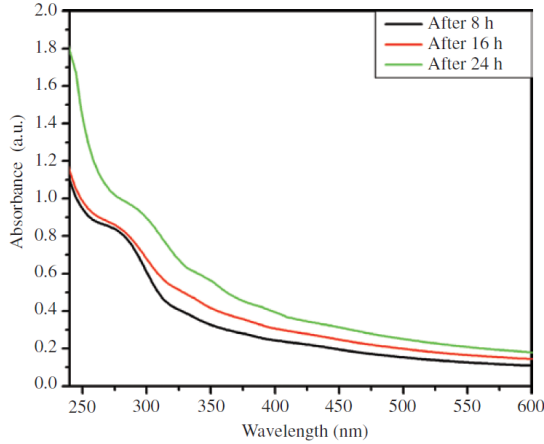


Şekil 4. ZnS/A:ZnS nanoparçacıkları için Tauc grafiğini kullanarak bant enerjisi hesaplaması (Kannan, Sathishkumar, et al., 2022).

M. Divya Rao ve Gautam Pennathur, *Chlamydomonas reinhardtii*'nin hücre içermeyen ekstraktını kullanarak yarı iletken çinko sülfür (ZnS) nanopartiküllerini sentezleyip optik soğurma özelliklerini UV-görünür spektrofotometresi ile çalışmışlardır. Çinko sülfatın biyo-indirgenmesi, UV-

görünür bir spektrofotometre (Perkin Elmer λ 35) kullanılarak incelenmiş. Burada; zaman, sıcaklık, pH ve ekstrakt miktarına bağlı olarak UV-görünür spektrumlarındaki değişiklikler incelenmiştir (Rao & Pennathur, 2016).

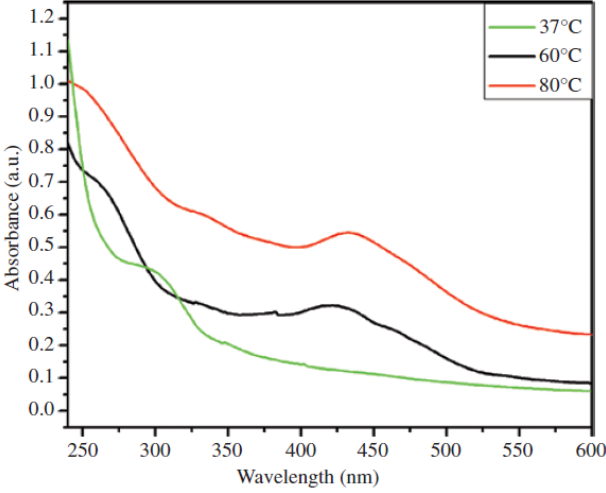
ZnS nanopartiküllerinin biyosentezi, ortam koşulları (oda sıcaklığı) altında UV-görünür spektroskopi kullanılarak incelenmiş. 24 saat boyunca renk, renksiz bir çözeltiden beyazımsı bir çökelti içeren soluk bir çözeltiye doğru bir değişim göstermiş. Her 8 saatte bir alınan periyodik örnekleme, 300 nm'de bir omuz gelişimini göstermiş. Reaksiyon boyunca optik soğurmada artış ve yaklaşık 10 nm'lik hafif kırmızıya kayma meydana gelmiştir. 24 saatin ardından optik soğurmada herhangi bir artış olmamış veya reaksiyonun tamamlandığını gösteren tepe pozisyonunda kayma olmamış. Absorbsiyon spektrumları, Şekil 5'te görülebileceği gibi 310 nm civarında geniş bir eksitonik tepe ortaya çıkarmıştır; 16 saat sonra tiyoglikolat kaplı ZnS nanopartiküllerinin sentezi sırasında benzer bir geniş eksitonik tepe gözlemlenmiştir (Rao & Pennathur, 2016).



Şekil 5. 24 saat boyunca oda sıcaklığında *Chlamydomonas reinhardtii* hücre içermeyen ekstraktı kullanılarak sentezlenen çinko sülfid nanopartiküllerinin UV-görünür spektrumu (Rao & Pennathur, 2016).

Bu pik, bulk malzemeye karşılaştırıldığında önemli ölçüde maviye kaymıştır ve kuantum sınırlama etkileriyle açıklanabilir. Parçacık boyutu küçüldükçe maksimum eksiton absorpsiyonunun dalga boyu (λ_{max}) da azalır. ZnS nanoparçacık sentezi için biyolojik kaynaklardan faydalanan diğer çalışmalar da benzer sonuçlar bildirmiştir. Absorbsiyon piki 325 nm civarında olduğunda parçacık boyutu 4,5 nm ile ilişkilendirilebilir. Boyutu yaklaşık 8 nm olan daha büyük parçacıklar gözlemlenmiş; bu tutarsızlık, parçacık boyutunda bir miktar

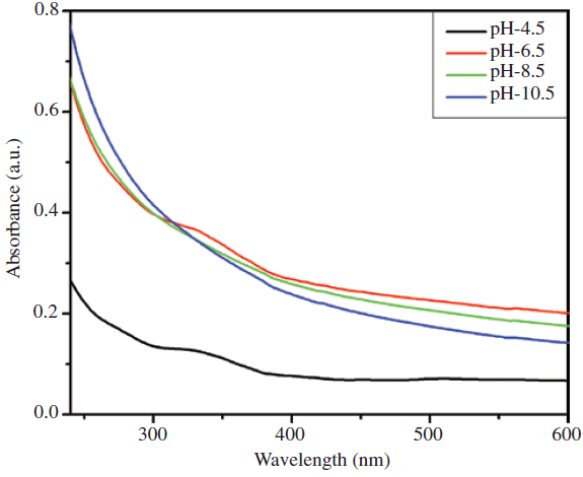
heterojenliği gösteren tepe noktasının genişliği sayesinde açıklanabilir. Sıcaklığın ZnS nanoparçacıklarının sentezi üzerindeki etkisi, Şekil 6'da görüldüğü gibi sıcaklık 80°C'ye kadar değiştirilerek incelenmiştir. 60°C ve 80°C gibi daha yüksek sıcaklıklarda hiçbir karakteristik absorpsiyon tepe noktası gözlemlenmemiş, ancak 280 nm ve 430 nm gözlenmiştir. Bunlar muhtemelen alg hücre ekstraktında mevcut olan alg proteinlerine ve klorofile karşılık gelir (Rao & Pennathur, 2016).



Şekil 6. Sıcaklığın *Chlamydomonas reinhardtii* kullanılarak çinko sülfür nanopartiküllerinin sentezi üzerindeki etkisi (Rao & Pennathur, 2016).

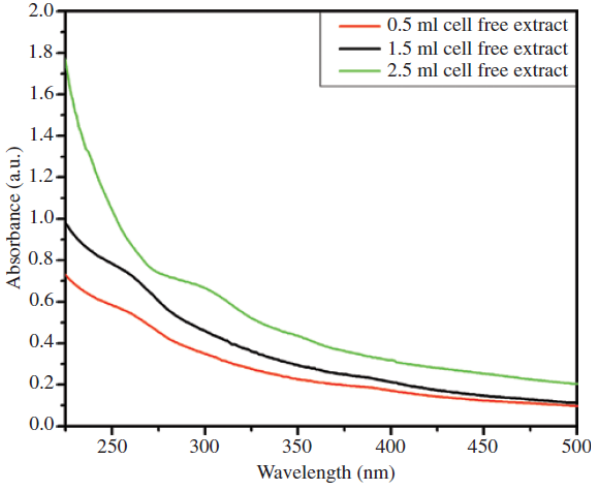
pH 4.5'de, nanopartiküllerin oluşumunu gösteren 325 nm civarında geniş bir tepe noktası gözlenmiş (Şekil 7). Bu nanopartiküllerin boyutunun daha büyük olması kuvvetle muhtemeldir çünkü bu kadar düşük pH değerlerinde, çekirdeklenme yerine topaklanma tercih edilir. Mikroalglerin fizyolojik pH'ı olan 6,5 pH'da, 310 nm civarında güçlü bir optik soğurma piki açıkça gözlenmiştir. Bu pH'ta yüksek miktarda nanopartikül verimi elde edilmiştir. Daha asidik pH'larda önemli miktarda nanopartikül üretilmiştir. Alg proteinleri çekirdeklenme-büyüme süreçlerinde kritik bir rol oynar ve bu pH'ta bir iskele görevi görür ve

nanopartiküllerin boyutunun düzenlenmesine yardımcı olur (Rao & Pennathur, 2016).



Şekil 7. pH'ın *Chlamydomonas reinhardtii* kullanılarak çinko sülfat nanopartiküllerinin sentezi üzerindeki etkisi (Rao & Pennathur, 2016).

Alg hücreleri içermeyen ekstraktın ZnS nanopartiküllerinin sentezindeki etkisi (Şekil 8), ekstraktın konsantrasyonu değiştirilerek incelenmiştir. Bu arada diğer koşullar aşağıdaki gibi muhafaza edilmiştir: pH'ı 6,5 olan çinko sülfat çözeltisi (1 mm), oda sıcaklığı, 0,5 ml ekstrakt kullanıldığında hiçbir ZnS piki gözlenmemiş ancak 285 nm civarında bir pik görülmüştür ve bu ekstraktın bir protein bileşenine karşılık gelir. Ekstraktın konsantrasyonu arttıkça optik soğurma pikinde yaklaşık 290 nm'ye kadar hafif bir kırmızı kayma meydana gelmiş; bu, ZnS nanopartiküllerinin yeni oluşan oluşumunun göstergesi olabilir. Son olarak, 2,5 ml'lik bir konsantrasyon kullanıldığında, 310 nm'de nano-ZnS oluşumuna karşılık gelen belirgin bir pik noktası gözlenmiş; bu pik aynı zamanda bulk materyalden önemli ölçüde maviye kaymıştır ve bu, kuantum sınırlamalarına atfedilebilir (Rao & Pennathur, 2016).



Şekil 8. *Chlamydomonas reinhardtii* hüresiz ekstrakt konsantrasyonunun çinko sülfür nanopartiküllerinin sentezi üzerindeki etkisi (Rao & Pennathur, 2016).

B. Anand ve arkadaşları, *Cucumis sativus* yaprağı ekstresi kullanılarak saf ve biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerini sentezlemişlerdir. Saf ve biyosentezlenmiş ZnS'nin nanopartiküllerin optik absorpsiyonu, UV-Görünür spektroskopisi ile incelenmiştir. *Cucumis sativus* yaprakları Resim 1'de gösterilmektedir (Anand, Muthuvel, Mohana, Selvarani, & Lakshmi, 2018).

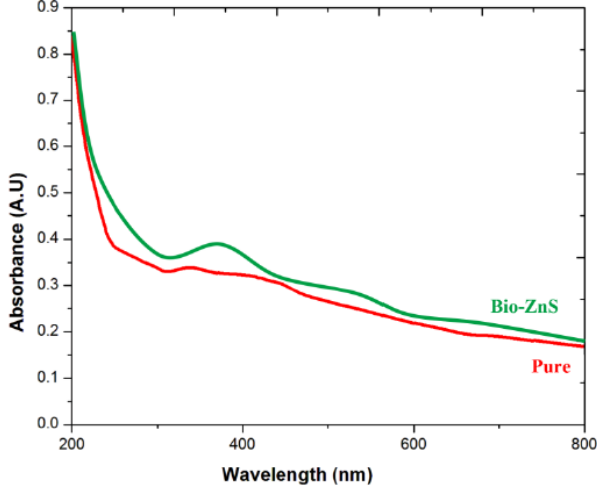


Resim 1. *Cucumis sativus* yaprağının fotoğrafı (Anand et al., 2018).

Elde edilen ZnS numunelerin optik absorpsiyon spektrumları UV-1650 PC SHIMADZU spektrometresi ile kaydedilmiştir.

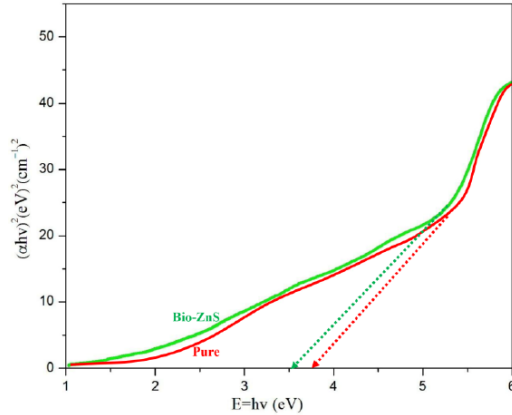
Saf ve Bio-ZnS nanopartiküllerinin optik özellikleri, elde edilen Şekil 9'daki UV-görünür spektrum aracılığıyla incelenmiştir. Optik absorpsiyon aralığı 400 - 800 nm arasındadır. Numuneler UV bölgesinde keskin soğurma kenarlarına sahiptir. Gözlemlenen absorpsiyon kenarı, ZnS atomlarının dahil edilmesiyle 327

nm'den 348 nm'ye yükselirken Bio-ZnS, absorpsiyon pikinin daha büyük dalga boylarına doğru yönelmesine neden olmuştur. Daha sonra *Cucumis sativus* yapraklarının ekstraktı ZnS nanopartikül kolloid çözeltisinin maksimum absorbansı 348 nm'ye düşmüştür. Absorpsiyon kenarının saf pik değerine (327 nm) kıyasla daha uzun dalga boyuna doğru kaydığı bulunmuştur (Anand et al., 2018).



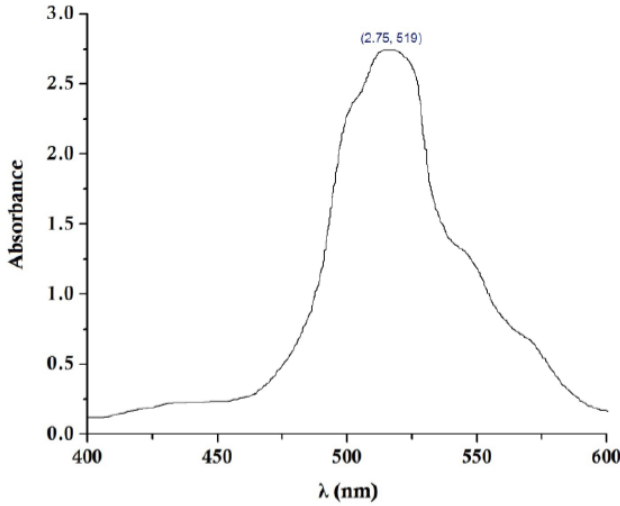
Şekil 9. Saf ve Bio-ZnS nanopartiküllerinin UV-Görünür absorpsiyon spektrumu (Anand et al., 2018).

Saf ZnS için hesaplanan enerji aralığı 3,79 eV olup, *Cucumis sativus* yapraklarının ekstraktı kullanılarak biyosentezlenen ZnS nanopartikülleri için 3,56 eV'ye düşürülmüştür (Şekil 10) (Anand et al., 2018).



Şekil 10. Saf ve Bio-ZnS nanopartiküllerinin bant aralığı enerjisi (Anand et al., 2018).

Sathish Kumar M. ve arkadaşları, *Phyllanthus niruri* ekstraktlarını kullanarak çinko sülfid nanopartiküllerin biyosentezin gerçekleştirmiş ve optik soğurma özelliklerini incelemişlerdir. Sentezlenen ZnS nanopartiküllerinin optik soğurma spektrumları UV-görünür Spektrometre kullanılarak alınmıştır. *Phyllanthus niruri* bitki özü ZnS nanopartiküllerinin UV-görünür analizi Şekil 11'de açıkça gösterilmiştir. Optik soğurma aralığı 400-600 nm arasındadır. Daha sonra *Phyllanthus niruri* bitki ekstraktı ZnS nanopartikül kolloid çözeltisinin maksimum optik soğurması 519 nm'ye düşmüştür. Biyosentezlenen ZnS'de absorbans kenarının daha uzun dalga boyuna doğru kaydığı bulunmuştur (Sathishkumar, Saroja, & Venkatachalam, 2017).

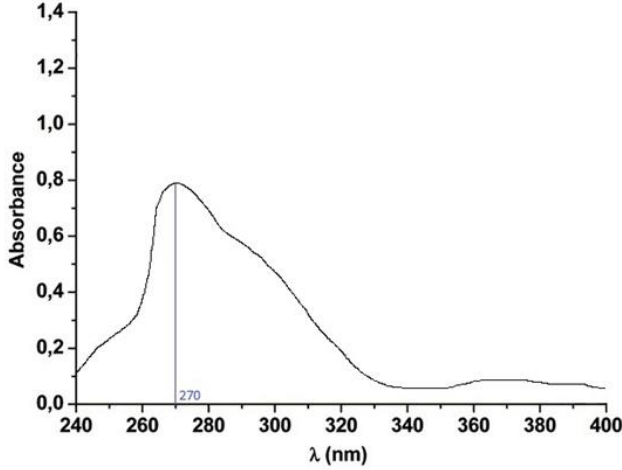


Şekil 11. %20'lik *Phyllanthus niruri* bitkisinin ekstraktını içeren ZnS nanopartiküllerinin UV-Görünür soğurma spektrumu (Sathishkumar, Saroja, & Venkatachalam, 2017).

Sathishkumar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *Tridax procumbens* bitkisinin yapraklarının metanolik ekstraktları Soxhlet yöntemi ile elde edilmiştir. *Tridax procumbens* bitkisinin yaprakları Resim 2'de gösterilmektedir. Bu ekstraktlar kullanılarak ZnSO₄ başlatıcısı ile elde edilen ZnS'nin optik soğurma özellikleri UV-görünür spektroskopisi (UV-Vis) yöntemi kullanılarak çalışılmıştır. UV-görünür spektrometresi kullanılarak elde edilen optik soğurma spektrumu Şekil 12'de verilmektedir. Elde edilen ZnS nanopartiküllerinin partikül boyutu 40 nm olarak belirlenmiştir. Optik soğurma 200 – 400 nm aralığında, maksimum absorpsiyon 270 nm dalga boyunda gözlemlenmiştir (Sathishkumar, Saroja, Venkatachalam, Parthasarathy, & Rajamanickam, 2017).



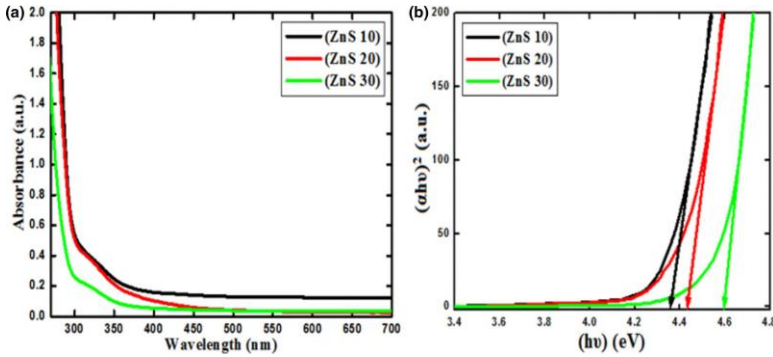
Resim 2. *Tridax procumbens* bitkisi (URL-1)



Şekil 12. *Tridax procumbens* yaprak ekstraktı kullanılarak elde edilen ZnS nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (Sathishkumar, Saroja, Venkatachalam, et al., 2017).

Bisauriya ve arkadaşları tarafından, çinko sülfür nanopartikülleri, ilk kez organik atık muz kabuğu ekstraktından (BPE) yeşil kimyasal yöntemle sentezlenmiş. ZnS NP'leri sentezlemek için çeşitli konsantrasyonlarda BPE (10, 20 ve 30 ml) ile 0.01 M'lik Çinko Klorür ($ZnCl_2$) ve Tiyoüre ($(NH_2)_2CS$) öncüleri kullanılmıştır. Ekstraktların elde edilmesinde çözücü olarak su kullanılmıştır. ZnS nanopartiküllerinin optik soğurma karakterizasyonunda UV-Görünür spektroskopisi (UV-Vis) kullanılmıştır (Bisauriya, Verma, & Goswami, 2018).

Parçacıkların hesaplanan boyutu, ZnS10 numunesi için yaklaşık 12,52 nm, ZnS20 numunesi için 12.11 nm ve ZnS30 numunesi için 9,09 nm'dir. BPE konsantrasyonunu artış ile partikül boyutunun azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen ZnS nanopartiküllerinin optik soğurma spektrumları Şekil 13.a'da verilmektedir. UV-Vis spektrumları değerlendirildiğinde, ZnS20 ve ZnS30 numunelerinde absorpsiyonun daha düşük dalga boyuna doğru kaydığı belirtilmiştir. Yüksek enerjilerde $(\alpha h\nu)^2$ 'ye karşı $(h\nu)$ 'nin doğrusal davranışı, numunelerin doğrudan bant aralığını doğrulamaktadır (ZnS10, ZnS20 ve ZnS30 numuneleri için sırasıyla 4.36, 4.43 ve 4.59 eV). Nanoparçacıklar görünür bölgede güçlü bir lüminesans ve keskin bant kenarları sergilemektedir (Bisauriya et al., 2018).

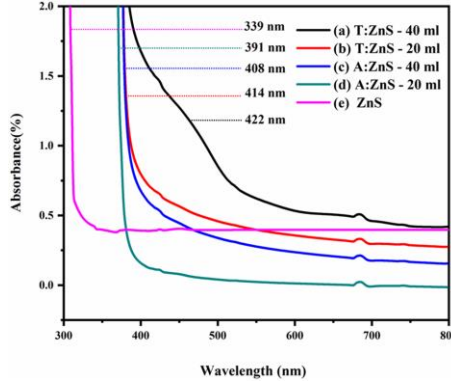


Şekil 13.(a) ZnS10, ZnS20 ve ZnS30 numuneleri için UV-Vis spektrumları ve (b) Tauc grafiği.11. makale (Bisauriya et al., 2018).

Uv-görünür spektrometresi yardımıyla kaydedilen optik soğurma spektrumları (Şekil 2.13.a) kullanılarak Tauc eğrileri elde edilmiş ve ZnS nanopartiküllerinin enerji aralıkları belirlenmiştir (Şekil 13.b) (Bisauriya et al., 2018).

Kannan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada *Acalypha indica* (A) and *Tridax procumbens* (T) bitkilerinin metanol çözücüsü kullanılarak Soxhlet ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının ZnSO₄ ile reaksiyonundan elde edilen nanopartiküllerin optik soğurma özelliklerinin karakterizasyonunda UV-Görünür spektroskopisi (UV-Vis) kullanmışlardır. Çözücü miktarı değiştirilerek (20 mL ve 40 mL) 4 farklı numune elde edilmiştir (ZnS/A 20 mL, ZnS/A 40 mL, ZnS/T 20 mL ve ZnS/T 40 mL NPs). ZnS/A 20 mL, ZnS/A 40 mL, ZnS/T 20 mL ve ZnS/T 40 mL nanopartiküllerinin boyutları 22 nm, 23 nm, 19 nm ve 30 nm olarak hesaplanmıştır. Hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin absorbans spektrumları, Şekil 14'te gösterildiği gibi 300 ila 800 nm dalga boyu

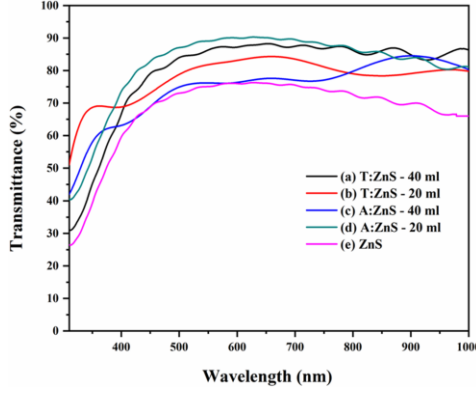
aralığında incelenmiştir. 300-450 nm aralığında güçlü absorpsiyon tepe noktaları bulunmuştur. ZnS/A 20 mL, ZnS/A 40 mL, ZnS/T 20 mL ve ZnS/T 40 mL nanopartiküllerin absorpsiyon piklerinin spektrumları sırasıyla 391 nm, 408 nm, 414 nm ve 422 nm olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, valans bandından iletim bandına elektron uyarımı nedeniyle bitki ekstraktı konsantrasyonunun artırılmasıyla absorpsiyon tepe noktalarının daha yüksek dalga boyuna doğru kırmızıya kaydığı rapor edilmiştir (Kannan, Subiramaniam, & Sathishkumar, 2020).



Şekil 14. ZnS/A:ZnS/T:ZnS nanopartiküllerinin optik soğurma spektrumları (Kannan et al., 2020)

Ayrıca, hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin optik geçirgenliği 300–1000 nm dalga boyu aralığında ölçülmüştür (Şekil 15). ZnS/A 20 mL, ZnS/A 40 mL, ZnS/T 20 mL ve ZnS/T 40 mL nanopartiküllerinin optik geçirgenliği 68%, 83%, 80%, 82%, ve 85% olarak belirlenmiştir. Bitki ekstraktı konsantrasyonu arttıkça optik geçirgenlik artmaktadır. Bunun nedeni ZnS'nin serbest elektron ve boşluk soğurma etkisidir. ZnS/A 20 mL, ZnS/A 40 mL, ZnS/T 20 mL ve ZnS/T 40 mL nanopartiküllerinin hesaplanan bant aralığı enerjisi sırasıyla, 3,36 eV, 3,25 eV, 3,16 eV, 3,09 eV, ve 2,97 eV'dir. Bu sonuca göre T:ZnS- 40 ml, daha yüksek dalga boyu absorpsiyonu nedeniyle diğer ZnS nanopartikülleri ile karşılaştırıldığında düşük bant aralığı enerjisi sergilemektedir. Ayrıca bitki ekstraktı konsantrasyonu arttıkça ZnS bant aralığı değeri de artmaktadır; bu muhtemelen faz morfolojisindeki değişiklik ve artan parçacık boyutu ve muhtemelen tanelerin büyümesi ve görünür bölgedeki dalga boyunun en yakın bant kenarındaki kusur durumlarının azalması nedeniyle oluşan bant aralığının kırmızıya kaymasından kaynaklanmaktadır. Bant aralığı enerjisindeki azalmaya bağlı olarak ZnS/T 40 mL nanopartikülünün fotokatalizör etkinliği açısından

diğer nanopartiküllere göre daha uygun olduğu görülmüştür (Kannan et al., 2020).



Şekil 15. ZnS/A:ZnS/T:ZnS nanopartiküllerinin optik geçirgenlik spektrumları (Kannan et al., 2020)

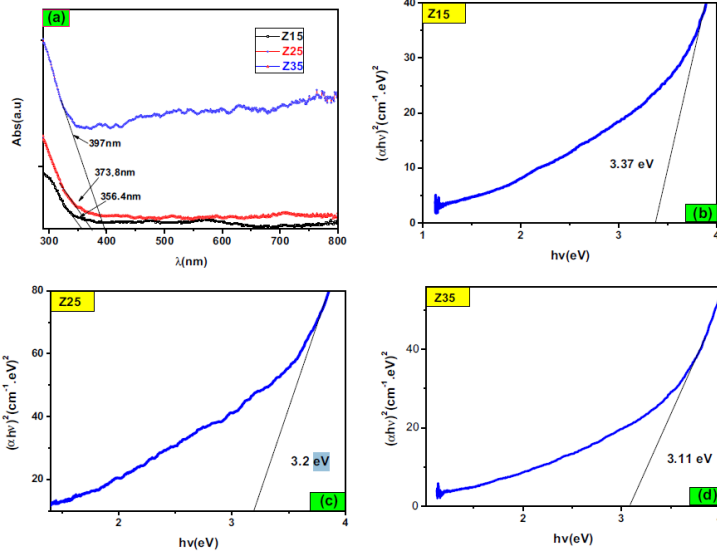
Al-Sharabi ve arkadaşları *Nigella Sativa* tohumlarının (çörek otu) ekstraktlarını farklı miktarlarda kullanarak 15 mL 25 mL ve 35 mL kullanarak, toz X-ışını kırınımı yöntemi ile ortalama partikül boyutunun 2,70 nm, 2,72 nm ve 3,02 nm olarak hesaplandığı üç ZnS nanopartikülü elde etmişlerdir. Çörek otu Resim 3'te verilmiştir. FESEM sonuçlarına göre 35 mL çörek otu ekstraktının kullanıldığı nanopartikülün boyut aralığının 9-20 nm olduğunu ve yarı küresel bir şekle sahip olduğunu göstermektedir (Al-Sharabi, Alnehia, Al-Hammadi, Alhumaidha, & AL-Osta, 2022).



Resim 3. Çörekotu (URL-2).

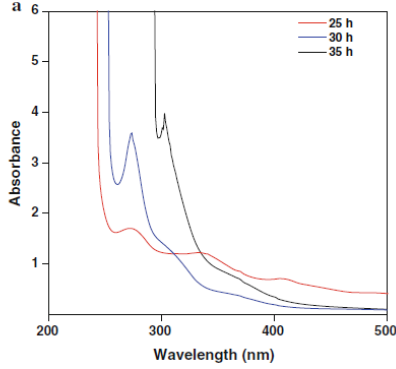
Yapılan çalışmada, elde edilen ZnS nanopartiküllerinin optik soğurma spektrumları UV-görünür spektrometresi yardımıyla kaydedilmiş ve bu

spektrumlar kullanılarak Tauc yöntemine bağlı olarak enerji bant aralıklarının hesaplanan değerleri, 15, 25 ve 35 mL ekstrakt konsantrasyonları için sırasıyla 3,37, 3,20 ve 3,11 eV olarak bulunmuştur (Şekil 16.a-d). Ekstrakt konsantrasyonları arttıkça nanopartiküllerin enerji bant aralığının azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca ekstrakt konsantrasyonu arttıkça ortalama kristal boyutunun arttığını ve optik enerji açığı azaldığı belirlenmiştir. Optik sonuçlar hazırlanan malzemelerin optoelektronik uygulamalarda kullanılmaya aday nanopartiküller olduğunu göstermektedir (Al-Sharabi et al., 2022).



Şekil 16. Üç ZnS numunesinin absorpsiyon spektrumları (a) ve Tauc grafiği (b,c ve d) (Al-Sharabi et al., 2022)

Hudlikar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Jatropha curcas* L. ekstraktlarından hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin optik soğurma spektrumları UV-görünür spektroskopisi kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 17). ZnS nanopartiküllerinin UV-görünür spektrumları 25, 30 ve 35 saatlik farklı zaman aralıklarında alınmıştır. Ortalama partikül boyutunun 10 nm olduğu X-ışını kırınımı yöntemi ve TEM analizi sonuçları ile belirlenmiştir. UV-Vis spektrumları incelendiğinde farklı reaksiyon sürelerinde numunelerin mükemmel optik özellikler sergilediği belirlenmiştir. Farklı reaksiyon sürelerinde elde edilen ZnS'nin UV-görünür absorpsiyon spektrumları 30. ve 35. saatlerde absorpsiyon pikleri büyük maviye kayma ve güçlü şiddet göstermektedir. Bununla birlikte, 25. saatte absorpsiyon piklerinin şiddetinin 30. ve 35. saatlerde olduğundan daha zayıf olduğu vurgulanmıştır (Hudlikar, Joglekar, Dhaygude, & Kodam, 2012).

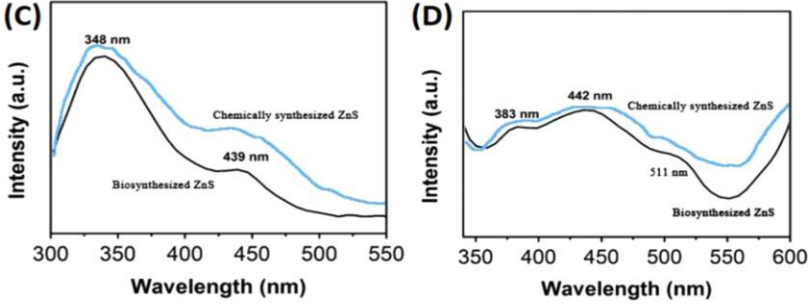


Şekil 17. ZnS nanoparçacıklarının farklı reaksiyon sürelerinde UV-görünür spektrumları (Hudlikar et al., 2012).

3. Farklı Başlatıcı ve Ekstraktlara Bağlı Olarak ZnS Nanoparçacıklarının Fotolüminesans Özellikleri

Jinfeng Chen ve arkadaşları, indirgeyici ve stabilizatör olarak *Corymbia citriodora* yaprak ekstraktı kullanarak sentzedikleri ZnS nanopartiküllerinin fotolüminesans (PL) emisyon eğrilerini 280 nm ve 325 nm'lik uyarma dalga boylarında hücre içi numune kullanılarak bir floresans spektrofotometresi ile elde etmişlerdir. Emisyon spektrumları 300 ila 600 nm arasında kaydedilmiştir. 280 nm ve 325 nm uyarma dalga boylarında biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin fotolüminesans spektrumları sırasıyla Şekil 18C ve D'de gösterilmiştir. Spektrum kuantum sınırlama etkilerini göstermiştir. λ 280 nm uyarda 300 ila 600 nm arasında kaydedilen emisyon spektrumu, 348 nm ve 439 nm'de ikili maksimum gösterirken, λ 325 nm'de 383 nm, 442 nm ve 511 nm'de izomerik formların varlığına işaret eden üç tepe göstermiştir. Biyosentezlenmiş ZnS nanoparçacıklarının, kimyasal olarak sentezlenmiş ZnS nanoparçacıklarından biraz daha düşük fotolüminesans şiddetine sahip olduğu da

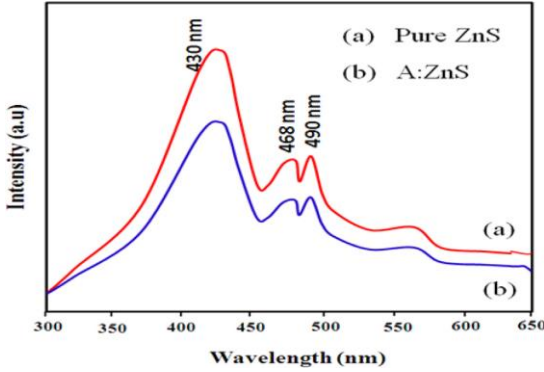
gözlemlenmiş; bu, biyosentezlenmiş ZnS'nin üstün bir elektron-delik çifti rekombinasyon özelliğine sahip olduğuna atfedilmiştir (J. Chen et al., 2016a).



Şekil 18. Uyarılma dalga boyuna dayalı kimyasal olarak sentezlenmiş ZnS ve biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin fotoluminesans spektrumları (C) 280 nm ve (D) 325 nm (J. Chen, Hu, & Zhi, 2016b).

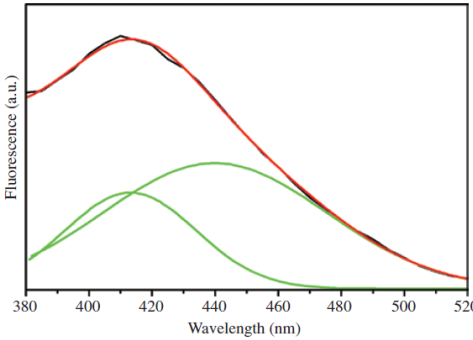
S. Kannan ve arkadaşları, *Acalypha indica* bitkisinden elde edilen ekstraktı kullanarak sentezledikleri ZnS nanopartiküllerinin elde ettikleri fotoluminesans spektrumları Şekil 19'de verilmektedir. Şekil 2.2'deki spektrumların elde edilmesi için kullanılan uyarılma dalga boyu 340 nm'dir. PL emisyon spektrumu, 400-500 nm emisyon bandı bölgesinde 430, 468 ve 490 nm'de üç emisyon pikleri göstermiştir ve 430 nm emisyon piki ZnS'ye en yakın bant emisyonu olarak değerlendirilmiştir. 465 ve 495 nm'deki mavi ışımalar çinko boşluklarıyla elektron etkileşimleri neden olur. Bu boşluklara, tavlama işlemi sırasında yetersiz çinko, sıralı kristalizasyon ve ZnS boşlukları ve boşluklar dahil olmak üzere bir takım nedenler neden olabilir. Biyosentezlenmiş ZnS numunelerini saf ZnS numuneleriyle karşılaştırırken tüm emisyon tepe yoğunluklarının azaldığı keşfedilmiştir (Kannan, Sathishkumar, et al., 2022).

Genel olarak Düşük PL emisyonu genellikle uyarılmış elektronların ve deliklerin daha az rekombinasyonunu sağlar, bu da yüksek sayıda $\cdot\text{OH}$ radikalinin oluşmasına olanak tanır ve bu da ışık kaynağı tarafından kirletici maddelerin uzaklaştırılması için fotokatalitik performansı artırır.



Şekil 19. ZnS/A:ZnS nanopartiküllerinin PL (fotoluminesans) analizi (Kannan, Sathishkumar, et al., 2022).

M. Divya Rao ve Gautam Pennathur, *Chlamydomonas reinhardtii*'nin hücre içermeyen ekstraktını kullanarak elde ettikleri yarı iletken çinko sülfür (ZnS) nanopartiküllerinin floresan özelliklerini PL spektroskopisinde 325 nm uyarma dalga boyu kullanarak belirlemişlerdir. İki floresans piki gözlenmiş; Şekil 20'de görüldüğü gibi 410 nm'de geniş bir pik noktası ve 431 nm'de bir omuz tepe noktası görülmektedir. 410 nm'deki tepe noktası kükürt boşluğu ile ilgili donör ile değerlik bandı arasındaki rekombinasyona atfedilebilirken, 430 nm'deki tepe noktası kusurla ilgili emisyonlardan, özellikle de çinko ile ilgili boş pozisyonlardan kaynaklanıyor olabilir (Rao & Pennathur, 2016).



Şekil 20. Oda sıcaklığında 325 nm'de uyarılan sulu çinko sülfür nanopartiküllerinden elde edilen floresans spektrumu (Rao & Pennathur, 2016).

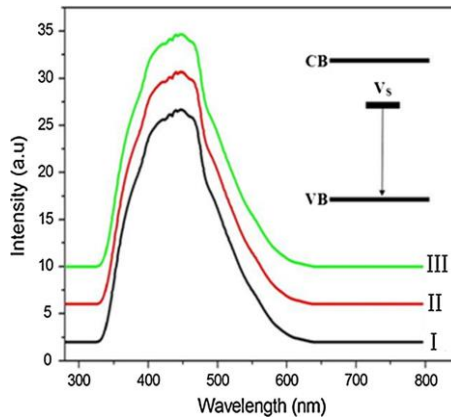
Senapati ve Sarkar, *Elaeocarpus floribundus* (Hint zeytini) yaprağının sulu ekstraktını kullanarak çinko sülfür (ZnS) nanoparçacıklarının sentezi için çevre

dostu bir yöntem rapor etmişlerdir. *Elaeocarpus floribundus* (Hint zeytini) yaprağı Resim 3'te gösterilmektedir. *Elaeocarpus floribundus* (Hint zeytini) yapraklarının sulu ekstraktı içerisinde $ZnCl_2$ ve Na_2S eklenerek elde edilen ZnS nanopartiküllerinin fotoluminesans özelliklerini çalışmışlardır. Elde edilen üç kübik ZnS'nin 20 nm partikül boyutuna sahip olduğu belirlenmiştir (Senapati & Sarkar, 2015).



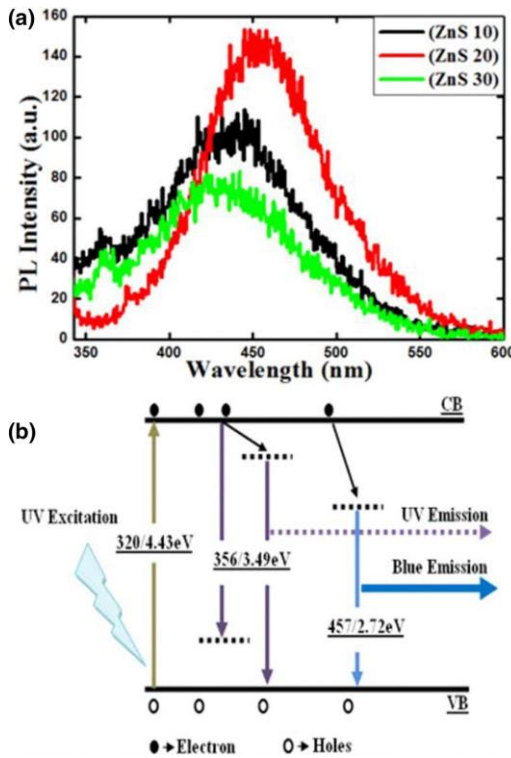
Resim 3. *E. floribundus* yaprakları (a) ve onun su ile elde edilen ekstraktı (b) (Senapati & Sarkar, 2015)

Fotoluminesans spektrumları, ZnS'yi fotonik malzeme olarak anlamak ve optik özellikleri değerlendirmek için etkili bir araçtır. ZnS nanopartiküllerinin oda sıcaklığında fotoluminesans spektrumları Şekil 21'de gösterilmektedir. Numunelerin uyarılma dalga boyu 260 nm'dir. Spektrum, yaklaşık 440 nm'de geniş bir tepe noktası göstermektedir. Mevcut çalışmada gözlemlenen 440 nm'deki pik, kükürt boşluklarına, yani kükürt boşluğundaki elektronların valans bandındaki deliklerle rekombinasyonuna atfedilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ZnS nanopartiküllerinin iyi bir fotodedektör adayı olabileceğini göstermektedir (Senapati & Sarkar, 2015).



Şekil 21. Üç ZnS numunesinin PL spektrumları (Senapati & Sarkar, 2015).

Bisauriya ve arkadaşları, organik atık muz kabuğu ekstraktından (BPE) yeşil kimyasal yöntemle sentezledikleri çinko sülfür (ZnS) nanopartiküllerinin fotoluminesans özelliklerini fotoluminesans spektrofotometresi kullanarak çalışmışlardır. ZnS10, ZnS20 ve ZnS30 numuneleri Şekil 22.a'da gösterilen görünür bölgede güçlü fotoluminesans davranışı sergilemektedir. 360 nm'de görülen küçük bir tepe, kükürt boşluğu donör seviyesindeki (iletim bandı) elektronun, çinko boşluğu alıcısı seviyesinde (valans bandı) sıkışan delik ile rekombinasyonuna atfedilmektedir. 430 nm'de ortaya çıkan geniş tepe noktası mavi emisyon bölgesinde olup ZnS'nin tuzak durumu emisyonundan kaynaklanmaktadır (Bisauriya et al., 2018).

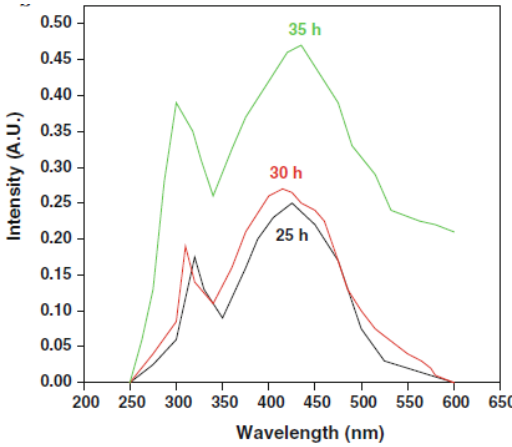


Şekil 22. (a) ZnS nanopartiküllerinin fotoluminesans spektrumları, (b) ZnS nanopartiküllerinin enerji seviyeleri arasındaki elektronik geçişler (Bisauriya et al., 2018).

Kannan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada *Acalypha indica* (A) and *Tridax procumbens* (T) bitkilerinin metanol çözücüsü kullanılarak Soxhlet ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının ZnSO₄ ile reaksiyonunu

sonucunda ortaya çıkan nanopartiküllerin fotolüminesans özelliklerini fotolüminesans spektroskopisi kullanarak araştırmışlardır. Fotolüminesans spektroskopisi, numunelerin yüzey kusurlarını, safsızlıklarını ve enerji bantlarını uygulamak ve keşfetmek için çok önemlidir. Ayrıca elektron-delik çiftlerinin rekombinasyon sürecinin belirlenmesinde de yararlı bir yöntem olabilir. Elde edilen ZnS/A:ZnS/T:ZnS nanopartiküllerinin fotolüminesans spektrumu oda sıcaklığında 300-700 nm dalga boyu aralığında ve 338 nm uyarılma dalga boyunda kaydedilmiştir. ZnS/A 20 mL, ZnS/A 40 mL, ZnS/T 20 mL ve ZnS/T 40 mL nanopartikülleri için sırasıyla 415 nm, 421 nm, 495 nm ve 576 nm'de ortalananmış dört emisyon zirvesi içeren fotolüminesans spektrumu gözlemlenmiştir. Bu sonuçtan, saf ZnS nanopartiküllerinin fotolüminesans spektrumun, bitki ekstraktı kaplı ZnS ile karşılaştırıldığında zayıf yoğunluk göstermektedir. Buradan bitki ekstraktının ZnS kristallerinin yüzey özelliklerini etkilediği sonucuna varılmıştır. 415 nm'de görülen yüksek yoğunluklu emisyon zirvesi (saf ZnS) kristallerinin içsel emisyonundan kaynaklanıyordu. Ayrıca, yeşil emisyon bölgesinde, kükürt kaynaklarının yeniden birleşmesi nedeniyle ZnS kristalindeki kusura atfedilebilecek geniş bir tepe noktası bulunmadığı belirlenmiştir. A:ZnS/T:ZnS nanoparçacıkları için geniş ve güçlü yeşil emisyon zirveleri, 576 nm'de bulunan baskın yeşil emisyon zirvesini göstermektedir ki bu, kükürt boşlukları enerji seviyesinden elektronun çinko boşluklarından gelen deliklerle rekombinasyonuna karşılık gelmektedir (Kannan et al., 2020).

Hudlikar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Jatropha curcas* L. ekstraktlarından hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin fotolüminesans spektrumları fotolüminesans spektroskopisi kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 23). ZnS'nin fotolüminesans spektrumu da farklı reaksiyon sürelerinde elde edilmiştir. 276 nm uyarılma dalgaboyu altında bütün grafikler 315 ve 425 nm'de ortalananmış iki tepe noktası içermektedir. 425 nm'de ortalananmış geniş bir tepe noktasının görünümü, kafes içindeki kükürt boşluklarının varlığına atfedilmiştir. Bu emisyon, fotojenlenmiş yük taşıyıcılarının sığ tuzaklarda rekombinasyonundan kaynaklandığı ve 315 nm'de ortalanan diğer tepenin nanokristalin ZnS'nin banttan banta geçişinden kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Hudlikar et al., 2012).



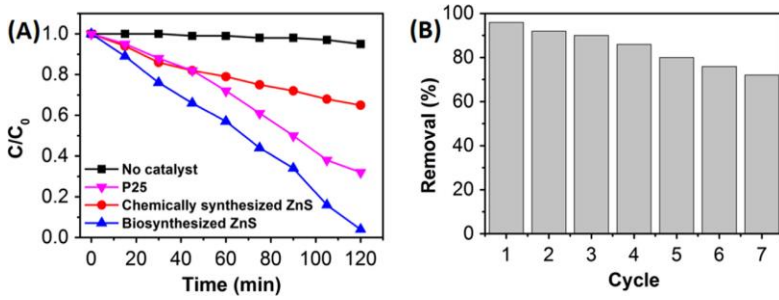
Şekil 23. Farklı reaksiyon sürelerinde, 276 nm uyarma dalga boyuna altında ZnS nanopartiküllerinin fotoluminesans spektrumları (Hudlikar et al., 2012).

4. Farklı Başlatıcı ve Ekstraktlara Bağlı Olarak ZnS Nanoparçacıklarının Katalitik Özellikleri

Jinfeng Chen ve arkadaşları, ZnS nanopartiküllerini, indirgeyici ve stabilizatör olarak *Corymbia citriodora* yaprak ekstraktı kullanarak yeşil ve basit bir yöntemle biyosentezlemişlerdir. Biyosentezlenen ZnS nanopartikülleri, 325 nm'de bir yüzey plazmon rezonans bandı ile 45 nm boyut aralığındadır. Jinfeng Chen ve arkadaşları, ZnS nanopartiküllerinin fotokatalitik aktivitesini, UV ışınlanması altında metilen mavisinin bozunmasıyla araştırmışlardır. Biyosentezlenmiş ZnS nanopartikülleri, daha küçük boyutu ve mükemmel dispersitesi nedeniyle, kimyasal sentezli ZnS nanopartikülleriyle karşılaştırıldığında üstün bir fotokatalitik performans göstermiştir (J. Chen et al., 2016b).

Jinfeng Chen ve arkadaşları tarafından, biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin fotokatalitik aktivitesini araştırmak için, kimyasal olarak sentezlenmiş ZnS nanopartikülünü ve P25'i (ticari olarak temin edilebilen TiO₂ nanopartiküllerini) kontrol grupları olarak kullanmışlar. Şekil 24(A), biyosentezlenmiş ZnS, kimyasal olarak sentezlenmiş ZnS ve P25 ile UV ışık aydınlatması altında MB moleküllerinin 2 saat boyunca bozunma profillerini göstermektedir. UV aydınlatma altında herhangi bir bozulmanın meydana gelip gelmediğini kontrol etmek için ilk olarak MB çözeltisine herhangi bir katalizör eklenmeden başka bir kontrol deneyi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar MB konsantrasyonunun 2 saatlik UV ışınlanmasından sonra yaklaşık %5 azaldığını

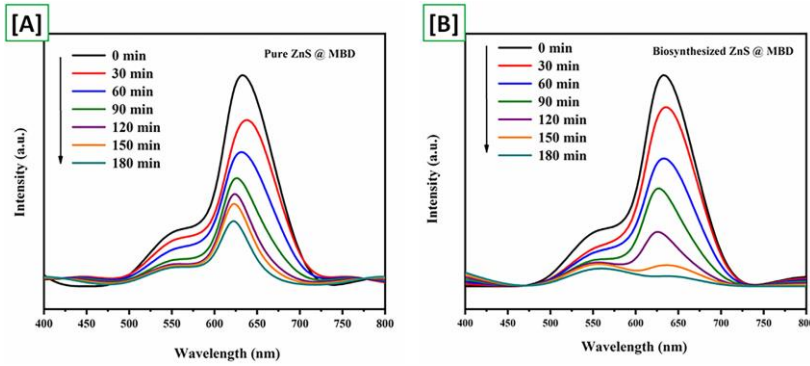
göstermektedir. Öte yandan biyosentezlenmiş ZnS, kimyasal olarak sentezlenmiş ZnS ve P25'in tümü MB fotobozunmasına karşı pozitif performans göstermektedir. Bunlar arasında, biyosentezlenmiş ZnS, 2 saatlik UV ışınımı boyunca MB'nin %96'sını bozabilen en iyi fotokatalitik aktivite performansını sergilemiştir. Bu kadar yüksek fotokatalitik performansın olası nedeni, nanopartikül toplanmasını önlemek için yüzey yükü sağlayan ZnS nanopartikül yüzeyindeki biyomoleküllere atfedilmiştir. Ayrıca biyomoleküller, fotodegradasyon sürecini kolaylaştıran biyomoleküllerin MB molekül kompleksini oluşturmak için bağlantı noktaları olarak da görev yapabilir. Biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin yeniden kullanılabilirlik çalışması yedi döngü boyunca yapılmış. Sonuçlar, biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin fotodegradasyon oranının her döngüden sonra biraz azaldığını göstermiştir. Biyosentezlenen ZnS nanopartikülleri, yedi döngüde fotokatalitik aktivitesinin %70'inden fazlasını korumuştur (J. Chen et al., 2016b).



Şekil 24. (A) Kimyasal olarak sentezlenmiş ZnS nanopartikülünün, biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin ve P25'in fotodegradasyon profilleri, (B) Biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin geri dönüşüm testleri (J. Chen et al., 2016b).

S. Kannan ve arkadaşları, çinko sülfid nanopartiküllerini (ZnS NP'ler) *Tridax procumbens*'in bitki ekstraktlarını kullanılarak sentezleyip fotokatalitik özelliklerini incelemek için çalışma yapmışlardır. Fotokatalitik deney setinde, görünür ışık kaynağı olarak yaklaşık 495 nm'de maksimum emisyonu sahip 500W'lık bir Xenon lamba (Elektrikli Işık Kaynağı Enstitüsü, Pekin) kullanılmış. Fotokatalitik reaktör, özel olarak tasarlanmış kuvars cam silindirden (30 cm genişlik ve 40 cm yükseklik) oluşur. Tipik bir fotokatalitik deneyde, 10 mg fotokatalist tozu bir Pyrex reaktöründe 100 ml metilen mavisi boya çözeltisi (2 mg/l) içinde dağıtılmış. Işınlamadan önce süspansiyon, boya ve katalizör tozları arasındaki absorpsiyon-desorpsiyon dengesine ulaşmak için karanlıkta 1 saat boyunca manyetik olarak karıştırılmış. Görünür ışık ışınlama süresi, 30 dakikalık düzenli aralıklarla değiştirilmiş (0, 30, 60...0.180 dakika). Metilen mavisi boya

konsantrasyonu sırasıyla 621 nm dalga boylarındaki absorbanstan belirlenmiş. Metilen mavisi boyasının bozunması, başlangıç (C_0) ve son (C_t) konsantrasyonunun oranı kullanılarak hesaplanmıştır. Şekil 25(a-b), metilen mavisi boyası kullanılarak hem saf hem de biyosentezlenmiş ZnS katalizörünün UV absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Boya bozunma verimliliğini değerlendirmek için karakterizasyon piki olarak 621 nm'lik pik seçilmiş ve görünür ışığın değişimi, 30 dakikalık düzenli aralıklarla 0 ila 180 dakika olarak belirlenmiştir. Işık aydınlatma süresinin artmasıyla birlikte metilen mavisi boyasının absorpsiyon şiddetinin giderek azaldığı açıkça görülmektedir (Kannan, Subiramaniyam, et al., 2022).



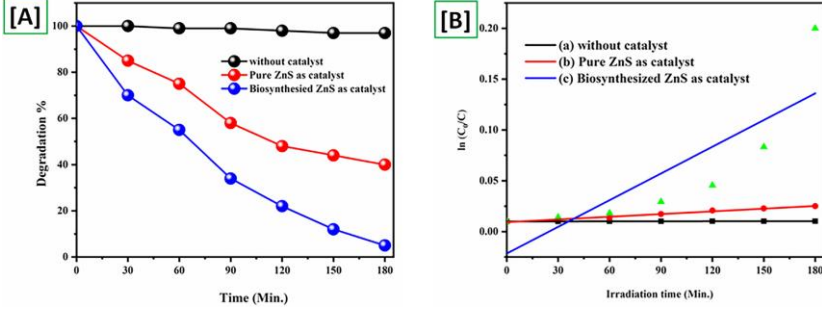
Şekil 25. (A) Saf ZnS nanopartiküllerinin, (B) Metilen mavisi boyası için biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin UV soğurma spektrumları (Kannan, Subiramaniyam, et al., 2022).

180 dakikalık testten sonra biyosentezlenmiş ZnS katalizörünün absorpsiyon ş

iddeti, saf ZnS katalizör tozuna kıyasla neredeyse yok olmuştur (Kannan, Subiramaniyam, et al., 2022).

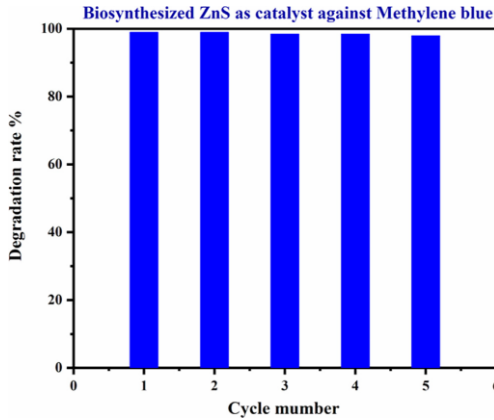
Dolayısıyla biyosentezlenen ZnS katalizörünün görünür ışık altında daha fazla fotoaktif madde sergilediği sonucuna varılmış. Bozunma verimliliği, aynı deney koşulları altında tüm katalizörler tarafından ayrıca değerlendirilmiştir. Şekil 26(a), görünür ışık aydınlatması altında tüm katalizörün zamansal bozunma profilini göstermektedir. Renklendirme verimliliğinin ortadan kaldırılması, aydınlatma süresinin artmasıyla birlikte kademeli olarak artmıştır. 180 dakikalık testten sonra bozunma verimliliğinin saf ZnS ve biyosentezlenmiş ZnS katalizör örnekleri için sırasıyla %74 ve %99 olduğu bulunmuştur. Genel sonuçlar, biyosentezlenmiş ZnS katalizörünün görünür ışık ışınımı altında metilen mavisi boyasına karşı üstün fotokatalitik performans sergilediğini göstermektedir. Bunun nedeni ZnS nanoparçacıkları ile bitki ekstraktı arasındaki, görünür ışık soğurulması altında oluşturulan hızlı fotoelektronları oluşturan gelişmiş yapısal ve optik özelliklerden

kaynaklanabilir. Ayrıca, saf ZnS ve biyosentezlenmiş ZnS katalizör tozu kullanılarak metilen mavisi boya çözeltilerinin bozunmasındaki kinetik hızı belirlemek için sahte birinci dereceden modelin kinetik modelleri test edilmiştir (Kannan, Subiramaniyam, et al., 2022).



Şekil 26. (A) Hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin bozunma verimliliği, (B) Hazırlanan ZnS nanopartiküllerinin kinetik modeli (Kannan, Subiramaniyam, et al., 2022).

Zamana karşılık (C_0/C) çizimi Şekil 26(b)'de gösterilmektedir. Zamana karşılık (C_0/C) çiziminin doğrusal ilişkisi boyanın fotodegradasyonunun sözde birinci dereceden kinetiğe uyduğunu gösterir. Elde edilen hız sabitleri, biyosentezlenmiş ZnS katalizörünün, saf ZnS örneklerinden dört kat daha hızlı olduğunu açıkça göstermektedir. Kararlılık (stabilite) testi, fotokatalistin pratik kullanımında önemli parametrelerden biridir. Biyosentezlenmiş ZnS katalizörünün bozunma etkinliği 5 döngü boyunca test edilmiş (Şekil 27). Sonuçlar yüksek kararlılık göstermektedir. 5 döngü segmentinden sonra bozunma verimliliği %99'dan %97'ye düşmüştür (Kannan, Subiramaniyam, et al., 2022).



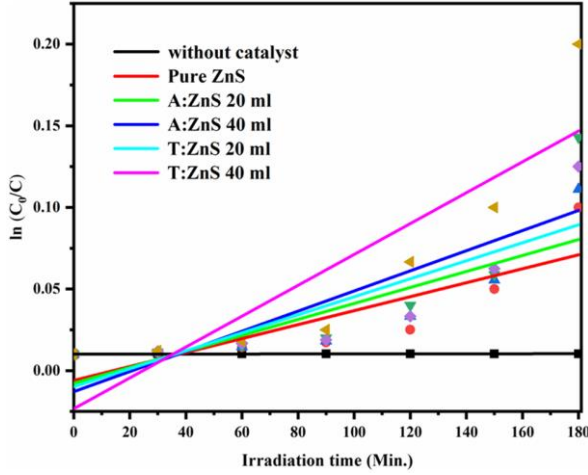
Şekil 27. Beş döngü için biyosentezlenmiş ZnS katalizörü için stabilite testi .

Stabilite testindeki küçük değişiklik (%2) ayrıca biyosentezlenen ZnS numunelerinin yüksek fotokatalitik performansını doğrulamaktadır. Görünür ışık altında ZnS fotokatalistinin fotokatalitik mekanizması, değerlik bandından iletim bandına görünür ışık ışınlama elektronunun (e^-) varlığı, ZnS'nin değerlik bandında geride bir delik (h^+) bırakmasıdır. Işıkla indüklenen delik, ZnS yüzeyinde adsorbe edilen bir donör molekülünü (D) oksitleyebilir. Benzer şekilde iletim bandındaki elektron, bir alıcı molekülü (A) yoğunlaştırabilir. Deliğin güçlü oksidasyon gücü, suyla tek elektronlu oksidasyon adımının bir hidroksil radikali ($*OH$) oluşturmaya olanak tanır. Ayrıca, oksijen bir elektron alıcısı olarak görev yapabilir ve iletim bandındaki yükseltilmiş elektron tarafından indirgenerek bir süperoksit iyonu ($*O_2^-$) oluşturabilir. Süperoksit iyonu, organik kirleticileri oksitleyebilen oldukça reaktif bir parçacıktır. Genel fotokatalitik sonuçlar, biyosentezlenmiş ZnS katalizörünün yüksek verimlilik ve stabilite sergilediğini göstermektedir. Bunun nedeni, yüzey arasında daha uzun temas sağlayan yüksek yüzey alanı ve görünür ışık altında boyanın ışık soğurma yeteneği olabilir. Numunenin bant aralığı enerjisinin azaltılması, elektron-delik rekombinasyon sürecinin önlenmesine yardımcı olacağı için verimliliği arttırmada bir diğer önemli faktördür (Kannan, Subiramaniam, et al., 2022).

S. Kannan ve arkadaşları, çinko sülfid nanopartiküllerini (ZnS NP'ler) *Tridax procumbens*'in bitki ekstraktlarını kullanılarak sentezleyip fotokatalitik özelliklerini incelemek için yaptıkları çalışmada, saf ve biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin metilen mavisi boya bozunması (MBD) için fotokatalitik aktivitesini incelenmişler. Sonuçlar, *Acalypha indica* bitki özütünün aracılık ettiği ZnS (A:ZnS) nanopartiküllerinin, saf ZnS ile karşılaştırıldığında mükemmel foto bozunma verimliliği (%99) sergilediğini ortaya koymaktadır. Bu, biyosentezlenmiş ZnS nanopartiküllerinin daha dar bant aralığı enerjisinin ve gelişmiş kristal boyutunun, saf ZnS'ye göre daha yüksek boya bozunma verimliliği sergilediğini göstermektedir (Kannan, Sathishkumar, et al., 2022).

Kannan ve arkadaşları *Acalypha indica* (A) and *Tridax procumbens* (T) bitkilerini ve metanol çözücüsünü kullanarak Soxhlet ekstraksiyonu yöntemi ile elde ettikleri ekstraktların $ZnSO_4$ ile reaksiyonunu sonucunda elde ettikleri ZnS nanopartiküllerin katalitik özelliklerini çalışmışlardır. Çalışmada bitki ekstraktı konsantrasyonunun nanopartiküllere etkisi yapısal ve optik davranışı olumlu yönde etkilediği ve bu sonuçlara göre nanopartiküllerin görünür ışık altında fotokatalitik etkinliğin zamana bağlı olarak arttığını desteklemektedir. ZnS/A:ZnS/T:ZnS nanopartiküllerinin metilen mavisi boyası için mükemmel fotodegradasyon verimliliğine sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 28). Bu araştırmada, 1,0 mg T:ZnS-40 ml nanopartiküllerinin 180 dakikalık görünür ışık

ışınlaması altında metilen mavisi boya bozunması için mükemmel verimlilik (%98) sergilediği tespit edilmiştir ve bu saf ZnS'den iki kat daha iyidir. Bu nedenle, bu yeni yeşil sentez süreci, atık su arıtımında doğal dirençli kirleticileri ortadan kaldırmak için ve verimli fotokatalizörler ve yenilikçi yaklaşımlar oluşturmak için önemli bilgiler sağlayabilir (Kannan et al., 2020).



Şekil 28. ZnS/A:ZnS/T:ZnS nanopartikülleri kullanılarak metilen mavisi boyasının bozunmasına yönelik kinetik çalışmaları (Kannan et al., 2020).

Sonuç

Bu çalışmada, *Citrus limetta*, *Corymbia citriodora*, *Tridax procumbens*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Cucumis sativus* yaprağı, *Phyllanthus niruri* bitkisi, *Elaeocarpus floribundus*, *Acalypha indica*, *Tridax procumbens*, *Nigella Sativa*, *Jatropha curcas* L. gibi bitkiler ve muz kabuğu ekstraktlarından ZnS nanoparçacıklarının optik soğurma, fotoluminesans ve katalitik özellikleri derlenmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin boyutu 2,70-74 nm aralığında değişkenlik göstermektedir. Bitki ekstraktlarının konsantrasyonunun artmasıyla partikül boyutunun arttığı bazı çalışmalarda rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda, başlatıcı olarak $ZnCl_2$, $Zn(CH_3COO)_2$, $Zn(NO_3)_2$ ve $Zn(SO_4)$ kullanılmıştır. Değişen partikül boyutları ile birlikte optik soğurma bantları değişkenlik göstermekte olup, partikül boyutu büyüklüğünü ile soğurmanın gerçekleştiği dalga boyu arasında herhangi bir ilişki bulunmamaktadır. ZnS partiküllerinin boyutları arttıkça optik enerji açığı azaldığı da tespit edilmiştir.

Tablo 1. Farklı ekstraktlara bağlı olarak sentezlenen ZnS nanopartiküllerinin partikül boyutu, optik soğurma piki, floresans veya fotolüminesans piki ve enerji bant aralıkları.

Referans	Bitki	Partikül Boyutu (nm)	UV-Vis (nm) Soğurma kenarı	Optik Işıma Tepesi	Bant Enerjisi (eV)
Jinfeng Chen ve ark.	<i>Corymbia citriodora</i>	45	295	348, 439	4.22
Sathishkumar ve ark.	<i>Tridax procumbens</i>	40	270		
M. Divya Rao ve Gautam Pennathur	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	8 – 12	310	410, 430	
B. Anand ve ark.	<i>Cucumis sativus yaprağı</i>	38	348		3.56
Sathish Kumar M. ve ark.	<i>Phyllanthus niruri bitkisi</i>	74	519		
Senapat ve Sarkar	<i>Elaeocarpus floribundus</i>	20	260		
Bisauriya ve ark.	muz kabuğu	12,52	360	430	4.36
		12.11			4.43
		9,09			4.59
Kannan ve ark.	<i>Acalypha indica (20 mL)</i>	22	391	415	3.25
	<i>Acalypha indica (40 mL)</i>	23	408	421	3.16
	<i>Tridax procumbens (20 mL)</i>	19	414	495	3.09
	<i>Tridax procumbens (40 mL)</i>	30	422	576	2.97
	<i>Tridax procumbens (200 mL)</i>	9.15, 22.7	400		3.02
	<i>Acalypha indica (50mL)</i>	23	381	430	3.25
Al-Sharabi ve arkadaşları	<i>Nigella Sativa</i>	2,70	356		3,37
		2,72	373		3,20
		3,02	397		3,11
Hudlikar ve arkadaşları	<i>Jatropha curcas L.</i>	10	270	315, 425	
		10	270		
		10	320		

ZnS nanopartiküllerinin fotolüminesans spektrumları onun ideal bir fotodetektör olarak kullanılabilir bir malzeme olduğunu göstermektedir ki, bu da ZnS nanopartiküllerinin yapısındaki kükürt boşlukları enerji seviyesinden elektronun çinko boşluklarından gelen deliklerle rekombinasyonuna atfedilmektedir. ZnS nanopartiküllerinin bant enerjisi 2,97-4,59 eV değişmektedir. Buna göre ZnS nanopartikülleri nonlineer optik uygulamaları için ideal ve reaktif bir malzeme olduğu düşünülmektedir. Ayrıca çevre dostu

yöntemle sentezlenen ZnS nanopartükülleri çevre kirletici birçok organik bileşiğin bozunmasında etkili rol oynayabilecek iyi bir katalizör adaydır. Bu derleme kapsamında yer alan, farklı ekstraktlar kullanılarak sentezlenen ZnS nanopartüküllerinin kullanılan ekstraktlara bağlı olarak sahip oldukları partikül boyutu, optik absorbans piki, fotoluminesans piki ve enerji bant aralıkları Tablo 1’de verilmiştir.

Kaynaklar

- Al-Sharabi, A., Alnehia, A., Al-Hammadi, A. H., Alhumaidha, K. A., & AL-Osta, A. (2022). The effect of *Nigella sativa* seed extract concentration on crystal structure, band gap and antibacterial activity of ZnS-NPs prepared by green route. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 33(26), 20812–20822. <https://doi.org/10.1007/s10854-022-08890-7>
- Anand, B., Muthuvel, A., Mohana, V., Selvarani, P., & Lakshmi, B. (2018). Optical and structural properties of pure and Bio-ZnS using *Cucumis sativus* leaf extract. *IJSRST*, 4, 817–821.
- Bisauriya, R., Verma, D., & Goswami, Y. C. (2018). Optically important ZnS semiconductor nanoparticles synthesized using organic waste banana peel extract and their characterization. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29(3), 1868–1876. <https://doi.org/10.1007/s10854-017-8097-6>
- Chen, D., Shen, G., Tang, K., Lei, S., Zheng, H., & Qian, Y. (2004). Microwave-assisted polyol synthesis of nanoscale SnS_x (x=1, 2) flakes. *Journal of Crystal Growth*, 260(3–4), 469–474. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgr.2003.09.009>
- Chen, J., Hu, B., & Zhi, J. (2016a). Optical and photocatalytic properties of *Corymbia citriodora* leaf extract synthesized ZnS nanoparticles. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 79, 103–106. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2015.12.015>
- Chen, J., Hu, B., & Zhi, J. (2016b). Optical and photocatalytic properties of *Corymbia citriodora* leaf extract synthesized ZnS nanoparticles. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 79, 103–106. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2015.12.015>
- Fujiwara, H., Hosokawa, H., Murakoshi, K., Wada, Y., & Yanagida, S. (1998). Surface Characteristics of ZnS Nanocrystallites Relating to Their Photocatalysis for CO₂ Reduction¹. *Langmuir*, 14(18), 5154–5159. <https://doi.org/10.1021/la9801561>
- Gebreslassie, Y. T., & Gebretnsae, H. G. (2021). Green and Cost-Effective Synthesis of Tin Oxide Nanoparticles: A Review on the Synthesis Methodologies,

- Mechanism of Formation, and Their Potential Applications. *Nanoscale Research Letters*, 16, 97. <https://doi.org/10.1186/s11671-021-03555-6>
- Hu, J., Ren, L., Guo, Y., Liang, H., Cao, A., Wan, L., & Bai, C. (2005). Mass Production and High Photocatalytic Activity of ZnS Nanoporous Nanoparticles. *Angewandte Chemie*, 117(8), 1295–1299. <https://doi.org/10.1002/ange.200462057>
- Hudlikar, M., Joglekar, S., Dhaygude, M., & Kodam, K. (2012). Latex-mediated synthesis of ZnS nanoparticles: Green synthesis approach. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(5), 865. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-0865-x>
- Kannan, S., Sathishkumar, M., & Balamurugan, A. (2022). Photocatalytic properties of biosynthesized ZnS nanoparticles using *Acalypha indica* plant extract. *Materials Today: Proceedings*, 68, 386–391. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.06.281>
- Kannan, S., Subiramaniyam, N. P., & Sathishkumar, M. (2020). A novel green synthesis approach for improved photocatalytic activity and antibacterial properties of zinc sulfide nanoparticles using plant extract of *Acalypha indica* and *Tridax procumbens*. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 31(12), 9846–9859. <https://doi.org/10.1007/s10854-020-03529-x>
- Kannan, S., Subiramaniyam, N. P., & Sathishkumar, M. (2022). Green synthesized zinc sulfide nanoparticles from *Tridax procumbens* plant extract for improved photocatalytic activity. *Materials Today: Proceedings*, 51, 1727–1732. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.956>
- Rao, M. D., & Pennathur, G. (2016). Facile bio-inspired synthesis of zinc sulfide nanoparticles using *Chlamydomonas reinhardtii* cell free extract: Optimization, characterization and optical properties. *Green Processing and Synthesis*, 5(4), 379–388. <https://doi.org/10.1515/gps-2016-0008>
- Sathishkumar, M., Saroja, M., & Venkatachalam, M. (2017). Characterization and antimicrobial activity of green synthesized zinc sulphide nanoparticles using plant extracts of *phyllanthus niruri*. *Int. J. Chem. Sci*, 15(2), 123–130.
- Sathishkumar, M., Saroja, M., Venkatachalam, M., Parthasarathy, G., & Rajamanickam, A. T. (2017). Biosynthesis and characterization of zinc sulphide nanoparticles using leaf extracts of *tridaxprocumbens*. *Oriental Journal of Chemistry*, 33(2), 903–909.
- Senapati, U. S., & Sarkar, D. (2015). Structural, spectral and electrical properties of green synthesized ZnS nanoparticles using *Elaeocarpus floribundus* leaf extract. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 26(8), 5783–5791. <https://doi.org/10.1007/s10854-015-3137-6>

Zheng, Y., Fu, L., Han, F., Wang, A., Cai, W., Yu, J., Peng, F. (2015). Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using *Corymbia citriodora* leaf extract and their photocatalytic activity. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 8(2), 59–63. <https://doi.org/10.1080/17518253.2015.1075069>

URL-1

[https://identify.plantnet.org/tr/prosea/species/Tridax%20procumbens%20\(L.\)%20L./data](https://identify.plantnet.org/tr/prosea/species/Tridax%20procumbens%20(L.)%20L./data)

URL-2

https://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa#/media/File:Black_cumin_seed.png

BÖLÜM 27

SALMONELLA VE ENFEKSİYONLARI

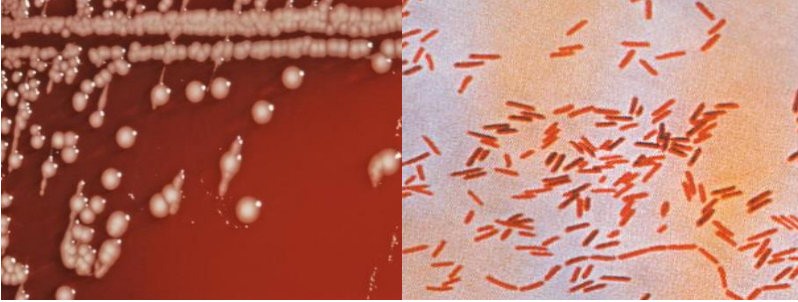
Dr. Öğr. Üyesi. Nesrin ÇAKICI¹

¹ Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale/TÜRKİYE
ORCID: 0000-0001-8662-7215

1. *Salmonella*

Salmonelloz hastalığının etkeni olan *salmonella* bakterisi Enterobacteriaceae familyasında bulunan yaklaşık 2-5 µm boyunda, poeritrik kirpikli, çoğu hareketli, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen Gram negatif basillerdir. En iyi üreme sıcaklığı 37 °C olmakla birlikte 20-42 °C arasında, pH 7.4'de üreyebilirler (Wang ve ark, 2020).

Salmonella'lar insan ve birçok hayvan türünün gastrointestinal sisteminde bulunurlar. İnsan veya hayvan dışkı ile çevreye atıldıktan sonra uygun koşullar altında suda haftalarca, toprakta yıllarca uzun süre canlı kalabilir. İnsanların tükettiği kontamine su ve yiyeceklerle alınarak mideye gelirler. Mide asitine duyarlı olmakla birlikte bol besin maddesi veya içeceklerle birlikte alındığında, antiasit kullanılan durumlarda mideyi geçebilir. *Salmonella* cinsi dünyanın tüm bölgelerinde hastalık, ölüm ve hastalık yüküne neden olan en yaygın gıda kaynaklı patojenleri temsil eder. *Salmonella* enfeksiyonları dünya çapında halk sağlığı, hayvanlar ve gıda endüstrisi açısından büyük bir endişe kaynağıdır (Wang ve ark, 2020).



Resim 1. *Salmonella* spp. Kanlı agar ve mikroskop görüntüsü

Salmonella bongori ve *Salmonella enterica* olmak üzere iki türü mevcuttur. *S. enterica* 6 adet alt tür (*S. e. enterica*, *S. e. salame*, *S. e. arizonae*, *S. e. diarizonae*, *S. e. houtenae* ve *S. e. indica*), somatik ve kirpik antijenlerine göre 2600'den fazla serotip (serovar) içermektedir. *S. enterica* en patojenik tür olarak kabul edilmektedir (Brenner ve ark, 2000; Cobo-Simon ve ark, 2023).

Salmonella enterica subsp. *enterica* dünya çapında en önemli gıda kaynaklı patojenlerden biridir ve bulaşıcı gastroenteritin önde gelen nedeni olmaya devam etmektedir. Vakalar çoğunlukla yumurta ve çiğ tavuk gibi kümes hayvanı ürünleri başta olmak üzere hayvansal kökenli gıdaların tüketimiyle ilişkilidir (Braden ve ark. 2006). İnsanlardan elde edilebilen izolatların çok büyük bir kısmı (> %99.5) *S. enterica* alt türüdür. Amerika Birleşik Devletleri Hastalık kontrol ve

önleme Merkezleri ([Centers for Disease Control and Prevention](https://www.cdc.gov); CDC) bu karmaşıklığı sadeleştirmek amacıyla *Salmonella* türlerinin yalnızca cins ve serovarları ile anılmasını önerir. Örneğin, teknik olarak daha doğru olması gereken "*Salmonella enterica* alt tür enterica serovar typhi" yerine "*Salmonella typhi*" olarak anılması önerilir (Su ve Chiu, 2007; Ryan ve ark, 2017).

Salmonella türleri hücre içi patojenlerdir. İnsanlarda yol açtıkları hastalıklara göre *Salmonella* bakterileri iki gruba ayrılır: Bunlar tifo hastalığına sebep olan ve tifo dışı hastalıklardan sorumlu olan *Salmonella* serotipleridir. Tifo hastalığının etkenleri (tifoidal etkenler) *Salmonella enterica* serovar typhi (*S. typhi*), paratyphi (*S. paratyphi*) ve Sendai (*S. sendai*) serovarlarıdır (Wain ve ark, 2015; Coburn ve ark. 2007).

Tifo hastalığında *S. typhi* ve diğer tifoidal bakteriler kontamine gıda veya suyun yutulmasının ardından etken bağırsak epitelini geçer ve karaciğer, dalak, kemik iliği ve safra kesesi dahil olmak üzere sistemik bölgelere yayılır. Tifo semptomları tipik olarak alımdan 10-14 gün sonra gelişir ve ateş, baş ağrısı, kas ağrıları, mide ağrısı ve kabızlık veya ishali içerir. *S. paratyphi* enfeksiyonu belirtileri tifoya benzer ancak genellikle daha hafiftir. Akut hastalığın iyileşmesinin ardından enfekte bireylerin yaklaşık %3-5'i birkaç aydan bir yıla kadar *S. typhi* yaymaya devam edecektir . Kronik taşıyıcılıkta *S. typhi* ve *S. paratyphi* A safra kesesinde asemptomatik olarak varlığını sürdürebilir (Johnson ve ark, 2018).

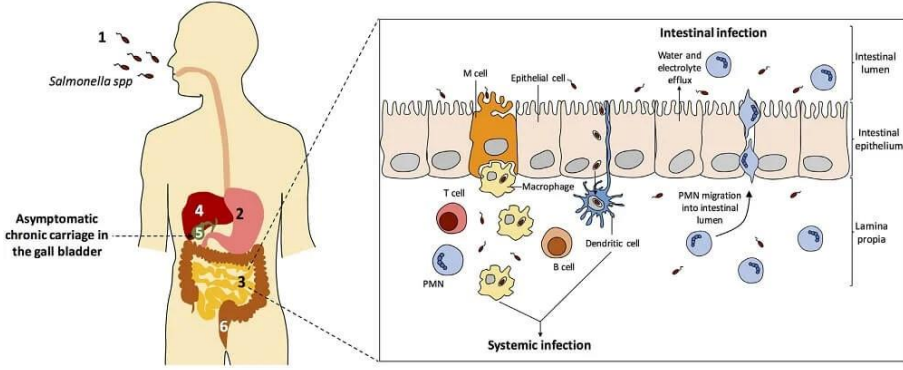
En yaygın tifo dışı serovarlar typhimurium (*S. typhimurium*), enteritidis (*S. enteritidis*) ve dublin'dir (*S. dublin*) (Balasubramanian ve ark, 2019). Tifo dışı *Salmonella* enfeksiyonları normalde gastroenterit, ishal ve ateş (neredeyse her zaman mevcuttur) ile sonuçlanır ve ölüm oranı düşüktür (Adams ve ark, 2016). İshal hastalığına ek olarak, tifo dışı *Salmonella* enfeksiyonları normalde steril olan bölgeleri istila ederek bakteriyemi, menenjit ve diğer lokal enfeksiyonlarla sonuçlanabilir. İnvaziv tifo dışı *Salmonella* hastalığı genellikle sıtmaya ve diğer ateşli hastalıklara benzer spesifik olmayan ateşin varlığı ile karakterize edilir ve bu da klinik olarak ayırt edilemez ve invaziv olmayan enfeksiyonlara göre daha yüksek vaka ölümüyle sonuçlanır (Crump ve ark, 2015; Stanaway ve ark. 2019).

Tifo olmayan *Salmonella* serotipleriyle enfeksiyon genellikle gıda zehirlenmesine neden olur. Tipik olarak kontamine su, meyveler, deniz ürünleri, sebzeler ve et, özellikle de kümes hayvanları yoluyla ağızdan alınan bir akut gastroenterittir. Enfeksiyon genellikle bir kişi yüksek konsantrasyonda bakteri içeren yiyecekleri yediğinde ortaya çıkar. Kontamine yiyecek veya su yoluyla

alımın ardından kuluçka süresi 4 ila 72 saat arasında değişebilir ve ateş, titreme, bulantı ve kusma, karın krampları ve ishal gibi akut semptomlar gözlemlenebilir. Bebekler ve küçük çocuklar enfeksiyona karşı çok daha hassastırlar ve az sayıda bakterinin sindirilmesiyle kolayca enfekte olurlar (Chen ve ark, 2013; Li ve ark, 2016).

Temiz su kaynaklarının ve sanitasyon eksikliği nedeniyle, tifo dışı *Salmonella* gastroenteritinin neden olduğu ölümler çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir, ancak gelişmiş ülkelerde de oldukça önemlidir (Gal-Mor ve ark, 2014). Tifo dışı *Salmonella* dünya çapında her yıl yaklaşık 93 milyon gastroenterit vakasına ve 155.000 ölüme neden olmaktadır. Hastalığın ortaya çıkışı ilgili serotipe, virülans faktörlerine, enfektif doza ve konakçının bağışıklığına bağlıdır. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar, çocuklar ve yaşlılar daha duyarlı olma eğilimindedir ve sepsis dahil daha ciddi klinik semptomlara maruz kalırlar (Jajere, ve ark, 2019). Diğer durumlarda enfeksiyon, konakçıda kronik asemptomatik taşıyıcılığa neden olabilir. *S. enteritidis* ve *S. typhimurium* serotipleri insanlarda salmonellozun en sık görülen nedenleridir. *Bununla birlikte, Salmonella heidelberg, Salmonella javiana, Salmonella infantis* ve *Salmonella thompson* gibi yeni ortaya çıkan serotiplerin Amerika Birleşik Devletleri'nde insanları enfekte ettiği ve kümes hayvanı üretim zincirinin belirli bölümlerinde daha yaygın hale geldiği rapor edilmiştir (Castro-Vargas ve ark; 2020).

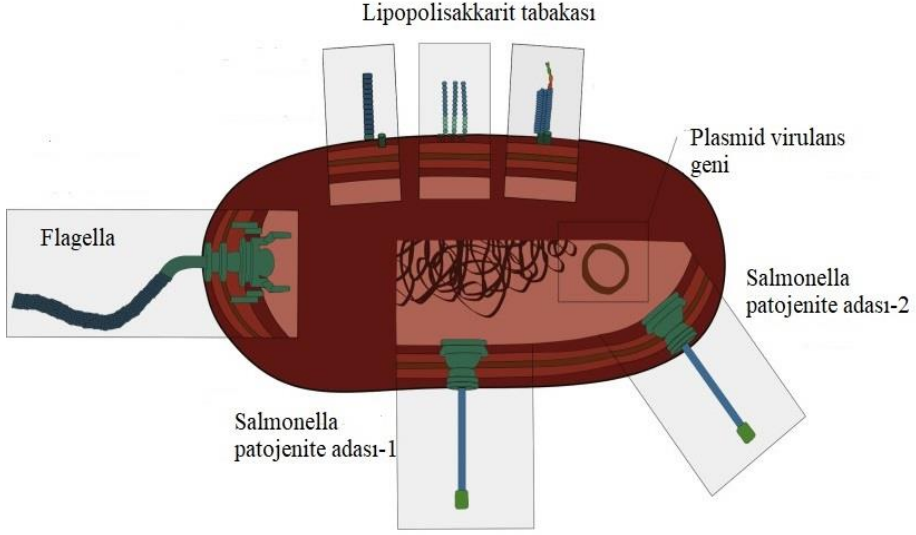
Bir enfeksiyon yalnızca *Salmonella* tarafından üretilen toksinlerle değil ancak canlı *Salmonella*'ların gastrointestinal sisteme ulaşmasından sonra başlayabilir. Mikroorganizmaların bir kısmı midede öldürülürken, hayatta kalanlar ise ince bağırsağa girerek dokularda çoğalır. Mide asiditesi, yutulan bakterilerin çoğunluğunun yok edilmesinden sorumludur. Ancak *Salmonella*, yutulan bakterilerin bir alt kümesinin hayatta kalmasına izin veren asidik ortamlara karşı bir tolerans derecesi geliştirmiştir (Feasey ve ark, 2012).



Resim 2. *Salmonella*'nın patogenezi ([Urdaneta ve Casadesus, 2017](#)).

Virulans faktörleri

Salmonella'nın flagella yapısı bakteriyel hareketlilik için moleküler motorlar olarak çalışır ve böylece kemotaksiyi mümkün kılar. Ayrıca flagella, yapışma ve istilada da rol oynar. Konakçının bağışıklık tepkisini tetikleyen antijenler olarak görev yapar. Popülasyonun bir kısmı epitel hücrelerine bağlanır. Bu yapışmaya bakteri hücrelerinin gastrointestinal sistemdeki konumuna bağlı olarak tip-1 fimbria (pili) gibi farklı tipteki fimbrialar aracılık eder ve böylece bağırsakta kolonizasyona yardımcı olur. *Salmonella*'nın en iyi incelenen virülans plazmid *S. typhimurium*'un plazmididir. Beş genden oluşan yüksek oranda korunmuş 8 kb'lik bir bölge içerir: *spvRABCD* (*Salmonella* plazmid virülansı). *SpvR*, *spvABCD* operonunun *SpvB*, *SpvC* ve *SpvD* proteinlerinin enfekte konakçı hücrelerde spesifik rollere sahip virülans faktörleri olduğu kanıtlanmıştır. *Salmonella* patojenite adalarından (SPV-1, SPV-2) kodlanan protein kompleksi intestinal ve sistemik enfeksiyonun başlamasından sorumludur (Grabe ve ark, 2016; Staes ve ark, 2019).



Resim 3. Önemli *Salmonella* virülans faktörleri

Antibiyotik direnci

İnsan ve hayvan hastalıklarında karşılaşılan Antibiyotik direnci küresel bir halk sağlığı sorunudur. Bazı yazarlar antimikrobiyal dirençli patojenlerin 2050 yılına kadar dünya çapında 10 milyon ölümden sorumlu olacağını öngörmektedir. Bu direncin gelişimi, hayvan üretim sistemlerinde büyüme destekleyicileri olarak kullanımları ve klinik tedavilerde aşırı kullanımları da dahil olmak üzere antibiyotiklerin yanlış kullanımıyla ilişkilidir (Roca ve ark. 2015).

Kümes hayvanlarından geniş spektrumlu sefalosporine dirençli *Salmonella* izole edilmiştir. Bu bakterilerle enfekte insanların tedavileri başarısız olmuş bu da enfeksiyonları kontrol altına almak için ikinci bir antibiyotik dizisine ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur (Castellanos ve ark; 2018). Farklı hükümet kurumları, veterinerlik ve insan hekimliğinde antibiyotiklerin dikkatli kullanımını teşvik etmektedir. Örneğin karbapenemler, glikopeptitler, tigesiklin ve üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler gibi antimikrobisallerin kullanımları kısıtlanmıştır.

Salmonella suşları ve virülan klonlardaki antibiyotik direnci, insanlarda enfeksiyon tedavisini tehlikeye atabilir, hastalığın kontrolünü zorlaştırabilir ve küresel halk sağlığı için ciddi bir risk oluşturabilir. *Bu nedenle, Dünya Sağlık*

Örgütü *Salmonella*'yı “öncelikli patojen” olarak tanımlamış ve tedavisi için yeni antibiyotiklere yönelik araştırma ve geliştirmeyi yönlendirmeyi ve teşvik etmeyi amaçlamaktadır (Castro-Vargas ve ark; 2020).

Yapılan çalışmalarda sığır eti, domuz eti ve kümes hayvanı ürünlerinden çoklu ilaca dirençli (MDR) birçok *Salmonella* suşu izole edilmiştir ve bunların her birinin yayılma ve küresel bir acil durum yaratma potansiyeli vardır (Castellanos ve ark., 2018; Cortes ve ark., 2017).

Antimikrobiyaller, yemle hayvanlara verilen penisilin ve tetrasiklin gibi küçük, tedavi edici düzeyin altındaki antibiyotik miktarlarının kümes hayvanlarının, domuzların ve besi sığırlarının ağırlığını artırabildiğinin keşfedildiği 1950'den bu yana büyüme destekleyicileri olarak kullanılmıştır (Marshall ve ark. 2011). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre “en yüksek öncelikli kritik öneme sahip antimikrobiyaller” arasında yer alan, insan hekimliğinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı herhangi bir direnç tespit edilmemiştir. Bunlar arasında seftriakson, sefotaksim, seftazidim ve sefepim gibi sefalosporinler ve imipenem, meropenem ve aztreonam gibi karbapenemler bulunmaktadır (WHO, 2017).

Gıdalarda bulunması

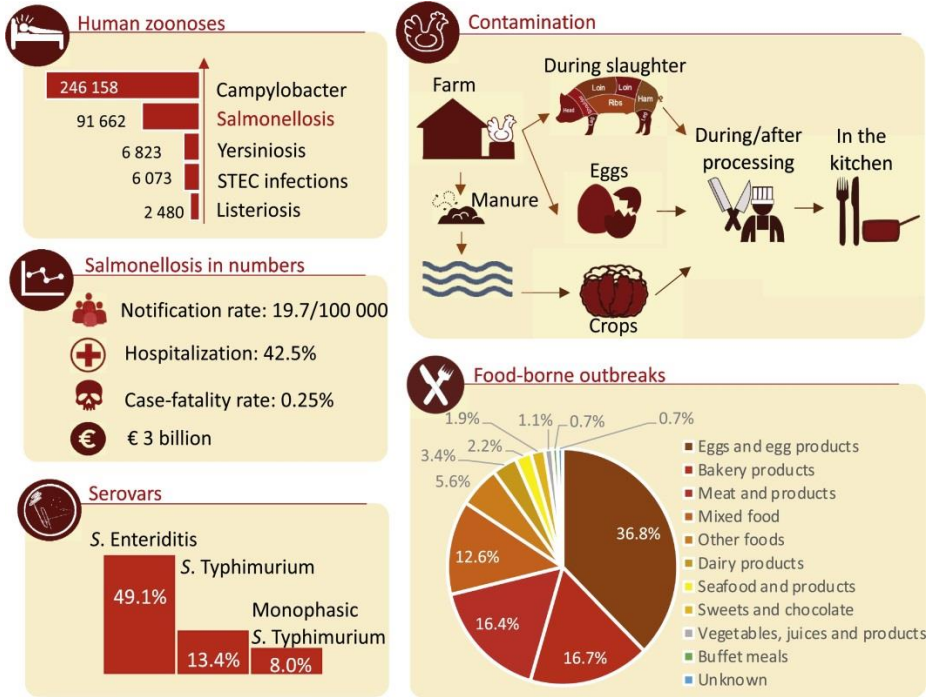
Vakaların çoğunluğu sporadik, bireysel hastalardan oluşsa da, gıda kaynaklı salgınlar düzenli olarak meydana gelmektedir. Örneğin, 2017 yılında Avrupa Birliğinde 1241 gıda kaynaklı *Salmonella* salgını rapor edildi ve bu salgın 9600 kişiye bulaştı ve böylece gıdalarda en sık tespit edilen patojen haline geldi. Bu salmonelloz salgınlarıyla en sık ilişkilendirilen [gıda](#) ürünleri yumurta ve tatlılar gibi yumurtadan elde edilen ürünlerdir (EFSA, 2018). *Salmonella* bir yumurtayı kabuğundan geçerek veya kabuk oluşmadan önce transovaryal olarak enfekte edebilir. Ayrıca kontamine et ve et ürünleri de sıklıkla görülen bir salgın nedenidir. Hayvanın kendisi çiftlikte enfeksiyon kapabilir veya hayvanın bağırsak içeriği veya derisi ile temas nedeniyle kesim sırasında ette kontaminasyon meydana gelebilir. *Salmonella* içeren dışkılar ayrıca yüzey sularına ve gübreye karışarak meyve ve sebzeleri kirletebilir (Gantois ve ark, 2009).

Amerika (11 çalışma), Afrika (13 çalışma), Avrupa (3 çalışma) ve Asya'da (18 çalışma) çiğ tavuk etinden elde edilen 7033 izolatta antibiyotik direncini araştıran toplam 45 yayın *Etlik piliçlerde Salmonella'nın* prevalansı %40,5 bulundu. En yaygın serotiplerin *S. enteritidis* (13 çalışma), *S. typhimurium* (4

çalışma), *S. heidelberg* (3 çalışma) ve *S. infantis* (3 çalışma) olduğu tespit edildi (Castro-Vargas ve ark, 2020).

Salmonelloz, Avrupa Birliği'nde Campylobacteriosis'den sonra ikinci en yaygın zoonotik hastalıktır. *Salmonella*, gıda kaynaklı hastalık salgınlarının yaygın bir nedenidir. AB'de her yıl 91.000'den fazla salmonelloz vakası rapor edilmektedir. EFSA, insan salmonellozunun genel ekonomik yükünün yılda 3 milyar Euro kadar yüksek olabileceğini tahmin etmektedir (EFSA, 2023).

Etin kontaminasyonu çiftlikte, kesim sırasında veya sonrasında kontamine gıda ürünleri ve yüzeylerle temas yoluyla veya enfekte kişiler tarafından elleçlendiğinde meydana gelebilir. Kümes hayvanlarının enfeksiyonu kontamine yumurta üretimine yol açabilir. *Salmonella* içeren enfekte hayvanların dışkıları da kanalizasyona ve toprağa karışabilir, mahsullerin bu tür suyla işlenmesi sebze­lerin kirlenmesine neden olabilir. Bu salmonelloz salgınlarıyla en sık ilişkilendirilen gıda ürünleri aşağıda gösterilmektedir (Staes ve ark, 2019).



Resim 4. Gıda kaynaklı bir patojen olarak *Salmonella*'ya genel bakış

Sonuç

Devlet kurumları, araştırmacılar ve kümes hayvanı üreticileri, antibiyotik kullanımını azaltarak, MDR suşlarının aktif sürveyansını yürüterek ve bulaşıcı hastalık salgınlarını kontrol etmek ve önlemek için alternatifler arayarak antibiyotik direncini yönetme sorumluluğuna sahiptir.

KAYNAKLAR

- Adams, D.A., Thomas, K.R., Jajosky, R.A., Foster, L., Sharp, P., Onweh, D.H., Schley, A.W.(2014). Summary of Notifiable Infectious Diseases and Conditions United States, *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2016, 63, 1–152.
- Balasubramanian, R., Im, J., Lee, J.-S., Jeon, H.J., Mogeni, O.D., Kim, J.H., Rakotozandrindrainy, R. (2019). The global burden and epidemiology of invasive non-typhoidal infections. *Hum. Vaccines Immunother.* 15, 1421–1426.
- Braden, C.R. (2006). *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis and Eggs:A National Epidemic in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 43(4),512–517.
- Brenner, F.W, Villar, R.G., Angulo, F.J, Tauxe, R., Swaminathan, B. (2000). "Salmonella nomenclature". *Journal of Clinical Microbiology.* 38 (7), 2465–2467.
- Castellanos, L.R., van der Graaf-van Bloois, L., Donado-Godoy, P., León, M., Clavijo, V., Arévalo, A., Bernal, J.F., Mevius D.J, Wagenaar, J.A., Zomer, A., Hordijk J. (2018). Genomic Characterization of Extended-Spectrum Cephalosporin-Resistant *Salmonella enterica* in the Colombian Poultry Chain. *Front. Microbiol.* 9, 1–11.
- Castro-Vargas, R.E., Herrera-Sanchez, M.P., Rodriguez-Hernandez, R., Rondon-Barragan, I.S. (2020). Antibiotic resistance in *Salmonella* spp. isolated from poultry: A global overview. *Vet World.* Oct;13(10):2070-2084.
- Chen, H.M., Wang, Y., Su, L.H., Chiu, C.H. (2013). Nontyphoid *salmonella* infection: Microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatr. Neonatol.* 54, 147–152.
- Cobo-Simon, M., Hart, R., Ochman, H., (2023). Gene flow and species boundaries of the genus *Salmonella*. *mSystems.* 31;8(4):e0029223.
- Coburn, B., Grassl, G.A., Finlay, B.B. (2007). *Salmonella*, the host and disease: A brief review. *Immunol. Cell Biol.* 85, 112–118.

- Cortes, D., Rodriguez, V., Verjan, N. (2017). Phenotypic and genotypic antibiotic resistance of *Salmonella* from chicken carcasses marketed at Ibague, Colombia. *Rev. Bras. Ciência Avícola*. 19(2), 347–354.
- Crump, J.A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M.A., Parry, C.M. (2015). Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 901–937.
- Gal-Mor, O., Boyle, E.C., Grassl, G.A. (2014). Same species, different diseases: How and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Front. Microbiol.* 5, 391.
- Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R., Humphrey, T.J., Van Immerseel, F. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella enteritidis*. (2009). *FEMS Microbiology Reviews*, 33(4), 718-738.
- Grabe, G.J., Zhang, Y., Przydacz, M., Rolhion, N., Yang, Y., Pruneda, J.N. ..., Hare, S.A. (2016). The *Salmonella* effector SpvD is a cysteine hydrolase with a serovar-specific polymorphism influencing catalytic activity, suppression of immune responses, and bacterial virulence. *Journal of Biological Chemistry*, 291 (50), 25853.
- Feasey, N.A, Dougan, G., Kingsley, R.A, Heyderman, R.S., Gordon, M.A. (2012). Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa". *Lancet*. 379 (9835), 2489–2499.
- Jajere, S.M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet. World* 12, 504–521.
- Johnson, R., Mylona, E., Frankel, G. (2018). Typhoidal *Salmonella*: Distinctive virulence factors and pathogenesis. *Cell Microbiol.* 20, e12939.
- Lin, R., Wan, J., Xiong, Y., Wu, K., Cheong, W.C., Zhou, G., Wang, D. A (2018). Quantitative study of charge carrier dynamics in well-defined WO₃ nanowires and nanosheets: Insight into the crystal facet effect in photocatalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 140, 9078–9082.
- Marshall, B.M., Levy, S.B. (2011). Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clin. Microbiol. Rev.* 24(4), 718–733.
- Staes, I., Passaris, I., Cambre, A., Aertsen, A. (2019). Population heterogeneity tactics as driving force in *Salmonella* virulence and survival. *Food Research International*, 125. Article 108560.

- Stanaway, J.D., Parisi, A., Sarkar, K., Blacker, B.F., Reiner, R.C., Hay, S.I., Nixon, M.R., Dolecek, C., James, S.L., Mokdad, A.H., et al. 2019. The global burden of non-typhoidal *salmonella* invasive disease: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Infect. Dis.* 19, 1312–1324.
- Su, L.H., Chiu, C.H. (2007). "Salmonella: clinical importance and evolution of nomenclature". *Chang Gung Medical Journal.* 30 (3), 210–219.
- Urdaneta, V., Casadesus, J. Interactions between bacteria and bile salts in the gastrointestinal and hepatobiliary tracts. *Front Med.* 2017:163.<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2017.00163/>.
Erişim Tarihi: 15.12.2024.
- Roca I, Akova M, Baquero F, Carlet J, Cavaleri M, Coenen S, Cohen J, Findlay D, Gyssens I, Heur O.E. (2015). The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New. Microbes. New. Infect.,* 6, 22–29.
- Ryan, M.P, O'Dwyer, J, Adley, C.C. (2017). Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*". *BioMed Research International.* 2017: 3782182.
- The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 EFSA Journal (2018), 16 (12).
<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella>. Erişim Tarihi:16.12.2023.
- Wang, M., Qazi, I.H., Wang, L., Zhou, G., Han, H., (2020) *Salmonella* Virulence and Immune Escape. *Microorganisms.* 8(3),407.
- Wain, J., Hendriksen, R.S., Mikoleit, M.L., Keddy, K.H., Ochiai, R.L. (2015). Typhoid fever. *Lancet* 385, 1136–1145.
- World Health Organization (WHO). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Health Organization (WHO). 2017,7.

BÖLÜM 28

GIDA KAYNAKLI VİRÜSLER

Dr. Öğr. Üyesi. Nesrin ÇAKICI¹

¹ Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale/TÜRKİYE
ORCID: 0000-0001-8662-7215

GİRİŞ

Dünya çapında güvensiz gıda her yıl 600 milyon gıda kaynaklı hastalık vakasına ve 420.000 ölüme neden oluyor. Gıda kaynaklı ölümlerin %30'u 5 yaş altı çocuklarda meydana geliyor. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), dünya genelinde her yıl 33 milyon sağlıklı yaşamın güvensiz gıda tüketimi nedeniyle kaybedildiğini tahmin ediyor ve bu sayının muhtemelen eksik bir tahmin olduğunu belirtiyor (DSÖ, 2023).

2022 yılında Avrupa Birliğinde (AB) (27 üye devlet ve Birleşik Krallık) toplam 5.763 gıda kaynaklı salgın (2021'e göre %43,9 daha fazla) ve 48.605 insan vakası (2021'e göre %49,4 artış) bildirildi. 2022 yılında gözlemlenen ölüm sayısı (64), son on yılda AB tarafından Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesine (EFSA) bildirilen en yüksek rakamlardan biriydi. Ölümlerin başlıca nedeni *Listeria monocytogenes* ve daha az oranda da *Salmonella*'dır. Norovirus (ve diğer calicivirus) en fazla sayıda insan vakası salgınıyla ilişkilendirilen etken olmuştur (EFSA, 2023).

Artan viral gıda kaynaklı salgınlar gelişmiş teşhis ve raporlamaya, artan taze ve dondurulmuş gıda ticaretiyle ilişkilendirilebilir. Virüsler depolama ve işleme sırasında gıdalarda çoğalamaz. Yiyecekler yalnızca araç görevi görür. Başlangıçtaki kontaminasyon seviyesi veya işleme sırasında virüsün daha fazla eklenmesi enfeksiyona neden olur (Narayan, 2023).

Gıda kaynaklı virüsler kontamine gıda yoluyla, kişiden kişiye temasla veya çevrenin (örneğin su) kirlenmesi yoluyla da bulaşır (Koopmans ve ar, 2004; Todd ve Grieg). Kirli sularda avlanan kabuklu deniz ürünleri, kanalizasyon suyu içeren suyla sulanan veya enfekte kişiler tarafından toplanan sebze ve meyveler gibi dışkı yoluyla kontamine olmuş gıdalar, enfekte kişiler tarafından hazırlanan tüketime hazır gıdalar enfeksiyon araçlarıdır. Enterik virüsler yiyecek veya suda çoğalamazlar ancak genellikle konakçının dışında çevresel açıdan oldukça stabildirler ve aside dayanıklıdırlar (Koopmans ve ar, 2004).

Gıda kaynaklı viral hastalıklara, salgın görülme sıklığı sırasına göre Norovirus, Hepatit A virüsü (HAV), Hepatit E virüsü (HEV), insan Rotavirüsü, Astrovirus, Calicivirus, Flavivirus, Sapovirus, Aichivirus, Adenovirus, Enterovirus vb. neden olur. Bu virüsler yalnızca insan ve hayvanların hücrelerinde büyüebilir veya üretebilir (Pal ve Ayele, 2020).

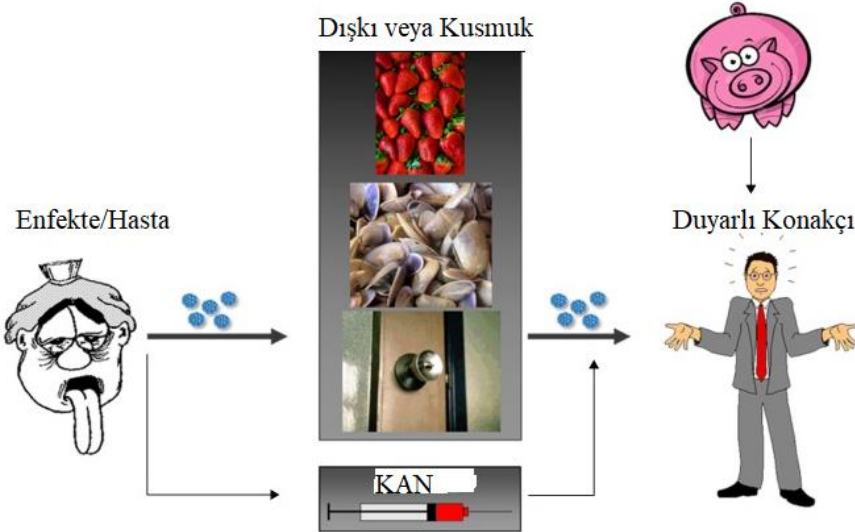
Gıda kaynaklı enterik virüslerin bulaşması

Viral gastroenterit geçiren hastalar dışkılarında yüksek oranda (gram başına 10^{10}) genom kopyası çıkartabilirler (Teunis ve ark, 2015). Tek bir kusma

olayında da 3×10^7 kadar virüs parçacığının salındığı tahmin edilmektedir (Hall ve ark, 2014). Hepatit E virüsünün (HEV) en yüksek düzeyde saçılması hastalığın kuluçka dönemi ve erken akut faz sırasında meydana gelir (Takahashi ve ark, 2014).

Virüsler, hasat öncesi veya hasat sonrası aşamalarda çok çeşitli gıda ürünlerini kirletebilir. Hasat öncesi kontaminasyon riski taşıyan gıdalar arasında çift kabuklu yumuşakçalar ve meyveler gıda kaynaklı salgınlarla en sık ilişkilendirilenlerdir. Çift kabuklular arasında, genellikle istiridyeler ve midyeler bulunmaktadır. Meyveler arasında çile, ahududu ve dondurulmuş meyve karışımları sayılabilir (Bosch ve ark, 2016).

Hasat sonrası kontaminasyon büyük olasılıkla gıdaların işlenmesi sırasındaki yetersiz hijyen uygulamalarından kaynaklanmaktadır ve dolayısıyla en fazla risk altındaki gıdalar pişmemiş veya hafif pişmiş ürünlerdir. Gıda hazırlamak için kullanılan yüzeyler ve diğer araçlar (saç, giysi vb), gıda kaynaklı virüs bulaşması için araç görevi görebilir. HAV ve HEV gibi bazı enterik virüsler de ebeveyn yoluyla bulaşabilir. Gıda kaynaklı enfeksiyon, çok daha nadir de olsa zoonotik virüs ile enfekte olmuş bir hayvanın ürünlerinin tüketilmesi yoluyla da edinilebilir. Domuz eti, yaban domuzu veya geyik tüketiminden sonra HEV geçişi bildirilmiştir (Ruggeri ve ark, 2013).



Resim.1 Gıda kaynaklı virüslerin bulaşma yolları

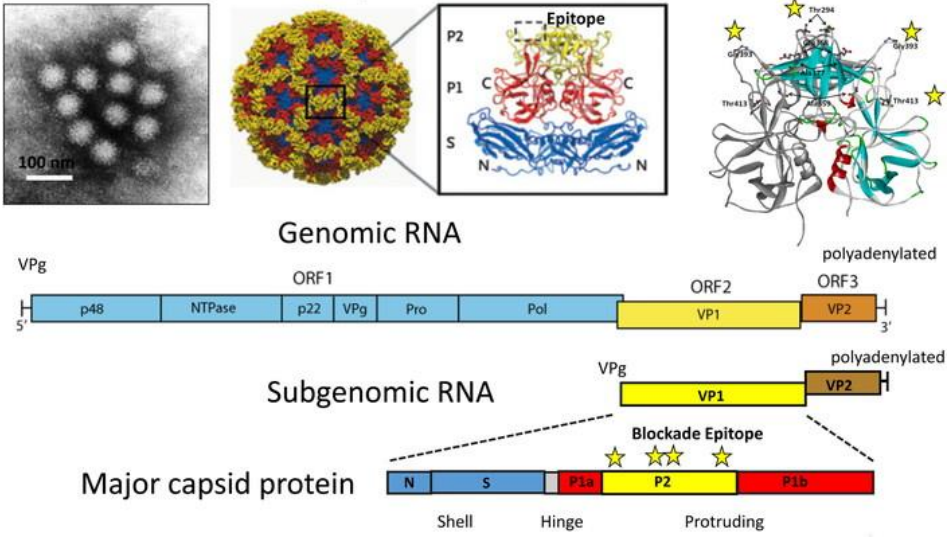
Tablo.1. 2022 yılında AB üye ülkelerinin raporlanmasında, virus etkenli gıda kaynaklı salgınların, insan vakalarının, hastaneye kaldırılmalarının ve ölümlerin sayısı,

Viruslar	Salgın (n)	Vaka (n)	Hospitalize (n)	Ölüm(n)
Flavivirus	3	8	8	0
Hepatitis A	8	71	14	0
Hepatitis E	4	10	7	0
Norovirus(ve diğer Calicivirus)	332	7305	97	2
Rotavirus	2	28	2	0
Diğer viruslar	4	621	7	0
Total	353	8043	135	2

AB'de Norovirus (ve diğer Calicivirüs), viral ajanlar içerisinde en fazla sayıda insan vakasına sebep olmuştur (n:7305). Tüm gıda kaynaklı salgınların %72,6'sını Norovirus ve diğer Calicivirus'lerin neden olduğu belirtilmiştir (EFSA, 2023).

Norovirus

Norovirusler (NoV), Caliciviridae familyasına ait, zarfsız, genetik olarak tek sarmallı RNA virüsleridir. Uluslararası virüs taksonomisi komitesi'ne göre Norovirus cinsinin Norwalk virüsü adı verilen bir türü vardır (Vinje ve ark, 2019). Norovirusler genetik olarak en az yedi farklı genogruba (GI, GII, GIII, GIV, GV, GVI ve GVII) sınıflandırılabilir ve bunlar ayrıca diğer genetik kümelere veya genotiplere bölünebilir (Atmar ve ark, 2019).



Resim.2 Norovirus (Kaynak: Ushijima, 2014)

Bazen kış kusması hastalığı olarak da adlandırılan Norovirus, gastroenteritin en yaygın nedenidir. Enfeksiyon kansız ishal, kusma ve mide ağrısıyla karakterizedir. Ateş veya baş ağrısı da ortaya çıkabilir. Belirtiler genellikle maruziyetten 12 ila 48 saat sonra gelişir ve iyileşme genellikle bir-üç gün içinde gerçekleşir. Komplikasyonlar nadirdir ancak özellikle gençlerde, yaşlılarda ve diğer sağlık sorunları olanlarda dehidrasyonu içerebilir (CDC, 2023).

Norovirus, yaygın değişken bağışıklık yetmezliği olan veya organ nakli sonrası bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler gibi bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde uzun süreli bir enfeksiyon oluşturabilir (Bok ve Green, 2013).

Virüs genellikle fekal-oral yolla yayılır. Bu, kontamine yiyecek, su veya kişiden kişiye temas yoluyla olabilir. Ayrıca kontamine yüzeyler, enfekte bir kişinin kusmuğundan gelen hava yoluyla da yayılabilir (Brunette, 2017).



Resim 3. Norovirusün gıdalar yoluyla yayılması
Kontamine gıdalar yoluyla yayılması:

- Norovirüslü bir kişi yiyeceğe çıplak elleriyle dokunması.
- Yiyecek, üzerinde kaka veya kusmuk parçacıkları bulunan bir tezgah veya yüzeye yerleştirilmesi.
- Norovirüslü bir kişiden gelen küçük kusmuk damlaları havaya sıçrayıp, yiyeceğin üzerine düşmesi.
- İstiridye gibi yiyeceklerin kirli suda yetişmesi veya meyve ve sebzelerin tarlada kirli suyla sulanması.

Kirli su yoluyla yayılması:

- Kaynaktan, örneğin bir fosseptik kuyuya sızması.
- Norovirüslü bir kişi suya kustuğunda veya dışkılaması.
- Yeterli klor eksikliği gibi su uygun şekilde arıtılmaması.

Hasta insanlardan ve kontamine yüzeylerden yayılması:

- Norovirüslü bir kişi yüzeylere çıplak elleriyle dokunması
- Norovirüslü bir kişiden gelen küçük kusmuk damlaları havaya sıçrar, yüzeylere düşer veya başka bir kişinin ağızına girer.
- Norovirüslü bir kişide yüzeylere sıçrayan ishal vardır (CDC, 2023).

Norovirus dünyada yılda yaklaşık 685 milyon hastalık vakasına ve 200.000 ölüme neden olmaktadır (Nguyen ve ark, 2017). En sık beş yaşın altındaki kişiler etkileniyor ve gelişmekte olan dünyada bu grupta yaklaşık 50 bin ölümler sonuçlanıyor. Norovirus enfeksiyonlarına kış aylarında daha sık rastlanır. ABD’de gıda kaynaklı salgınların yaklaşık olarak yarısını oluşturur. Norovirus

adını 1968 yılında bir salgının meydana geldiği ABD'nin Ohio eyaletindeki Norwalk şehrinden almıştır (Brunette, 2018).

EFSA'nın yayınladığı Avrupa Birliği Tek Sağlık 2022 Zoonoz Raporuna göre; Norovirus 2021'e kıyasla %11,6 artışla (7305 salgınla ilişkili vakaların %15'i) en fazla insan vakasıyla ilişkilendirilen etken olmuştur (EFSA, 2023).

Norovirusün tanısı: Norovirusün spesifik tanısı rutin olarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizleri veya kantitatif PCR analizleri ile yapılır. Birkaç saat içinde sonuç verir. Bu testler çok hassastır ve 10'a kadar virüs parçacığını tespit edebilir (Marshall ve Bruggink, 2006). Norovirus suşlarının karışımına karşı antikorları kullanan ELISA gibi testler ticari olarak mevcuttur, ancak özgüllük ve duyarlılıktan yoksundur (Wilhelmi ve ark, 2007).

Patogenez: Norovirus vücuda ağızdan alındıktan sonra üst bağırsak kanalında (duodenum ve üst jejunum) çoğalır. Bağırsak villuslarında genişleme ve körleşme meydana gelir. Norovirus enfeksiyonu, enfekte bağırsak hücrelerindeki enzim aktivitesini değiştirir (Ushijima, 2014).

Norovirus enfeksiyonuna karşı insanın bağışıklık tepkisi de belirsizliğini koruyor. Bu belirsizliğin bir nedeni, insan Norovirusünün hücre kültüründe ürememesidir. Rotavirüs enfeksiyonundan farklı olarak yetişkinler, Norovirüse karşı antikorları olsa bile tekrarlayan Norovirus enfeksiyonuna duyarlı bulunur. Muhtemelen, antikorları nötralize eden Norovirus uzun süre kalıcı değildir (Tamminen ve ark, 2013).

Norovirus enterik sistemden dışkı ve kusmukta salınır. Norovirus RNA'sı dışkıda birkaç gün ve haftalar boyunca bulunur. Norovirusün ortalama saçılma süresi 14 gündür, bazı bireylerde bu süre 32 güne kadardı. Bebekler genellikle Norovirüsü yetişkinlerden daha uzun süre saçarlar. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar virüsü 30 günden daha uzun süre salgırlar. Norovirus enfeksiyonunda yetersiz beslenmeye bağlı ölüm sıklıkla rapor edilir (Ushijima, 2014).

Tedavi: Norovirus enfeksiyonunun tedavisi antibiyotiklerle mümkün değildir. Tedaviler, kusma ve ishal sırasında sıvı kaybından dolayı meydana gelen dehidratasyonun azaltılması gibi önlemlerle komplikasyonları ve semptomları hafifletmeyi amaçlamaktadır.

Hepatit A virüsü

Hepatit A virüsünün (HAV) genomu 7500 nükleotidlik doğrusal, pozitif sarmallı bir RNA'dan oluşur. Genotipler geleneksel olarak VP1-2A bölgesinin 168 nükleotidlik bir segmentinin analizine dayanarak tanımlanır. Bu diziyeye

dayanarak I'den VI'ya kadar altı HAV genotipi tanımlanmıştır. A ve B alt tiplerine ayrılan genotip I, II ve III, insanları enfekte eder. Genotip dağılımına ilişkin veriler, genotip I'in dünya çapında en yaygın olduğunu, IA'nın IB'den daha sık rapor edildiği bildirilmiştir (Desbois ve ark, 2010).

Belirtiler: Hastalık, özellikle beş yaşın altındaki çocuklarda sıklıkla asemptomatik veya hafif seyreder. Erişkinlerde hastalığın başlangıcı genellikle ateş, halsizlik ve karın rahatsızlığıyla birlikte ani olur. Sarılık en önemli semptomdur. Semptomlar bir veya iki haftadan aylara kadar sürebilir. Vakaların %15'inde bir yıla kadar süren uzun süreli, tekrarlayan hepatit ortaya çıkar. Hiçbir kronik enfeksiyonun meydana geldiği bilinmemektedir ve enfeksiyon yaşam boyu bağışıklık sağlar. Vaka-ölüm oranı düşüktür (%0,1-0,3), ancak 50 yaşın üzerindeki yetişkinlerde veya altta yatan kronik karaciğer hastalığı olan kişilerde daha yüksek (%1,8) olabilir (Heymann, 2008; Koff, 1998).



Resim 4. Hepatit A'nın sebep olduğu sarılık

Bulaşma: Genellikle enfekte dışkıyla kontamine olmuş yiyecek veya içme suyunun yenilmesiyle yayılır. Ayrıca bulaşıcı bir kişiyle yakın temas yoluyla da yayılabilir (Matheny ve Kingery, 2012). Az pişmiş veya çiğ kabuklu deniz ürünleri yaygın kaynaklardır (Bellou, 2013). Çocuklar enfekte olduklarında sıklıkla semptom göstermeseler de yine de başkalarına hastalığı bulaştırabilirler. Tek bir enfeksiyondan sonra kişi hayatının geri kalanı boyunca bağışıklık kazanır. Semptomlar diğer birçok hastalığın belirtilerine benzer olduğundan tanı için kan testi yapılması gerekir (Pebody ve ark, 1998). Virüs gıda endüstrisinde kullanılan çeşitli koruma yöntemlerine, örneğin asitleştirme veya dondurmaya karşı çok dirençlidir. Bu nedenle kısa bir süre içinde birkaç vaka rapor edildiğinde olası gıda kaynaklı bulaşma araştırılmalıdır (Baert ve ark, 2009; Webert ve ark, 2008).

Tanı: Hepatit A'nın laboratuvar tanısı anti-HAV antikorlarının tespiti için spesifik serolojik testlerle yapılabilir. Anti-HAV IgM antikorları genellikle enfeksiyondan 4 hafta ila 4-6 ay sonra tespit edilebilir, nadiren 12 aydan uzun süre kalıcı olur. Anti-HAV IgG ve IgM antikorları, semptomun başlangıcından 1-2 hafta sonra aynı anda tespit edilebilir. Anti-HAV IgG daha sonra ömür boyu tespit edilebilir.

Virüsün epidemiyolojik amaçlar için moleküler karakterizasyonu, viral genomun belirli bölgelerinin karşılaştırmalı dizileme analizi ile gerçekleştirilir.

Tedavi: Hepatit A'nın spesifik bir tedavisi yoktur. Enfeksiyonu takiben semptomların iyileşmesi yavaş olabilir ve birkaç hafta veya ay sürebilir. Terapi, kusma ve ishal nedeniyle kaybedilen sıvıların yerine konulması da dahil olmak üzere konfor ve yeterli beslenme dengesinin korunmasını amaçlamaktadır (WHO, 2023).

Önleme: İyileştirilmiş sanitasyon, gıda güvenliği ve aşılama, hepatit A ile mücadelenin en etkili yoludur. Hepatit A'nın yayılması şu yöntemlerle azaltılabilir: yeterli miktarda güvenli içme suyu temini, topluluklarda kanalizasyonun uygun şekilde bertaraf edilmesi, Güvenli suyla düzenli el yıkama gibi kişisel hijyen uygulamaları (WHO, 2023).

Hepatit E virüsü

Hepatit E virüsü (HEV), dünya çapında akut viral hepatitin en yaygın nedenidir (Cooke ve ark, 2013). Virüs hem hayvanları hem de insanları enfekte edebilir. HEV'in dört genotipi dünyanın farklı bölgelerinde endemik olup, yalnızca insanları (HEV-1 ve HEV-2) veya hem insanları hem de hayvan türlerini (HEV-3 ve HEV-4) enfekte etmektedir. Gelişmiş ülkelerde virüs, esas olarak kontamine, uygun şekilde pişirilmemiş domuz eti veya av eti veya diğer et ürünlerinin tüketimi yoluyla insanlara bulaşan bir zoonozdur, aynı zamanda kabuklu deniz ürünleri veya kontamine sebzeler (HEV-3 ve HEV-4) gelişme aşamasındayken bulaşır (ECDC, 2023).

Belirtiler: İnsanlarda HEV enfeksiyonu çoğunlukla asemptomatik bir enfeksiyondur. Kuluçka süresinin iki ila altı hafta (60 güne kadar) olduğu tahmin edilmektedir (Lhomme ve ark, 2016). Akut vakalarda enfeksiyon başlangıçta yorgunluk, bulantı, ateş ve sarılık ile kendini sınırlayan bir hepatite neden olur. Diğer belirtiler arasında yüksek karaciğer enzim seviyeleri ve anormal karaciğer fonksiyon testleri, karın ağrısı ve hepatosplenomegali sayılabilir. Akut enfeksiyonu olan çoğu kişi bir ila beş hafta içinde tamamen iyileşir.

Bulaşma: Genotip 1, 2 ve 4'e bağlı HEV enfeksiyonları Asya, Afrika ve Orta Amerika'daki gelişmekte olan ülkelerdeki kötü sanitasyon koşullarıyla ilişkilidir. Avrupa'da Hepatit E, genotip 3 virüslerinden kaynaklanan zoonotik bir hastalıktır (Lewis ve ark, 2010). Su kaynaklarının veya yiyeceklerin kirlenmesi nedeniyle esas olarak fekal-oral yolla yayılır. Kişiden kişiye doğrudan bulaşma nadirdir (Kamar ve ark, 2014).

Epidemik hepatit E salgınları en sık şiddetli yağışlardan sonra, özellikle su kaynaklarının kesintiye uğraması nedeniyle muson yağmurlarından sonra ortaya çıkar; şiddetli su baskını kanalizasyonun su kaynaklarını kirletmesine neden olabilir (Kanki ve ark, 2012).

HEV, Avrupa'daki birincil rezervuar domuzlar olmak üzere geniş bir hayvan yelpazesinde tanımlanmıştır. Az pişmiş domuz eti, av eti veya diğer et ürünlerinin tüketimi ve domuz veya yaban domuzu ile mesleki temas, HEV enfeksiyonu için risk faktörleridir (Said ve ark, 2014; Wichmann ve ark, 2008).

Moleküler çalışmalar, çoğunlukla domuz etinden elde edilen kontamine gıda ürünleri yoluyla enfeksiyonu doğrulamıştır (Riveiro-Barciela ve ark, 2015). Domuz etinin yanı sıra kabuklu deniz ürünleri tüketimi de enfeksiyon kaynağı olarak gösterilmiştir (Pavio ve ark, 2015). Ayrıca mezbaha ve orman işçileri, avcılar, çiftçiler ve veterinerler gibi enfekte hayvanlarla doğrudan temas halinde olan ve mesleki olarak maruz kalan gruplarda genel popülasyona göre daha yüksek seropozitiflik görülmüştür.

Transfüzyon veya transplantasyon yoluyla bulaşan HEV enfeksiyonları sporadik olarak gözlemlenmiştir ve kan donörleri arasında asemptomatik enfeksiyonun yaygın olduğu düşünülmektedir (Abravanel ve ar, 2014).

Tanı: Akut enfeksiyonun Hepatit E tanısı, serumda anti-HEV IgM'nin ve/veya serum veya dışkı örneklerinde HEV RNA'nın pozitif saptanmasıyla doğrulanır. HEV genomunun tespiti genellikle HEV genotipleri 1'den 7'ye kadar geniş çapta tespit edebilen jenerik PCR veya gerçek zamanlı RT-PCR analizleri ile gerçekleştirilir (Baylis ve ark, 2011).

Tedavi: Akut hepatit E enfeksiyonunun kendi kendini sınırlayan bir hastalık olduğu kabul edilir ve spesifik bir tedavi önerilmez. Ancak hamile kadınlar, önceden karaciğer hastalığı olan kişiler veya bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar gibi risk grupları antiviral tedaviye ihtiyaç duyabilir. Bazı durumlarda immünsüpresif tedavinin azaltılması virüsün temizlenmesini destekler. Ribavirin ve bazı durumlarda pegile interferon alfa ile antiviral tedavi, kronik enfeksiyonların tedavisi olarak endikedir (Kamar ve ark, 2016).

Önleme: Genel olarak dünyanın her yerinde çiğ veya az pişmiş domuz eti ve kabuklu deniz ürünlerinin tüketiminden kaçınılmalıdır. Sağlık koşullarının zayıf olduğu ülkelere seyahat ederken, dış fırçalamak için kullanılan su da dahil olmak üzere tüm içme suyunun kaynatılması tavsiye edilir. İş eldivenleri ve botları giymek, HEV ile enfekte hayvanlara mesleki olarak maruz kalan işçilerde HEV enfeksiyonunu azaltabilir (Chaussade ve ark, 2013).

Rotavirüs

Reoviridaefamilyasındaki çift sarmallı RNA virüslerinin bir cinsidir. Rotavirüsler, bebekler ve küçük çocuklar arasında ishal hastalığının en yaygın nedenidir (Dennehy ve ark, 2015). Dünyadaki hemen hemen her çocuk, beş yaşına gelene kadar en az bir kez Rotavirüs ile enfekte olmaktadır (Bernstein 2009). Bağışıklık her enfeksiyonla birlikte gelişir, dolayısıyla sonraki enfeksiyonlar daha az şiddetli olur. Yetişkinler nadiren etkilenir (Grimwood ve Lambert, 2009). Cinsin A, B, C, D, F, G, H, I ve J olarak adlandırılan dokuz türü bulunmaktadır. En yaygın tür olan Rotavirüs A, insanlarda rotavirüs enfeksiyonlarının %90'ından fazlasına neden olur (Leung ve ark, 2005).

Bulaşma: Rotavirüsler fekal-oral yolla , kontamine eller, yüzeyler ve nesnelere temas yoluyla ve muhtemelen solunum yoluyla bulaşır. Viral ishal oldukça bulaşıcıdır. Enfekte bir kişinin dışkısu gram başına 10 trilyondan fazla bulaşıcı parçacık içerebilir, enfeksiyonun başka bir kişiye bulaşması için bunların 100'den azına ihtiyaç vardır (Dennehy, 2000).

Belirtiler: Rotaviral enterit bulantı, kusma, sulu ishal ve düşük dereceli ateş ile karakterize hafif ila şiddetli bir hastalıktır. Bir çocuğa virüs bulaştığında, semptomların ortaya çıkmasından önce yaklaşık iki günlük bir kuluçka dönemi vardır (Hochwald ve Kivela, 1999). Semptomlar genellikle kusmayla başlar ve bunu dört ila sekiz gün süren şiddetli ishal takip eder. Dehidrasyon, Rotavirüs enfeksiyonunda bakteriyel patojenlerin neden olduğu çoğu enfeksiyona göre daha yaygındır (Maldonado ve Yolken, 1990).

Rotavirüs enfeksiyonları yaşam boyunca ortaya çıkabilir: İlki genellikle semptomlara neden olur , ancak sonraki enfeksiyonlar genellikle hafif veya asemptomatiktir , bağışıklık sistemi bir miktar koruma sağlar (Offit, 2001).

Tanı: Rotavirüs enfeksiyonunun spesifik tanısı , çocuğun dışkısında enzim immünolojik testi ile virüsün bulunmasıyla konur. Rotavirüsün tüm serotiplerini tespit eden çok sayıda test kiti bulunmaktadır. Araştırma laboratuvarlarında elektron mikroskobu ve PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) gibi diğer yöntemler kullanılmaktadır. Ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR),

insan rotavirüslerinin tüm türlerini ve serotiplerini tespit edebilir ve tanımlayabilir (Angel ve ark, 2009; Fischer ve Gentsch, 2004).

Tedavi: Akut rotavirüs enfeksiyonunun tedavisi spesifik değildir ve semptomların yönetimini ve en önemlisi dehidrasyonun yönetimini içerir (Diggle, 2007). Tedavi edilmezse, ortaya çıkan ciddi dehidrasyon nedeniyle çocuklar ölebilir. Şiddetine bağlı olarak tedavi, oral rehidrasyon tedavisinden oluşur, bu tedavi sırasında çocuğa belirli miktarlarda tuz ve şeker içeren ekstra su içmesi sağlanır (Sachdev, 1996).

Önleme: Rotavirüsler oldukça bulaşıcıdır ve antibiyotik veya diğer ilaçlarla tedavi edilemez. 1998 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bir Rotavirüs aşısının kullanımına izin verildi. Amerika Birleşik Devletleri, Finlandiya ve Venezüella'daki klinik araştırmalar Rotavirüs A'nın neden olduğu şiddetli ishalin önlenmesinde %80-100 etkili olduğunu bulmuş ve araştırmacılar istatistiksel olarak anlamlı hiçbir ciddi yan etki tespit etmemiştir. Ancak üretici, aşının aşılardan her 12.000 bebekten birinde bir tür bağırsak tıkanıklığı olan intusepsiyon riskinin artmasına katkıda bulunabileceğinin keşfedilmesinin ardından 1999 yılında onu piyasadan geri çekti. Bu deneyim, Rotavirüs aşısının göreceli riskleri ve yararları hakkında yoğun tartışmalara yol açmıştır (Kapikian, 2001; Bines, 2005).

Astrovirüsler

ilk kez 1975 yılında insanlarda ishal salgını sonrasında elektron mikroskopları kullanılarak keşfedilen bir virüs türüdür. İnsanlara ek olarak, astrovirüsler çok sayıda memeli hayvan türünden, ördekler, tavuklar ve hindi kümesleri gibi kuş türlerinden izole edilmiştir. Astrovirüsler, elektron mikroskobu ile bakıldığında karakteristik beş veya altı köşeli yıldız benzeri yüzey yapısına sahip, tek sarmallı RNA'dan oluşan üçüncü bir zarfsız virüs ailesini içerir. İnsan Astrovirüslerinin dünya çapında küçük çocuklarda gastroenteritin önemli bir nedeni olduğu çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (Brown ve ark, 2008).

Nispeten yeni bir virüs ailesi olan Astroviridae'nin üyeleri olan Astrovirüsler, bağışıklık sistemleri az gelişmiş olan çocuklarda ve bağışıklık sistemleri genellikle bir şekilde zayıflamış olan yaşlı yetişkinlerde gastroenteritin bir nedeni olarak kabul edilmektedir. Dışkı maddesinde ve bağırsak epitelyal hücrelerinde viral partiküllerin varlığı, virüsün insanların gastrointestinal kanalında çoğaldığını gösterir. Ana semptomlar ishaldir, bunu bulantı, kusma, ateş , halsizlik ve karın ağrısı takip eder. Bazı araştırmalar hastalığın kuluçka süresinin

yaklaşık üç ila dört gün olduğunu göstermiştir. Astrovirüs enfeksiyonu genellikle ciddi bir durum değildir ve yalnızca bazı nadir durumlarda dehidrasyona neden olur (Wikipedia, 2023).

Semptomların ciddiyeti ve çeşitliliği, vakanın geliştiği bölgeyle ilişkilidir. Bunun nedeni, söz konusu Astrovirüs türünün yaşam döngüsünü veya bulaşma yöntemini etkileyen iklim faktörleri olabilir. Yetersiz beslenme ve bağışıklık yetersizliği durumu ağırlaştırarak daha ciddi vakalara veya hastanede bakım gerektirebilecek ikincil durumlara yol açabilir. Aksi takdirde enfekte kişilerin hastaneye yatırılmasına gerek yoktur çünkü semptomlar 2 ila 4 gün sonra kendiliğinden azalacaktır (Astroviruses, 2023).

İnsan Astrovirüsleri, kontamine olmuş gıda ve sudaki tespit ve inaktivasyon ile kontamine olmuş fomitlerin dezenfeksiyonu ile önlenabilir (Bosch ve ark, 2014).

SONUÇ

Gıda kaynaklı viral hastalıkların önlenmesinde ulusal gıda güvenliği sistemleri kurulması, hükümetlerin bu konuda hassas davranması, tüketicilere güvenli gıda seçimi ile ilgili bilinç ve duyarlılık kazandırılması çok önemlidir.

KAYNAKLAR

- Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Muscari F, Sallusto F, et al. (2014). Hepatitis E virus reinfections in solid-organ-transplant recipients can evolve into chronic infections. *Journal of Infectious Diseases*. 209(12):1900-6.
- Angel J, Franco MA, Greenberg HB (2009). Mahy WJ, Van Regenmortel MH (eds.). *Desk Encyclopedia of Human and Medical Virology*. Boston: Academic Press. p. 278. ISBN 978-0-12-375147-8.
- Anonim. "Astroviruses-Infectious Disease and Antimicrobial Agents". www.antimicrobe.org. Erişim Tarihi: 15.11.2023.
- Anonim. Centers for Disease Control and Prevention, CDC.(2023). <https://www.cdc.gov/norovirus/about/symptoms.html>. Erişim tarihi: 23.11.2023.
- Anonim. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). <https://www.ecdc.europa.eu/en/hepatitis-e/facts>. Erişim Tarihi: 12.12.2023.
- Anonim. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*,21(12),e8442.DOI:<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442>.

- Anonim. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Astrovirus#cite_note-36. Erişim tarihi: 17.12.2023.
- Anonim. World Health organization (WHO). <https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases>. Erişim Tarihi: 12.12.2023.
- Anonim. World Health Organization (WHO). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs328/en/>. Erişim tarihi: 22.12.2023.
- Atmar, Robert L; Baehner, Frank; Cramer, Jakob P; Lloyd, Eric; Sherwood, James; Borkowski, Astrid; Mendelman, Paul M; Al-Ibrahim, Mohamed S; Bernstein, David L; Brandon, Donald M; Chu, Laurence; Davis, Matthew G; Epstein, Robert J; Frey, Sharon E; Rosen, Jeffrey B; Treanor, John J (2019). "Persistence of Antibodies to 2 Virus-Like Particle Norovirus Vaccine Candidate Formulations in Healthy Adults: 1-Year Follow-up With Memory Probe Vaccination". *The Journal of Infectious Diseases*. 220 (4): 603–614.
- Baert L, Debevere J, Uyttendaele M. The efficacy of preservation methods to inactivate foodborne viruses. *International Journal of Food Microbiology*. 2009 May 31;131(2-3):83-94.
- Baylis SA, Hanschmann KM, Blümel J, Nübling CM. (2011). Standardization of hepatitis E virus (HEV) nucleic acid amplification technique-based assays: An initial study to evaluate a panel of HEV strains and investigate laboratory performance. *Journal of Clinical Microbiology*. 49(4):1234-9.
- Bellou, M.; Kokkinos, P.; Vantarakis, A. (2013). "Shellfish-borne viral outbreaks: a systematic review". *Food Environ Virol*. 5 (1): 13–23.
- Bernstein DI. (2009). "Rotavirus overview". *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 28 (Suppl 3): S50–S53.
- Bines, JE. (2005). "Rotavirus vaccines and intussusception risk". *Current Opinion in Gastroenterology*. 21 (1): 20–25.
- Bok, K; Green, K. Y. (2013). "Norovirus Gastroenteritis in Immunocompromised Patients". *New England Journal of Medicine*. 368 (10): 971.
- Bosch A, Pinto RM, Guix S. (2014). "Human astroviruses". *Clinical Microbiology Reviews*. 27 (4): 1048–74.
- Bosch, A. Pinto, R.M. Guix S. (2016). Foodborne viruses *Curr. Opin. Food Sci.*, 8 pp. 110-119.
- Brown DW, Gunning KB, Henry DM, Awdeh ZL, Brinker JP, Tzipori S, Herrmann JE. (2008). "A DNA oligonucleotide microarray for detecting human astrovirus serotypes". *Journal of Virological Methods*. 147 (1): 86–92.

- Brunette GW (2017). CDC Yellow Book 2018: Health Information for International Travel. Oxford University Press. p. 269.
- Chaussade H, Rigaud E, Allix A, Carpentier A, Touzé A, Delzescaux D, et al. (2013). Hepatitis E virus seroprevalence and risk factors for individuals in working contact with animals. *Journal of Clinical Virology*.58(3):504-8.
- Cooke GS, Lemoine M, Thursz M, Gore C, Swan T, Kamarulzaman A, et al. (2013). Viral hepatitis and the Global Burden of Disease: A need to regroup. *J Viral Hepat*. 20(9):600-1.
- Dennehy PH. (2000). Transmission of rotavirus and other enteric pathogens in the home". *Pediatric Infectious Disease Journal*. 19 (Suppl 10): S103–105.
- Dennehy PH. (2015). Rotavirus Infection: A Disease of the Past?". *Infectious Disease Clinics of North America*. 29 (4): 617–635.
- Desbois D, Couturier E, Mackiewicz V, Graube A, Letort MJ, Dussaix E, et al. (2010). Epidemiology and genetic characterization of hepatitis a virus genotype iia. *Journal of Clinical Microbiology*. Sep;48(9):3306-15.
- Diggle L. (2007). Rotavirus diarrhea and future prospects for prevention. *British Journal of Nursing*. 16 (16): 970–974.
- Fischer TK, Gentsch JR. (2004). "Rotavirus typing methods and algorithms". *Reviews in Medical Virology*. 14 (2): 71–82.
- Grimwood K, Lambert SB. (2009). "Rotavirus vaccines: opportunities and challenges". *Human Vaccines*. 5 (2): 57–69.
- Hall, A.J. Wikswo, M.E. Pringle, K. Gould, L.H. U.D. (2014). Parashar Vital signs: foodborne norovirus outbreaks-United States, 2009–2012 *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 63pp. 491-495.
- Heymann D. *Control of Communicable Diseases Manual*, 18th edition, Official Report of the American Public Health Association 2008.
- Hochwald C, Kivela L. (1999). "Rotavirus vaccine, live, oral, tetravalent (RotaShield)". *Pediatric Nursing*. 25 (2): 203–204, 207
- Kamar N, Lhomme S, Abravanel F, Marion O, Peron JM, Alric L, et al. (2016). Treatment of HEV Infection in Patients with a Solid-Organ Transplant and Chronic Hepatitis. *Viruses*. 15;8(8).
- Kamar, Nassim; Dalton, Harry R.; Abravanel, Florence; Izopet, Jacques (2014). "Hepatitis E Virus Infection". *Clinical Microbiology Reviews*. 27 (1): 116–138.

- Kanki, Phyllis; Grimes, D. Jay (2012). Infectious Diseases: Selected Entries from the Encyclopedia of Sustainability Science and Technology. Springer Science & Business Media. p. 391
- Kapikian AZ. (2001). "A rotavirus vaccine for prevention of severe diarrhoea of infants and young children: development, utilization and withdrawal". Gastroenteritis Viruses. Novartis Foundation Symposia. Vol. 238. pp. 153–171, discussion 171–179.
- Koff RS. (1998). Hepatitis A. Lancet. 30;351(9116):1643-9. PubMed PMID: 9620732.
- Koopmans M, Duizer E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. Int J Food Microbiol.90:23–41.
- Leung AK, Kellner JD, Davies HD. (2005). "Rotavirus gastroenteritis". Advances in Therapy. 22 (5): 476–487.
- Lewis HC, Wichmann O, Duizer E. (2010). Transmission routes and risk factors for autochthonous hepatitis E virus infection in Europe: A systematic review. Epidemiology and Infection.138(2):145-66.
- Lhomme S, Marion O, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Kamar N, Izopet J. (2016). Hepatitis E Pathogenesis. Viruses. 05;8(8).
- Maldonado YA, Yolken RH. (1990). "Rotavirus". Baillière's Clinical Gastroenterology. 4 (3): 609–625.
- Marshall JA, Bruggink LD (2006). "Laboratory diagnosis of norovirus". Clin. Lab. 52 (11–12): 571–81.
- Matheny, SC; Kingery, JE (2012). "Hepatitis A." Am Fam Physician. 86 (11): 1027–34, quiz 1010–1012.
- Narayan, K.G., Sinha, D.K., Singh, D.K. (2023). Foodborne Viral Infections. In: Veterinary Public Health & Epidemiology. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-7800-5_22
- Nguyen GT, Phan K, Teng I, Pu J, Watanabe T (2017). "A systematic review and meta-analysis of the prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis in developing countries". Medicine. 96 (40): e8139.
- Offit PA. (2001). Gastroenteritis viruses. New York: Wiley. pp. 106–124.
- Pal M, Ayele Y. (2020). Emerging role of foodborne viruses in public health. Biomed Res 5: 01-04.
- Pavio N, Rose N, Barnaud E, Doceul V. (2015). The plurality of hepatitis E: from clinical forms to animal strains. Virologie. 19(3):149-60.

- Pebody RG, Leino T, Ruutu P, Kinnunen L, Davidkin I, Nohynek H, et al. (1998). Foodborne outbreaks of hepatitis A in a low endemic country: An emerging problem? *Epidemiology and Infection*. 120(1):55-9.
- Pintó, R. Bosch, A. Kaplan G. (2014). Hepatitis A: immune response and virus evolution M.E. Gershwin, J.M. Vierling, M.P. Manns (Eds.), *Liver Immunology*, Springer International Publishing pp. 173-189.
- Riveiro-Barciela M, Minguez B, Girones R, Rodriguez-Frias F, Quer J, Buti M. (2015). Phylogenetic Demonstration of Hepatitis E Infection Transmitted by Pork Meat Ingestion. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 49(2):165-8.
- Ruggeri, F.M, DiBartolo, Ponterio, . I. E. Angeloni, G. Trevisani, M. Ostanello, F. (2013). Zoonotic transmission of hepatitis E virus in industrialized countries. *New Microbiol*, 36 pp. 331-344.
- Sachdev HP (1996). "Oral rehydration therapy". *Journal of the Indian Medical Association*. 94 (8): 298–305.
- Said B, Ijaz S, Chand MA, Kafatos G, Tedder R, Morgan D. 2014. Hepatitis e virus in England and Wales: Indigenous infection is associated with the consumption of processed pork products. *Epidemiology and Infection*. 142(7):1467-75.
- Tamminen K, Lappalainen S, Huhti L, Vesikari T, Blazevic V. Trivalent combination vaccine induces broad heterologous immune responses to norovirus and rotavirus in mice. *PLOS ONE*. 2013; 8(7): e70409.
- Takahashi, M. Okamoto H. (2014). Features of hepatitis E virus infection in humans and animals in Japan *Hepatol Res*, 44pp. 43-58.
- Teunis P.F. Sukhrie F.H. , Vennema, H. Bogerman, J. Beersma, M.F. Koopmans M.P. (2015). Shedding of norovirus in symptomatic and asymptomatic infections. *Epidemiol Infect*, 143 pp. 1710-1717.
- Todd, E. Grieg. J. (2015). Viruses of foodborne origin: A review: *Virus Adaptation and Treatment*, 7 pp. 25-45.
- Ushijima, H et al. (2014). Norovirus and foodborne disease: a review. *Food Safety* 2, 37–54.
- Vinje, J, Estes, M.K, Esteves, P, Green, K.Y, Katayama, K, Knowles, N.J, L'Homme, Y, Martella, V, Vennema, H, White, P.A. et al. (2019). ICTV Virus Taxonomy Profile: Caliciviridae. *J. Gen. Virol.* , 100, 1469–1470.
- Webert KE, Cserti CM, Hannon J, Lin Y, Pavenski K, Pendergrast JM, et al. (2008). Proceedings of a consensus conference: Pathogen inactivation-making decisions about new technologies. *Transfusion medicine reviews*. 22(1):1-34

- Wichmann O, Schimanski S, Koch J, Kohler M, Rothe C, Plentz A, et al. (2008). Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *Journal of Infectious Diseases*. 198(12):1732-41.
- Wilhelmi de Cal I, Revilla A, del Alamo JM, Román E, Moreno S, Sánchez-Fauquier A (2007). "Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis". *Clin. Microbiol. Infect.* 13 (3): 341–3.

BÖLÜM 29

TÜRKİYEDE'Kİ İŞ KAZALARINDA YSA MODELLEME ÖRNEĞİ

Şeyhmus AYDIN¹
Abdulkadir BİLGİN²
Emine CAN³

¹ İstanbul Medeniyet Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü İş Sağlığı ve Güvenliği Ana Bilim Dalı İstanbul/ Türkiye

² Akdeniz Üniversitesi Hastanesi, İş Güvenliği Uzmanı, Antalya/Türkiye

³ İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Fizik Mühendisliği Bölümü İstanbul/ Türkiye

1. GİRİŞ

Ülkemizde iş sağlığı ve güvenliğine dair yapılacak çalışmalar, 30 Haziran 2012 tarihinde resmî gazetede yayınlanarak yürürlüğe giren 6331 Sayılı İş Sağlığı ve Güvenliği Kanununun özel sektör ve kamu ayrımı yapmaksızın tüm çalışanları iş sağlığı ve güvenliğinin kapsamına almasıyla birlikte yeni bir yaklaşımın içerisine girmiştir. Kanunun ilk çıktığı günden bugüne ülkemizde iş sağlığı ve güvenliği profesyonellerinin her geçen gün artması, iş sağlığı ve güvenliği eğitimlerinin çeşitli üniversitelerde müfredata girmesi, lisans ve ön lisans programlarının çoğalmasıyla, eğitim almış uzmanların yetişmesi işverenlerin, iş sağlığı ve güvenliği hizmetlerine ulaşması noktasında önemli kazanımlar sağlamıştır. İş sağlığı ve güvenliği hizmeti olarak işletmelerinde iş sağlığı ve güvenliğine önem veren kamu ve özel sektör işletmelerinin en önemli amacı iş kazası ve meslek hastalıklarının önlenmesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan araştırmalar iş kazalarının %98'inin, meslek hastalıklarının %100'ünün önlenebilir olduğunu göstermektedir (Yılmaz, 2014).

Dünyada teknolojinin her geçen gün birçok yenilikle karşımıza çıkmasıyla birlikte iş sağlığı ve güvenliğinde de yeni yöntemler ve yeni yaklaşımlar günden güne artmaya başlamıştır. Özellikle 11 Mart 2020 tarihinde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından küresel salgın olarak adlandırılan Covid-19 pandemisi ile dijital dünyaya hızlı bir geçiş gerçekleşmiş ve bundan iş sağlığı ve güvenliği hizmetleri de etkilenmiştir. Pandemi ile hayatımıza birçok yenilik girmiş, iş hayatı başta olmak üzere birçok alanda yepyeni bir dünyayla karşı karşıya kalmış durumdayız. Değişen şartlar iş dünyasını üretimde yeni teknolojilere yönelmek zorunda bırakmıştır. Yaşanan bu süreç özellikle yapay sinir ağlarını temel alan teknolojik yaklaşımlarını temel alan çalışmaların artmasıyla, eğitim, sağlık vb. başta olmak üzere iş güvenliği hizmetlerinde de yepyeni bir dünyayla uyanmamıza sebep olmuştur. Öyle ki daha önceden nadiren görülen yapay zekâ uygulamalarıyla, uygulamalı iş sağlığı ve güvenliği eğitimleri çok hızlı bir şekilde yaygınlaşmaya başlamış ve yapay sinir ağları denilen yöntemler iş sağlığı ve güvenliğinin devamlılığının sağlanması için çok büyük bir öneme sahip olmuştur. Yapay zekâ tabanlı geliştirilmiş yöntemlerden beklenen ise, insana has bir özellik olan düşünme yeteneğinin bilgisayar programları aracılığı ile kopyalayarak, bilgisayarlara, insana ait bir özellik olan öğrenme yeteneği kazandırabilmektir (Öztemel, 2012). Günümüzde kullanılan yapay zekâ yöntemlerinin başlıcaları; Uzman Sistemler, Bulanık Mantık, Sinirsel Bulanık Sistemler, Yapay Sinir Ağları (YSA) ve Genetik Algoritmalar olarak sayabiliriz.

Yapay sinir ağları, insan davranışları neticesinde ortaya çıkan olayların örneklerini inceleyip, bu olaylar hakkında genelleme ve buna bağlı bir tahmin

yaparak ilerde ortaya çıkabilecek örnekler hakkında mantıklı sonuçlar veren sistemlerdir. Yapay sinir ağı tabanlı çalışmalar, 1990'lı yıllardan itibaren hız kazanmış bu alanda sayısız bilimsel araştırma yapılmış ve çok sayıda yapay sinir ağı tabanlı çalışma yapılabilen bilgisayar modelleri oluşturulmuştur (Ardıç, 2015).

Yapay sinir ağlarının çalışma prensibi ile insanlarda bulunan sinir sisteminin çalışma şekli benzerdir. Yapay sinir ağı kullanılarak meydana getirilen sinir hücreleri algoritmalar yardımıyla birbirlerine bağlanarak bir yapay sinir ağı oluştururlar. Beynimizin tamamını saran bu sinir hücreleri sayesinde, yeni bilgilerin önceki bilgilerle birleştirilmesi, daha önce edindiğimiz bilgilerin geri çağırılması nöron da denilen sinir ağları sayesinde gerçekleşmektedir (Temel & Temel, 2016).

Yukarıda verilen bilgiler ışığında, insan sağlığı hizmetlerinde tahmin modellemesi yapılarak çıkan sonuçlar tartışılmıştır. Buradan sağlanacak bilgiler ışığında ilgili gruplarda yaşanacak iş kazalarının ve etkilerinin öngörülebilirliğini artırarak, gerek iş sağlığı ve güvenliği profesyonellerinin, gerek ise işverenlerimizin, çalışanların yaşayabilecekleri ölümlü iş kazası, geçici ve sürekli iş göremezlik tahminlerine göre önleyici politikalar üretmelerine yardımcı olmak hedeflenmektedir. Yapay sinir ağlarının derin öğrenme teknikleri kullanılarak, çalışma ortamına dair güvensiz durumların tespiti, tehlikelerin önceden belirlenmesi, ramak kala olay kayıtlarının etkin olarak tutulması ve iş kazalarının meydana gelmeden önlemesine büyük katkı sunacağı ortadadır.

2. YAPAY SİNİR AĞI

Yapay sinir ağları, gerçek bir insan beyninde bulunan fonksiyonların ortaya çıkardığı örnekleri kullanarak olayları öğrenebilen ve öğrendiklerinden yola çıkarak ortaya çıkabilecek olaylara nasıl yanıt verebileceklerini belirleyebilen bilgisayar sistemleridir. Bu bilgisayar sistemleri, insana has bir özellik olan ve beynimizin içerisinde bulunan özellikler sayesinde edindiğimiz öğrenme, olayları ilişkilendirme, belirleme, sınıflandırma, genelleme yaparak en iyi şekilde kullanma süreçlerini başarıyla gerçekleştirebilir (Öztemel, 2012).

Yapay sinir ağlarında, bir olayın ortaya çıkış sürecinin doğrusal olarak değil ve tüm ağa yayılmış şekilde olduğu görülür. Dolayısıyla bu sayede birbiriyle ilişkili ya da paralellik gösteren karmaşık doğrusal olmayan problemleri de çözmek mümkün hale gelmektedir. Yaşanmış olaylardan yola çıkarak, benzer olaylar karşısında kararlar almaya çalışan yapay sinir ağlarının ana işlevi insan beyninde olduğu gibi bilgisayarların öğrenme süreçlerinin geliştirilmesidir.

Elimizde bulunan veri ve örnekler yapay sinir ağlarını eğitecek şekilde eğitim ve test setlerine ayrılırlar. Eğitim tamamlandığında, ağın performansı yapılacak bir test yardımıyla ölçülür. Yapılan bu testin ortaya koyduğu veriler yapay sinir ağlarının bu alanda başarılı olup olmadığını göstermektedir. Geleneksel yöntemlerin aksine, yapay sinir ağları eksik bilgilerle çalışabilir ve eğitildikten sonra sonuç üretebilir. Bu durum yapay sinir ağlarını onları hatalara karşı daha toleranslı hale getirmektedir.

Ancak, yapay sinir ağlarında, eğitilmesi aşamalarında kullanılan, öğrenme katsayısı, hücre sayısı, yapay sinir ağlarındaki katman sayısı gibi parametreleri belirlemek için belirli bir standart ağ yapısı olmasa da yaşanan olumsuzluklar için farklı yaklaşımlar olabilir. Yani, var olan bir sorunun çözümü için uygun olan ağın nasıl oluşturulması gerektiğiyle ilgili herhangi bir kural yoktur. Diğer bir dezavantajı, yapay sinir ağlarının öğrenme sürelerindeki zamanın uzun olmasıdır (Karahan, 2011). Yapay sinir ağının eğitiminin ne zaman bitirebileceği ile ilgili en uygun zaman aralığını vererek en uygun sonucu elde etmemize yarayacak bir mekanizma henüz geliştirilmemiştir. Var olan soruna dair üretilen çözüm önerisinin nasıl ve neden üretildiği ile ilgili bilgiye ulaşmak mümkün olmadığından dolayısıdır ki yapay sinir ağının sonucuna dair güven eksikliği de karşımıza önemli bir dezavantaj olarak çıkmaktadır (Öztemel, 2012).

Yapay sinir ağları, öğrenmede eksik bilgiler olmasına rağmen sağladığı avantaj ve doğrusal olmayan verileri işleme yetenekleri sayesinde bugün birçok alanda kullanım alanı bulmaktadır. Günümüzde evlerimizde kullandığımız ev aletlerinden tutunda, hayatımızın vazgeçilmez bir parçası olan cep telefonlarımıza kadar yapay sinir ağı uygulama örneklerine rastlamak mümkündür. Yapay sinir ağı tabanlı uygulamaları; banka ve finans uygulamaları, endüstriyel faaliyetlerdeki uygulamaları, özellikle savunma sanayi gibi askeri faaliyetlerde ve sağlık alanındaki uygulamaları olarak sınıflandırabiliriz (Öztemel, 2012).

2.1 Yapay Sinir Ağlarının Yapısı

Yapay sinir hücreleri bir araya gelerek yapay sinir ağları denilen yapıları oluştururlar. Genel olarak çalışma prensipleri girdi verilerini, çıktı verilerine dönüştürmek olan yapay sinir ağlarının doğru bilgiyi üretebilmeleri için eğitilmeleri gerekir. Yapay sinir ağları için, birbirine bağlanmış birden fazla basit işlemci elemanından verilerinden çıktı oluşturan bir kara kutuya benzetilebilir. Şekil 2.1’de gösterilen kara kutu, dışarıdan aldığı verileri alıp, içerisinde ürettiği çıktı verilerini dışarıya aktarır. Bu işlemi yaparken kara kutu içerisinde neler olduğu bilinmez. Kara kutu olarak adlandırılmasından da anlaşılacağı üzere,

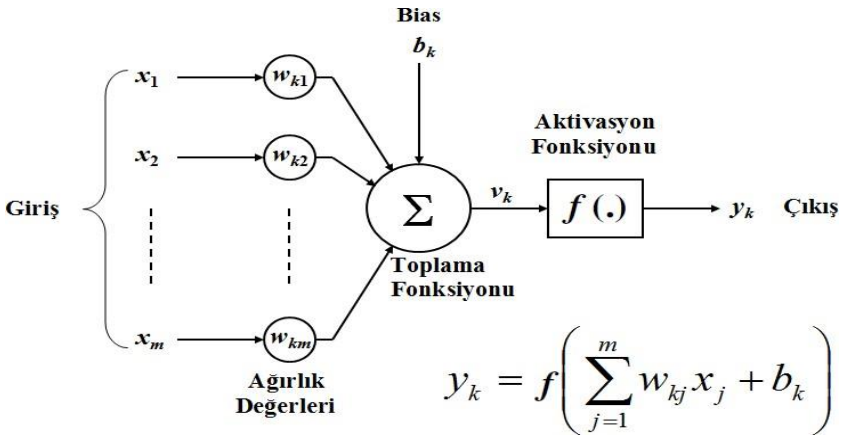
yapay sinir ağlarının sonuçları nasıl oluşturduğunu açıklama yeteneği bulunmamaktadır (Öztemel, 2012).



Şekil 2.1: *Yapay Sinir Ağlarının Kara Kutu Benzetmesi (Öztemel, 2012)*

Şekil 2.1’de gösterilen kara kutu, basit bir matematiksel fonksiyonu temsil etmektedir. Yapay sinir ağları bu fonksiyonun matematiksel karşılığına ihtiyaç duymaz çünkü kendisinin ihtiyaç duyduğu girdi örnekleridir. Diğer bir ifadeyle, modelin öğrenme sürecini tamamlaması için geçmiş ile alakalı girdi örneklerinin olması yeterlidir. Kullanılan girdi örnekleri ile bilgisayar tarafından öğrenilmesi istenen ilişkilerin doğru kurulması önemlidir. Var olan problemin ağa gösterim şekli, ağın sahip olduğu yapı, ağın öğrenmede kullandığı öğrenme kuralı, bilgi toplama ve sonuç üretme mekanizmalarının seçimi, ağın doğru sonuç verme potansiyeli üzerinde etkili olacaktır (Toktaş & Aktürk, 2004).

Hücrelerimizin bağlantı yapılarına, öğrenmede kullandıkları kurallara ve aktivasyon fonksiyonlarına göre farklı yapay sinir ağı modelleri geliştirilmiştir. Şekil 2.2 basit yapay sinir ağlarının geliştirilmesiyle meydana getirilen modern nöron modelini göstermektedir (Barut, 2013).



Şekil 2.2: *Modern Nöron Modeli (Barutçu, 2016)*

YSA'lar tek tabakadan oluştukları gibi, birden fazla tabakadan da meydana gelebilirler. Yaygın olarak kullanılan YSA mimarileri incelendiğinde, istenen veri çıkışını üretmesi için oluşturulan bir giriş tabakası, çıkış verilerinin elde edildiği çıkış tabakası ve bu iki katman arasında bulunun en az bir gizli tabaka bulunmaktadır. Giriş-çıkış tabakaları arasında bulunan gizli tabaka, dış ortama bağlantısı olmayan nöronlardan oluşmaktadır. Dışarı ile bağlantısı olmayan nöronlar girdi verilerini çıktı tabakasına gönderirler (Tolon & Tosunoğlu, 2008). Ağ üzerindeki gizli katman sayısı bir ya da birden fazla olmak zorundadır çünkü çıktı değerindeki verilerin elde edilmesi için girdi ve çıktı katmanları arasında bir gizli katman olmalıdır (Kartalopoulos, 1996).

2.3 Yapay Sinir Ağlarında Öğrenme Stratejileri

Yapay sinir ağları gibi verilen örneklerden öğrenme işlemi gerçekleştirilen sistemlerde, farklı farklı öğrenme stratejileri kullanılmakta ve öğrenmede kurulan algoritmada stratejilere göre değişiklik göstermektedir (Öztemel, 2012). Bunlar eğitici öğrenme, eğitici öğrenme ve destekleyici öğrenme stratejileridir (Masters, 1993). Yapay sinir ağlarındaki süreç elemanlarının (nöronlar) bağlantılarının ağırlık değerlerini belirleme sürecine ağırlık eğitimi denir. Başlangıçta rastgele atanan bu ağırlık değerleri, ağa örnekler gösterildiği gibi ağ tarafından değiştirilir. Yapay sinir ağına örnekler tekrar tekrar gösterilir ve doğru çıktıları üretmek için ağırlık değerlerinin bulunmasına izin verir (Öztemel, 2012).

3. MATERIAL VE YÖNTEM

İş kazalarından dolayı ortaya çıkan maddi ve manevi maliyet oranlarına bakıldığında ülke ekonomisine önemli bir yük getirdiği görülmektedir. Ayrıca iş kazasına bağlı meslekte kazanma gücü kaybı yaşayan kalifiye eleman oranında da önemli bir azalışa neden olarak nitelikli iş gücü kaybı yaşanmasına da neden olmaktadır. Dolayısıyla iş kazalarının önüne geçilmesi için yapılacak çalışmaların getirisi iş sağlığı ve güvenliği paydaşları açısından önemli bir yere sahip olmaktadır.

Buradan hareketle bu çalışmada insan beynindeki sinir ağlarının çalışma prensibinden yola çıkarak oluşturulan yapay sinir ağları (YSA)'nın iş kazası ve meslek hastalıklarının öngörülebilirliğine yönelik bir örnek oluşturması amaçlanmaktadır. 2001-2020 yılları arasındaki SGK istatistik yıllıklarından ülkemizde insan sağlığı hizmetleri alanında faaliyet gösteren iş kollarında yaşanan yıllara göre toplam iş kazası sayısı ve zorunlu sigortalı sayıları girdi (input) olarak kullanılarak, geçici ve sürekli iş göremezlik, cinsiyete göre iş kazası sayıları ve cinsiyete göre sürekli ve geçici iş göremezlik sayılarının yapay sinir ağları yöntemiyle tahmini yapılmıştır. Bu işlem yapılırken, SGK tarafından

kurumun internet sayfasından her yıl yayınlanan istatistik yıllıklarındaki veriler tablolar haline getirilerek MATLAB uygulamasında yapay sinir ağının bu verileri “derin öğrenmesi” sağlanmıştır. Devamında MATLAB uygulaması sayesinde girdiler uygulamaya yüklenerek çıktı olarak tahminlere dair veriler elde edilmiştir.

3.1 Veri Seti ve Veri Toplama Araçları

Yapılan bilimsel araştırmada kullanılan veriler Sosyal Güvenlik Kurumu (SGK) resmi istatistiklerinden elde edilmiştir. Elde edilen veriler, web sitesinde yıllık olarak yayınlanan raporlardan alınmıştır. Bu veriler, 2001-2020 yıllarına ait, Toplam iş kazası, zorunlu sigortalı sayısı, sürekli ve geçici iş göremezlik değişkenleri alınmış, Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Çalışmada Kullanılan Türkiye Geneli Veriler (2001-2020 Yılı Verileri)

2001	72367	4886881	1002	1866
2002	72344	5223283	872	1820
2003	76668	5615238	810	1451
2004	83830	6181251	841	1421
2005	73923	6918605	1072	1374
2006	79027	7818642	1592	1953
2007	80602	8505390	1043	1550
2008	72963	8802989	865	1452
2009	64316	9030202	1171	1668
2010	62903	10030810	1444	1976
2011	69227	11030939	1700	2093
2012	74871	11939620	744	2036
2013	191389	12484113	1360	1660
2014	221336	13240122	1626	1421
2015	241547	13999398	1252	3433
2016	286068	13775188	1405	4447

2017	359653	14477817	1633	3987
2018	430985	14229170	1541	3773
2019	422463	14314313	1147	4318
2020	384262	15203423	1231	3183

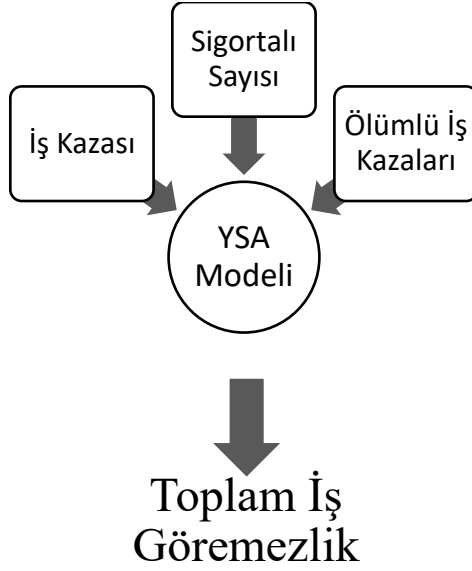
3.2 Tahmin Yöntemi

Yapılan bilimsel çalışmada doğrusal olmayan trend analiz yöntemlerinden hareketli ortalamalar analiz yöntemi kullanılarak yük tahmini yapılmıştır.

Geliştirilen YSA modelinde, iş kazası verisi, sigortalı ve iş göremezlik verilerinin ortalaması giriş parametreleri olarak seçilmiştir. Bu parametrelerin ortalama, standart sapma, azami ve asgari değerleri hesaplanarak tabloda sunulmuştur. Geliştirilen basitleştirilmiş YSA modeli Şekil 3.1’de gösterilmektedir. YSA modellemenin çıkış değeri hesaplaması aşağıdaki denklemde yer aldığı gibidir.

$$y = f(\sum_i^n x_i w_i + b) \quad (1)$$

Yukarıda gösterilen denklemde, y ile gösterilen çıkış değerini, n kullanılan örnek sayısını, f aktivasyon sayısını, xi giriş değerlerini, ω_i nöronların ağırlık değerlerini ve b ise bias değerini ifade etmektedir. Ağırlık ve bias değerlerinin çıkıştaki hata değerine göre güncellenmesiyle, hata oranının azaltılması ve değerlerin sıfıra yaklaştırılması amaçlanmaktadır



Şekil 3.1: Tasarımı Yapılan YSA Modeli

3.3 YSA Tahmin Modelinin Performansı

Oluşturulan bu bilimsel modelde bir çıkış ve üç giriş bulunmaktadır. Bilimsel modelin test ve tahmin modelleri test aşamasında yapay sinir ağları katman testleri denenmiş, diğer yandan farklı gizli katman sayıları hatayı küçültmek için test edilmiştir. Doğrulama, test ve eğitim için sonuçlar sunulmuştur. Ana değerlendirme ölçütü kullanılmasının temel sebebi test verileri içindir, doğrulama ve eğitim, modelin eğitimi için kullanılmıştır.

Tasarlan modellerde ölçüt olarak iki farklı değer kullanılmıştır. Birincisi tahmin edilen ile gerçek değer arasındaki yakınlığı ortaya koyan Ortalama Kare Hata (OKH) ölçütüdür. Elde edilen bu değer mümkün olduğunca küçük olması istenir. İkinci değerlendirme ölçütü ise bağlantı katsayısı (R) değeridir. Bu değer tahmin edilen değerlerin, gerçek değerlerin oluşturduğu doğrusal çizgiye olan yakınlığını ifade eder. Tahmin edilen değer ile gerçek değer arasındaki fark küçükse, tasarlanan model iyi bir sonuç vermiş sayılır. Hem R hem de OKH için en uygun değer 3-10-10-1 ağ yapısı ile sağlandığı saptanmıştır. Uygulamadaki tahmin yöntemleri bu model ile yapılarak Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: YSA Tahmin Performans Sonuçları

Katman Yapısı	Veri Tipi	R	OKH
3-6-6-1	Eğitim	0.9738	0.0019
	Doğrulama	0.9917	0.0005
	Test	0.9516	0.0007
3-8-8-1	Eğitim	0.9750	0.0018
	Doğrulama	0.9816	0.0006
	Test	0.9543	0.0007
3-10-10-1	Eğitim	0.9894	0.0017
	Doğrulama	0.9620	0.0009
	Test	0.9301	0.0007
3-12-12-1	Eğitim	0.9734	0.0009
	Doğrulama	0.9846	0.0011
	Test	0.9345	0.0008
3-6-1	Eğitim	0.9774	0.0012
	Doğrulama	0.9958	0.0025
	Test	0.9435	0.0012
3-10-1	Eğitim	0.9791	0.0018
	Doğrulama	0.9846	0.0005
	Test	0.9390	0.0008
3-12-1	Eğitim	0.9805	0.0018
	Doğrulama	0.9327	0.0006
	Test	0.9477	0.0008

4. BULGULAR

Yapılan bilimsel araştırmada kullanılan veriler Sosyal Güvenlik Kurumu resmi istatistiklerinden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde 2001-2020 yılları arasında Toplam iş kazası, Sigortalı sayısı, Toplam iş göremezlik sayısı,

Cinsiyete göre iş kazası sayısı, Cinsiyete göre geçici iş göremezlik süresi değişken verileri çalışmada YSA modelinin girdisi olarak kullanılmıştır.

A) Çalışmanın birinci aşamasında yıllara göre sürekli iş göremezlik ve ölümlü iş kazası tahminleri hesaplanmış ve sonuçlar aşağıda verilen Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

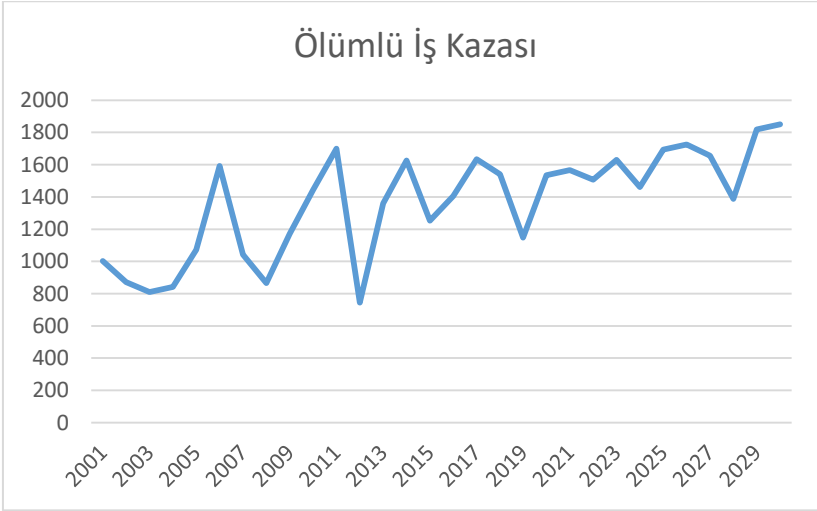
Tablo 4.1: SGK Verilerine Göre Tahmini Sürekli İş Göremezlik İstatistikleri

		2021	3635,992208
2001	1866	2022	3748,955844
2002	1820	2023	3861,919481
2003	1451	2024	2974,883117
2004	1421	2025	4087,846753
2005	1374	2026	3200,81039
2006	1953	2027	3913,774026
2007	1550	2028	3926,737662
2008	1452	2029	4539,701299
2009	1668	2030	4652,664935
2010	1976		
2011	2093		
2012	2036		
2013	1660		
2014	1421		
2015	3433		
2016	4447		
2017	3987		
2018	3773		
2019	4318		
2020	3523,028571		

Tablo 4.2: SGK Verilerine Göre Tahmini Ölümlü İş Kazası İstatistikleri

Yıl	Ölümlü İş Kazası	Yıl	Ölümlü İş Kazası
2001	1002	2021	1566
2002	872	2022	1507
2003	810	2023	1629
2004	841	2024	1461
2005	1072	2025	1693
2006	1592	2026	1724
2007	1043	2027	1656
2008	865	2028	1388
2009	1171	2029	1820
2010	1444	2030	1851
2011	1700		
2012	744		
2013	1360		
2014	1626		
2015	1252		
2016	1405		
2017	1633		
2018	1541		
2019	1147		
2020	1534		

Tablo 4.2'deki veriler kullanılarak ölümlü iş kazasının yıllara göre değişimi Grafik 4.1'de gösterilmiştir.



Grafik 4.1: Ölümlü İş Kazası Tahmini

Buna göre, bu veriler incelendiğinde, 2021-2030 yılları arasında ölümlü iş kazası değerlerinde dengesiz artışlar ve azalışlar gözükmemekte, değişkenlere göre 2029-2030 yılları arasında oldukça yüksek bir artış göze çarpmaktadır.

Tablo 4.1 incelendiğinde ise sürekli iş görmezlik tahmin parametrelerinin istatistiksel analizi yapılmış olup, özellikle 2026 yılından itibaren iş görmezlik açısından sürekli bir artış olduğu dikkati çekmektedir.

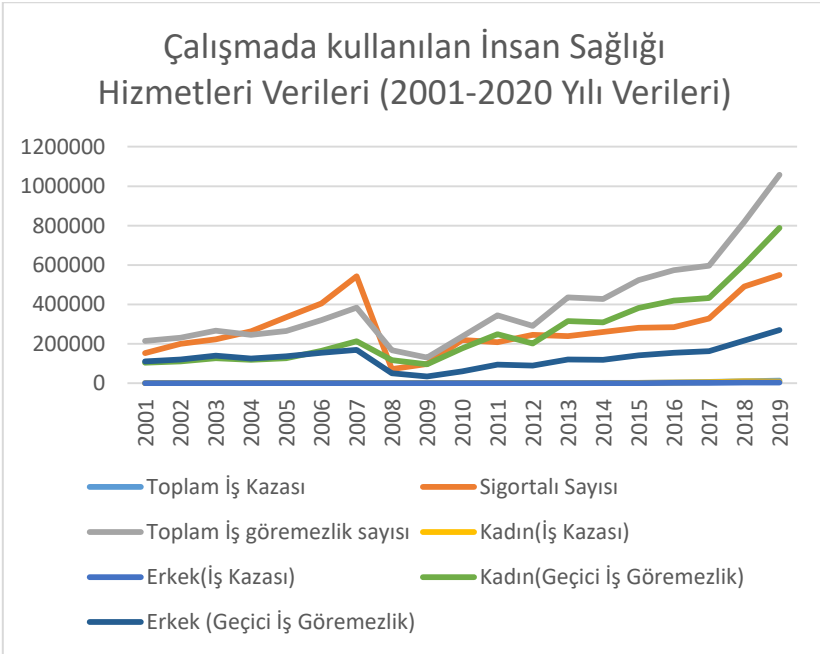
- B) Çalışmanın ikinci aşamasında 2001-2020 yılları arasındaki İnsan Sağlığı Hizmetleri Verileri Tablo (4.3) kullanılmıştır. Grafik 4.2’de verilerin dağılımı görülmektedir.

Tablo 4.3: Çalışmada kullanılan İnsan Sağlığı Hizmetleri Verileri (2001-2020 Yılı Verileri)

Yıl	Cinsiyete Göre İş Kazası Sayısı				Geçici İş Görmezlik Süresi		
	Toplam İş Kazası	Sigortalı Sayısı	Toplam İş Görmezlik sayısı	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
2001	307	153496	215519	36	271	104146	111315
2002	300	199696	231670	30	270	110748	120918
2003	345	222973	267103	45	300	127395	139703
2004	323	262921	245382	36	287	119602	125773

Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Akademik Araştırma ve Derlemeler

2005	261	335567	265121	35	226	127800	137313
2006	275	404300	320009	56	219	165213	154785
2007	284	542746	383951	57	227	213850	170098
2008	72	72602	167358	25	47	116719	50636
2009	83	98601	130650	41	42	96392	34254
2010	100	219306	237267	55	45	177226	60039
2011	123	207985	344025	63	60	248587	95436
2012	131	246520	291923	71	60	202490	89432
2013	1130	238597	436212	687	443	316032	120180
2014	2006	260498	428370	1282	724	309087	119283
2015	2939	281643	523714	1993	946	381858	141856
2016	4460	284363	573238	2958	1502	418780	154458
2017	7020	327963	595860	4680	2340	432915	162944
2018	10407	491631	819292	10407	3394	602991	216301
2019	13773	549861	1057438	9302	4471	787513	269925
2020	18840	812270	2572125	6643	12197	1846081	726044

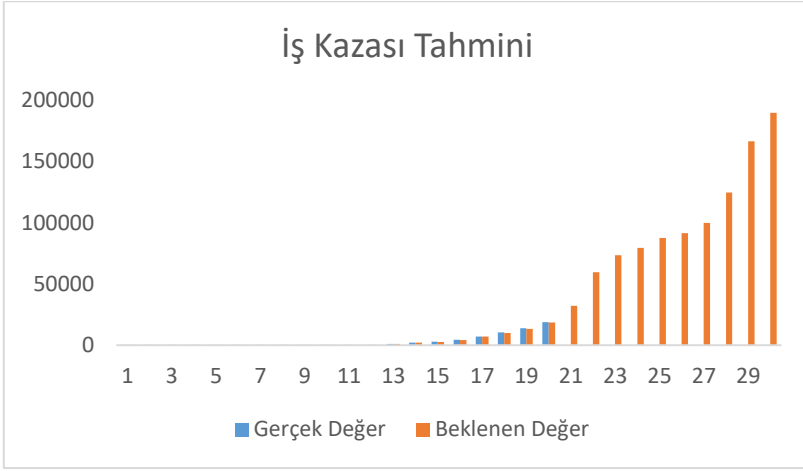


Grafik 5.3: Çalışmada kullanılan İnsan Sağlığı Hizmetleri Verileri Grafiği

YSA ile tasarlanan modelde, tahmini iş kazası değerlerinin 2001-2020 yılları arasında gerçek verileri ile, 2021-2030 yılları arasında da beklenen tahmini değerleri hesaplanarak Tablo 4.4'de gösterilmiştir. Model aralıkları değerlendirildiğinde iş kazası tahminlerinin öncelikle geçmişteki tahminleri de yapılmış ve birbirlerine yakın değerler çıkmıştır. Elde edilen sonuçlar Grafik 5.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4: Hareketli Ortalamalarla elde edilen 2021-2030 yılları arası Toplam İş Kazası Tahmini

Yıl	İş Kazası	Tahmini İş Kazası	Yıl	Tahmini İş Kazası
2001	307	324,5	2021	32145,6
2002	300	313,8	2022	59542,8
2003	345	335,9	2023	73451,6
2004	323	346,4	2024	79521,6
2005	261	299,0	2025	87541,6
2006	275	285,5	2026	91454,4
2007	284	291,4	2027	99874,7
2008	72	133,4	2028	124541,9
2009	83	143,5	2029	166547,8
2010	100	156,6	2030	189745,6
2011	123	159,0		
2012	131	131,4		
2013	1130	911,8		
2014	2006	1984,4		
2015	2939	2654,1		
2016	4460	4125,1		
2017	7020	6985,4		
2018	10407	9845,6		
2019	13773	13254,4		
2020	18840	18541,6		



Grafik 5.4: Toplam İş Kazası Tahmini Değerleri

6. TARTIŞMA ve sonuç

Yapılan uygulamalara bakıldığında yapay sinir ağı modelleri gerçek değerlere yakın sonuçlar verdiği görülmektedir. Hemen hemen her adımda (eşitliklerin sırayla işlenmesi) üretilen çıktılar bir sonraki adıma girdi olarak kullanılmıştır. Her aşamada yapay sinir ağının bulduğu değerler düzeltme yapılmadan bir sonraki eşitliğin girişinde test verisi olarak kullanılır. Sonuç olarak tüm YSA modellerinin ürettiği sonuçlar sürekli olarak işlenir ve bir sonraki aşamaya geçilir. Bu şekilde, ağı kendi içindeki değerler arasındaki sapma oranı ve etkileşim kontrol edilmiştir. Her adımdaki sapma oranı aynı şekilde bir sonraki adıma aktarılır. YSA'nın ilk adımından son adımına kadar her adımdaki sapma oranları da gözlemlenmiş, son adımdaki standart sapma hesaplanmış ve algoritmasındaki toplam sapma ve adımlar arasındaki sapmalar hesaplanmıştır.

Elde edilen verilerden çıkan sonuçlar incelendiğinde, TÜİK'in elde ettiği mevcut değerler ile regresyon ve zaman serisi kullanılarak ulaşılan talep tahmin sonuçlarının birbirlerine yakın olduğu gözlemlenmiştir.

İş kazalarının önlenmesinde en büyük pay alınacak tedbir ve önlemlerdir. Ülkemizde alınacak önlemlerin sorumluluk ve yükümlülükleri kısmında işveren ve çalışanlara görevler düşmektedir. İşverenler iş sağlığı ve güvenliği açısından alınacak önlemleri teknolojinin getirdiği en son yenilikler ışığında almakla, çalışanlarda alınan tüm tedbirlere riayet etmekle yükümlüdürler. Buradan hareketle işverenleri açısından bakıldığında faaliyet gösterdikleri sektörlerde yaşanabilecek iş kazalarının önceden öngörülmesi ve bunlara dair önlemlerin alınması maddi kayıpların önlenmesi açısından önem arz etmektedir. Ülkemizde SGK tarafından yayınlanan istatistik yıllıklarında ülkemizde faaliyet gösteren

meslek gruplarına ve iş kazası sayılarına kadar birçok alanda çok önemli veriler paylaşılmaktadır. Özellikle 6331 Sayılı İş Sağlığı ve Güvenliği Kanununun kamu ve özel sektör ayrımı gözetmeksizin bütün alanlarda uygulanmasıyla birlikte kayıt altına alınan iş kazası sayılarında da artış olmuştur. Her yıl artan nüfusa oranla ve ekonomik faaliyetlerdeki artışlarla doğru orantılı olarak artan sigortalı çalışan sayılarında da sürekli artış olduğu yayınlanan istatistiklerden görülmektedir. Ayrıca aynı yıllıklarda iş kazalarına bağlı olarak ödenen sürekli ve geçici iş göremezlik sayıları da SGK yıllıklarından görülebilmektedir. Belirtilen konu başlarında geçtiğimiz yirmi yıllık verilere bakıldığında sürekli bir artışla karşı karşıya kalınmaktadır. Bu artışa bağlı olarak da her yıl ödenen miktarlarda sürekli bir artış olacağı açıktır.

Bu çalışmada yapay sinir ağları kullanılarak SGK istatistik yıllıklarından alınan veriler ışığında genelden özele bir tahmin modellemesi yapılmıştır. Yapay sinir ağları kullanılarak tahmin edilen değerlerin, gerçek değerlerle çok yakın olduğu birçok çalışmada karşımıza çıkmaktadır. Literatür incelemesi yapıldığında birçok sektörde özellikle otomotiv, meteoroloji, elektrik vb. alanlarda yapılan çalışmaların çok iyi sonuçlar verdiği görülmektedir. İş sağlığı ve güvenliği alanında da yapılmış yapay sinir ağları ile ilgili çalışmalar olmakla beraber gelecekte ortaya çıkabilecek maddi ve manevi kayıpların önlenmesi amacıyla yapılmış çalışmalara çok fazla rastlanmamıştır. Yakın gelecekte yapay sinir ağları tabanlı uygulamaların her alanda olduğu gibi iş güvenliği alanında da sıkça rastlanacağı öngörülmektedir. Yapay sinir ağları tabanlı uygulamaların gelecek öngörüsünün fazla olması, yapılan çalışmalarda tahmin değerlerinin gerçek değerlere oldukça yakın çıkması gelecekte olabilecek durumların tahmininin yapılması açısından çok önemlidir. İş sağlığı ve güvenliğinde de iş kazalarının önlenmesi amacıyla işletmelerde tutulacak kayıtların yapay sinir ağları ile eğitilerek gelecek öngörüsü yapılması, iş kazalarının sifira indirilmesi çalışmalarına katkı sunması açısından önemlidir.

İş kazaları sonrası ortaya çıkan ödeneklerin işçi, işveren ve devlet açısından maliyetlerine bakıldığında tahmin modellemesiyle ortaya çıkan değerlerin gerçekle örtüşmesiyle birlikte, iş sağlığı ve güvenliğinde proaktif yaklaşıma yeni bir boyut kazandırılmış olunacaktır.

Yapılan test sonuçlarına göre modellemenin Yapay sinir ağının tahmin ettiği çıktı değerlerinin karşılaştırılmasına ait eğitim, doğrulama ve test verilerinin regresyon değerleri 0,98'e yapılan tüm çalışmalardaki tahmin değerlerinin regresyonuna ait değerlerde 0,98'e yakın çıktığı görülmüştür. Yapılan bu çalışma ile iş sağlığı ve güvenliği alanında uygulamacılar ve karar verme konumundaki yöneticilerin geleceğe yönelik planlama çalışmalarında bilindik yöntemlere bir

alternatif olarak yapay sinir ağlarını kullanabilecekleri görülmüştür. Burada en önemli konu sürekli ve geçici iş göremezlik sayılarında artışa bağlı olarak devlet tarafından ödenen maliyet oranları da artış gösterecektir. Dolayısıyla devlet giderlerinde bir atış ortaya çıkacaktır. Yapay sinir ağları yöntemiyle gerçeğe yakın tahminler yapılarak gelecekte ortaya çıkabilecek maddi ve manevi zararların önüne geçilebilecektir. Özellikle iş sağlığı ve güvenliği alanında yapılacak çalışmaların artmasıyla birlikte yaşanacak iş kazalarının azaltılması, buna bağlı her bir paydaşın yaşayabileceği zararın en aza indirilebileceğine inanılmaktadır.

Yapılan bu bilimsel çalışmada öncelikle geçmiş yıllardaki tahminlerinde geçmiş gerçeklik simülasyonu incelenmiş ve bu simülasyondan çıkan tahminler yer almıştır. Gerçeklik simülasyonu yapılmasının en büyük nedeni, geçmişteki verilerinde gerçekçilik payını hesaplamak ve gelecekte yapılan tahminlerin ön görüşünü tasarlanan modellerle desteklemektir. Çalışmada kullanılan değişkenler baz aldığında iş kazalarında, iş göremezliğinde gelecek yıllara göre ciddi artış gözlemlenmiş ve bu artışın önüne geçilmesi adına farklı değişkenlerin de kullanılması adına yeni yapılacak bilimsel çalışmalara öneri olarak literatürde yer almalıdır.

Yapay sinir ağı ve modellerin kullanımı ile yapılan çalışmada ele alınan değişkenlere farklı değişkenler eklenmesi bu konuda yapılacak çalışmalara ön ayak olacaktır. Yapay sinir ağının yanı sıra tahmin modelleri konusunda panel veri analizi, regresyon analizi ve diskriminant analizi gibi tahmin sonuçları veren farklı istatistik uygulamaları ile ilgili de çalışmalar bu değişkenler ekseninde kullanılabilir. SGK verilerine dayanarak yapılan bu çalışmada mevcut değişkenlerinde incelenerek iş sağlığı ve güvenliği konusunda çalışmalar genişletilmelidir. İnsan sağlığının ve iş güvenliğinin en önde geldiği günümüzde bu alanda yapılan çalışmalar derinleştirilmelidir.

YSA ile kurulan modellere göre yeni model tasarımları yapılabilir ve doğrusal olmayan modeller üzerinde gerçeğe yakın değer alma adına yapay sinir ağına yeni çalışmalar yapılmalıdır. Bilgiye ve verilere kolay ulaşıldığı modern dijital çağda veriler üzerinden gerçekçi tahminler çıkarmak istatistiksel uygulamaların doğru kullanılması, güncel haliyle tasarım oluşturulmasına bağlıdır. Yapay sinir ağı çalışmalarında da tasarım ve modellemeler üzerinde çalışmalar genişletilmelidir.

İlerde yapılacak olan çalışmalarda gerçekleşmesi muhtemel olaylar ve SGK kapsamında ele alınan değişkenler kullanılmalı ve değişken sayısının etki analizine göre artırılması önerilmektedir.

Sonuç olarak ülkemizde ve dünyada artan nüfusla birlikte artış gösterecek sigortalı sayısına bağlı olarak yaşanabilecek iş kazalarının önüne geçilmesi, nitelikli işgücünün artırılması, çalışılan gün sayısının artırılması, üretimde kalitenin artmasının sağlanması, kalifiye eleman eksikliğinin giderilmesi gibi konularında önüne geçilmesine katkı sağlayacaktır. İnsana yapılacak yatırımın en büyük yatırım olduğu gerçeği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

- AÇSHB. (2020). İstatistiklerle Türkiye'nin İSG Görünümü 2020. T.C. Aile Çalışma ve Sosyal Hizmetler Bakanlığı, İş Sağlığı ve Güvenliği Genel Müdürlüğü.
- Ardıç, S. (2015). Yapay sinir ağları kullanılarak santrifüj pompalarda performans tayini (Master's thesis, ESOGÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Barutçu, B. (2016). Signal Processing and Analysis in Renewable Energy Systems, Prediction Problem.
- Karahan, M. (2011). İstatistiksel Tahmin Yöntemleri: Yapay Nöron Ağları Metodu ile Ürün Talep Tahmini Uygulaması. *Doktora Tezi*. Konya, Türkiye: Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü.
- Kartalopoulos, S. V. (1996). *Understanding Neural Networks and Fuzzy Logic. Basic Concepts and Applications*. NewYork: Wiley-IEEE Press.
- Masters, T. (1993). *Practical Neural Network Recipes in C++*. USA: Academic Press.
- Öztemel, E. (2012). *Yapay Sinir Ağları*. İstanbul: Papatya Yayıncılık.
- SGK. (2022). www.sgk.gov.tr, <http://www.sgk.gov.tr/wps/portal/sgk/tr/kurumsal/istatistik> [Son Erişim 28.11.2022]
- Temel, S. D. & Temel, T. (2016). Bedensel-Zihinsel Gelişim, Hareket Kabiliyeti ve Öğrenme Sürecine Dans Eğitiminin Katkıları. *Fine Arts*, 11(4), 171-180.
- Toktaş, İ., & Aktürk, N. (2004). Makina tasarım işleminde kullanılan yapay zeka teknikleri ve uygulama alanları. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, (2) 7-20.
- Tolon, M., & Tosunoğlu, N. G. (2008). Tüketici Tahmini Verilerinin Analizi: Yapay Nöron Ağları ve Regresyon Karşılaştırması. *Gazi üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 10(2), 247-259.
- Yılmaz, F. (2014). Soma ekseninde Türkiye'de iş sağlığı ve güvenliği üzerine bir değerlendirme. *Egiad Yarın*, 42, 40-48.

BÖLÜM 30

BAKTERİYEL BİYOREMEDİASYON VE GÜNCEL ÇALIŞMALAR

Dr. Öğr. Üyesi Yeliz GENÇ BEKİROĞLU¹
Doç. Dr. Fadime ÖZDEMİR KOÇAK²

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bafra Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Orcid: 0000-0003-0666-1857

² Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Orcid: 0000-0002-8557-5166

GİRİŞ

Dünya nüfusunun artmasına paralel olarak gelişen sanayileşme, endüstriyel faaliyetler ve gıda talebine bağlı artan tarımsal faaliyetler sonucunda her yıl giderek biriken organik ve inorganik pek çok atık beraberinde büyük bir sorun olarak çevre kirliliğini getirmektedir (Mikhailenko ve ark., 2020). Kirliliğe sebep olan atıkların bertaraf edilmesi ise son yıllarda üstünde durulan önemli bir konudur. Özellikle toprakta biriken atık maddeler sadece buldukları toprakta kalmayıp, sızıntılarla yer altı sularını, yüzey akışlarıyla taşınarak da akarsular ve göller gibi temiz su kaynaklarını kirletmektedir. Toprakta biriken atık maddeler ekosistemin işleyişine olan olumsuz etkisinin yanı sıra besin zinciri ve biyolojik birikim yoluyla insan ve hayvan sağlığını da önemli ölçüde etkilemektedir. (Almasi ve ark., 2016; Vareda ve ark., 2016).

Dinamik ve canlı bir yapıda olan toprak, bünyesinde oluşan kirliliği kapasitesi ölçüsünde bertaraf edebilme yeteneğine sahiptir. Bu kapasiteyi aşan ve toprak kalitesini etkileyen her türlü madde “kirletici” olarak adlandırılır (Golui ve ark., 2019). Bu kirleticilerden çevrede en ağır hasarı oluşturanların başında; endüstriyel ve evsel atıklar içerisindeki ağır metaller, petrol ve türevi maddeler, gübreler, pestisitler ve kanalizasyon atıkları gelmektedir (Chen ve ark., 2015; Le ve ark., 2021). Toprağın bu kirleticilerden arıtılması için termal, kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemler mevcuttur. Ancak diğerlerine göre daha ucuz, kolay, düşük teknoloji ve özellikle de çevre dostu olması bakımından biyolojik yöntemler son yıllarda daha çok tercih edilmektedir.

Toprağın kendini kirleticilerden temizleyebilmesi; içerisinde doğal olarak bulunan başta mikroorganizmalar olmak üzere bitkiler, solucanlar, mantarlar gibi organizmaların faaliyetleri sayesinde gerçekleşir (Nei ve Kumar, 2000; Vural ve ark., 2018). Biyoremediasyon (Biyoyileştirme) olarak adlandırılan bu süreçte özellikle mikroorganizmalar, kirletici maddeleri sabitleyerek ya da enzimatik aktivitelerle zararsız son ürünlere dönüştürerek etki gösterirler. Bu süreç uygun çevresel şartlarda ve etkin mikrobiyal popülasyonun yeterli olduğu durumlarda kendiliğinden işler, ancak oldukça uzun yıllar sürebilir (Ajmal ve ark. 2021). Bu nedenle son yıllarda toprağın biyoremediasyon kapasitesini arttırmak ve hızlandırmak için yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar temelde mikrobiyal popülasyonun yetersiz olduğu yerlerde popülasyonu arttırmak amacıyla besin (azot ve fosfor gibi) ilave etmek, çevresel koşulları (pH, sıcaklık, toprak tipi, oksijen vs.) kontrol etmek ve etkinliği bilinen mikroorganizmaları ortama inoküle etmek gibi süreçleri içermektedir (Adams ve ark. 2015; King ve ark., 2017). Aynı zamanda mikroorganizmaların kirletici maddelerle yakın ilişkide olması ve onlara enzimatik olarak saldırması gerekmektedir (Adams ve

ark., 2015). Genellikle kirliliğin meydana geldiği doğal ortamda gerçekleştirilebilen, çevreye duyarlı, düşük maliyetli ve düşük teknoloji tekniklerin kullanılmasına uygun olması gibi avantajları sayesinde biyoremediasyon, çevre kirliliğini azaltmada gelecek vaadeden bir yöntem olarak pek çok araştırmacının dikkatini çekmektedir. (Vural ve ark., 2018; Gou ve ark., 2020).

Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sayesinde kirleticileri zararsız forma dönüştürme yetenekleri, organik kirleticilerden kaynaklanan kirliliğin biyodegradasyon yöntemleri ile giderilmesinde parçalayıcı ajan olarak tercih edilmelerini sağlamıştır. Biyoremediasyon çalışmalarında bu özellikleri bakımından en çok tercih edilen ajanlar olan bakteriler ise hızlı büyüme özelliğine sahip olmaları, kolay kullanımları ve düşük maliyetleri nedeniyle özellikle son yıllarda oldukça popüler mikroorganizmalardır. (Ergüven 2019; Nie ve ark., 2020). Bakterilerin biyoremediasyon potansiyellerinin kullanılarak özellikle ağır metaller, nitrat birikimi, pestisitler ve hidrokarbonlardan kaynaklı çevresel kirliliğe çözüm yollarının araştırıldığı çalışmalar son yıllarda hızla artmaktadır (Zhang ve ark., 2019; Xu ve ark., 2020; Zamule ve ark., 2021; Ulusoy ve ark., 2023). Ayrıca bakterilerin biyoremediasyon potansiyellerini artırmaya yönelik birçok çalışma da mevcuttur (Kim ve ark., 2005; Alvarado-Gutiérrez ve ark., 2020; Uçkun ve ark., 2021).

Bakteriler Kullanılarak Yapılan Biyoremediasyon Çalışmaları

Ağır Metallerin Bakteriyel Biyoremediasyonu

İnorganik kirleticiler arasında yer alan ağır metaller, toprak oluşumu sırasında ana kayanın yapısında bulunan silikat, sülfür, karbonat gibi sabit bileşikler halinde bulunabilir. Ancak artan endüstriyel ve tarımsal faaliyetler, sanayileşme vs. gibi etkenlerle toprakta birikmeleri ekolojik çevre ve sürdürülebilir tarım açısından tehdit oluşturmaktadır (Yao ve ark., 2012). Kirli topraklarda en çok bulunan ağır metaller sırasıyla krom (Cr), kurşun (Pb), bakır (Cu), kadmiyum Cd, çinko (Zn), cıva (Hg)ve arsenik (As)'dır (Khalid ve ark., 2017). Ağır metaller, biyolojik birikim yolu ile besin zincirine katıldığından düşük miktarda bile canlılar üzerinde zehirli etkiler meydana getirmektedir (Ackova, 2018). Bu nedenle biyoremediasyon çalışmalarında özellikle odaklanılan alanlardan biridir.

Ağır metallerin biyolojik olarak gideriminde mikroorganizmalar önce hücre duvarı bileşenleri sayesinde ağır metalleri adsorbe ederek metallerle kompleks oluştururlar. Daha sonra metaller hücre zarından geçer ve sitoplazmada tutulurlar (Ting ve ark., 1991; Holan ve Volesky, 1993). Bakteriler, metallere karşı geliştirdikleri bazı mekanizmalar sayesinde yoğun metal konsantrasyonlarında

bile hayatta kalabilirler (Koçberber Kılıç, 2008). Yapılan pek çok çalışmada; *E. coli*'nin Cu (II)'i içeri almamak üzere kanal proteinini değiştirmesi, ağır metalleri vakuollerde veya sitoplazmada biriktirmesi (Bruins ve ark., 2000), *Bacillus sp.*'de ve *E.coli*'de arseniğin dışarı pompalanması (Silver, 1996; Rosen, 2002), *Saccharomyces cerevisiae*'in Ni(II)'in glutatyon kompleksine bağlanarak hücreye girişini engellemesi (Ergül Ülger, 2016), $(AsO_4)^{-3}$, Hg (II) ve Cu (II) gibi metallerin daha az toksik forma dönüştürülmesi, *Synechococcus sp.*'nin metallothioneine, *Pseudomonas sp.*'nin ise sisteince zengin proteinlere bağlanması (Koçberber Kılıç, 2008) gibi direnç mekanizmaları tanımlanmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda birçok mikroorganizmanın metal bağlayıcı proteinler sentezlediği ve polisistein, polihistidin, ve metallothionein (MT) gibi metal bağlayıcı proteinlerin aşırı eksprese edilmesi ile bakterilerin metal bağlama kapasitelerinin artırılabilirliği gösterilmiştir (Kim ve ark., 2005). Ayrıca, yüksek ağır metal bağlama yeteneği nedeniyle, hem MT'nin, hem de MT'yi aşırı eksprese eden rekombinant *E. coli* hücrelerinin, kadmiyum, arsenik ve bakır gibi metallerin biyobirikimini arttırdığı ve biyogiderim çalışmalarında biyomateryal olarak büyük bir potansiyele sahip olduğu da ileri sürülmüştür (Toriumi ve ark., 2005; Singh ve ark., 2008; Sekhar ve ark., 2011). Ağır metallerin mikrobiyal süreçlerle biyoremediasyonu ile ilgili yapılmış çok sayıda güncel çalışma mevcuttur (Verma ve Kuila, 2019; Sharma ve ark., 2021; Yaqoob ve ark., 2022).

Dünyada yaygın olarak bulunan yedinci element olan krom (Cr), pek çok endüstriyel faaliyet alanında kullanılmakla birlikte toprağa ve suya deşarjı neticesinde kirliliğe neden olmaktadır. Krom doğada üç değerli Cr (III) ve altı değerli Cr (VI) gibi kararlı formlarının yanı sıra kromat (CrO_4^{-2}) ve dikromat ($Cr_2O_7^{-2}$) gibi farklı formlarda da bulunmaktadır (Su ve ark., 2018). Kirli ortamlardan kromun biyoremediasyonu ile ilgi pek çok araştırma bulunmaktadır. *Bacillus sphaericus* suşlarının Hg, Cu, Fe, ve Cr elementlerine karşı biyogiderimlerinin araştırıldığı bir çalışmada; kromun gideriminde canlı hücrenin % 25 oranında etkili iken ölü hücrenin % 44,5 oranda etkili olduğu bildirilmiştir (Velásquez ve Dussan, 2009). Ayrıca atık su arıtma tesisinin atık suyundan izole edilen *Bacillus circulans* ve *Bacillus megaterium* suşlarının ölü hücrelerinin canlı hücrelere göre krom gideriminde daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Srinath ve ark., 2002). Başka bir çalışmada deri sanayisinden kaynaklanan atıklardan izole edilen *Bacillus*'un krom giderme yeteneği araştırılmış ve 72 saat içerisinde kromu % 41,8 oranında giderdiği tespit edilmiştir (Singh ve Malaviya, 2015). Bir başka çalışmada *Acinetobacter baumannii* L2 ve *Pseudomonas stutzeri* L1 suşlarının 24 saat içerisinde 100 mg/L Cr (VI)'u sırasıyla % 97 ve % 99 oranlarında giderdiği tespit edilmiştir (Sathishkumar ve ark., 2017). Polti ve arkadaşları

(2010) ise *Streptomyces sp.* MC1'in 30 °C sıcaklık ve pH 7'de kromat reduktaz enzim aktivitesi ile Cr (VI)'yı Cr (III)'e indirgeyebildiğini ifade etmişlerdir. Yine arıtma tesislerinin aktif çamur arıtma sisteminden izole edilen *Sphaerotilus natans* bakterisinin aerobik şartlarda Cr (VI) ve Cr (III)'ü yüksek verimde (80 mg/L) indirgediği saptanmıştır (Caravelli ve ark., 2008).

Endüstriyel faaliyetler ve fosforlu gübre uygulamaları sonucunda toprağa ulaşan bir ağır metal olan kadmiyum (Cd) bitkiler tarafından kolaylıkla alınabilmekte ve besin zincirine girerek insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Xu ve arkadaşları (2020); ağır metallerle kirlenmiş topraktan izole ettikleri *Pseudomonas sp.* 375 suşu ile yaptıkları çalışmada; SEM-EDX analizi ile Cd²⁺ iyonlarının bakteri hücre duvarına bağlandığını, FTIR spektrokopisi ile de CO, -CH₂, -SO₃, -OH, C-N, N-H, sülfat veya fosfat gruplarının, Cd²⁺ iyonlarının bağlanması için temel fonksiyonel gruplar olduğunu belirtmiştir. Sonuç olarak *Pseudomonas sp.* 375'in Cd²⁺ ile kirlenmiş sularda bioremediasyon için kullanılabilir etki bir biyosorbent olduğunu bildirilmişlerdir. Bir diğer çalışmada çöp sızıntı suyundan izole edilen *Enterobacter hormaechei*, *Priestia aryabhatai* ve *Mycobacterium sacrum* bakteri türlerinin biyolojik filtrelerde sırasıyla %78, %67 ve %78 oranında de kadmiyum giderimi sağladıkları belirtilmiştir (Savaş, 2023).

Yine endüstriyel atıklarda yoğun bir şekilde bulunan ve yüksek toksisiteye sahip bir ağır metal olan kurşun (Pb) organizmalarda birçok enzimle etkileşime girerek büyük risk oluşturmaktadır. Literatürde Pb'ü hücre yüzeyinde adsorbe ettiği tespit edilen pek çok bakteri bildirilmiştir. Aşçı ve arkadaşları (2019); seramik fabrikası atıklarından izole ettikleri *Bacillus mycoides* ve *Bacillus aryabhatai* ile yaptıkları çalışmada bu bakterilerin sırasıyla %57 ve %46 oranlarında kurşun biyosorpsiyonu yapabildiklerini göstermişlerdir. Bir başka çalışmada kurşuna dirençli *Bacillus megaterium* ve *Pseudomonas marginalis* türleri izole edilmiş ve sonuçta *Pseudomonas marginalis*'in kurşunu hücre dışında tuttuğu, *Bacillus megaterium*'un ise hücre içinde biriktirdiği tespit edilerek bu bakterilerin kurşun biyoremediasyonunda etkin olarak kullanılabilirleri ifade edilmiştir (Roane ve ark., 1999). Benzer şekilde Puyen ve arkadaşları (2012) *Micrococcus luteus* DE2008'in Pb (II) adsorpsiyon kapasitesini 1965 mg/g olarak belirlemiş, Sharma ve arkadaşları (2021) ise *Pseudomonas* BC15, *Bacillus cereus* BPS9 ve *Enterobacter sp.* J1'in kurşunun sırasıyla %65, %75 ve %78'ini hücreye absorbladığını tespit etmişlerdir. Kurşun ve borun (B) sulardan biyolojik gideriminin araştırıldığı bir başka çalışmada toprak ve sularda doğal olarak bulunan *Ralstonia eutropha* H16 suşu kullanılmış ve bu suşun Pb gideriminde %88 gibi önemli bir oranda etkili olduğunu ancak B

gideriminde yeterli olmadığını gösterilmiştir (Varınca ve ark., 2021). Elektronik üretimi kaynağı olarak patates atığının kullanıldığı ve bentik mikrobiyal yakıt hücresi yoluyla Cd, Pb ve Cr metallerinin biyoremediasyonunun araştırıldığı bir çalışmada ise anot yüzeyindeki biyofilm tabakasında *Enterobacter*, *Proteus* ve *Xenorhabdus* türleri tespit edilmiş ve metal gideriminin maksimum veriminin kadmiyum için %94,20, kurşun için %97,34 ve krom için %84,12 olarak bulunmuştur (Yaqoob ve ark., 2022).

Yeryüzünde en yaygın görülen yirminci element olan arsenik (As), arsenit As (III) ve arsenat As (V) formlarında içme suyu ve tarım arazilerinde kirlilik kaynağı olarak büyük bir sorun oluşturmaktadır. Arsenik canlılar için toksik olmasına rağmen, mikroorganizmalar As'i daha az zehirli formuna dönüştürebilir. Mikroorganizmaların metallere karşı yüksek afinite gösterebilme yetenekleri, arseniğin neden olduğu çevre sorunlarını çözmek amacıyla pek çok çalışmaya konu olmuştur (Sharma ve Shukla, 2021). Saba Rehman ve arkadaşları (2019); endüstriyel atık sularından izole edilen *Ochrobactrum ciceri* SW1 ve *Exiguobacterium profundum* PT2 suşlarının ortamda arsenik bulunduğu hücre dışı polimerik madde sentezlediğini ve bu maddenin arsenik biyoremediasyonunda kullanılabilir ideal bir biyosorbent olduğunu belirtmişlerdir. Sher ve arkadaşları (2020); taramalı elektronik mikroskopu ile yaptıkları izlemede endüstriyel atık sularından izole ettikleri *Micrococcus luteus* A S2 suşunun arsenit stresi altında morfolojik değişiklikler gösterdiğini ve arsenitin hücre yüzeyine adsorbe olduğunu göstermişlerdir. Bu özelliği sayesinde bakterinin biyolojik iyileştirme etkinliğinin 10 saat sonunda %99'a ulaştığını bildirmişlerdir. Ayrıca arsenik dışında kurşun, kadmiyum, krom, civa, nikel ve çinkoya karşı da direnç gösterdiğini belirtmişlerdir. Alkan Uçkun ve arkadaşları (2021) ise insan metalloproteinlerinden *hMT3* genini konakçı *Escherichia coli* Jm109 suşuna klonlayarak elde ettikleri rekombinant *E. coli* MT3 suşunun arseniği %82 oranında absorbe ettiğini bildirmişlerdir.

Canlı metabolizması için oldukça gerekli olan bakır (Cu), yüksek konsantrasyonlarda olduğunda toksik etki yaratan bir iz elementtir (Hou vd. 2007). Oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında kolayca elektronik alıp verebilme özelliği nedeniyle son yıllarda endüstride ve tarımda kullanımının artmasına bağlı olarak bakırın doğadaki miktarı da artmaktadır (Seven ve ark., 2018). Çamurdan izole edilmiş *Acinetobacter calcoaceticus* KW3 suşunun bakıra karşı direnç mekanizması ve biyoremediasyon potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada bu bakterinin güçlü bakır toleransı sergilediği, hücre duvarında %51,2 ve hücre içi çözünür bileşenlerinde ise %46,6 oranında bakır adsorbe edebildiği bildirilmiştir (Kang et al. 2019). Colonnella ve arkadaşları (2019); Antartika'daki bir havuzdan

izole ettikleri *Pseudomonas extremaustralis* suşunun yüksek bakır konsantrasyonlarını tolere etme potansiyeli ve bakır varlığının dizel biyodegradasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında; bakterinin ortamda 4 mM CuSO₄'e kadar direnç gösterdiğini bildirmişlerdir.

Canlılar için mutlak gerekli olan çinko (Zn) enzim yapısında yer alan ve enzim faaliyetlerinde rol oynayan bir elementtir. Çinko doğada kurşun, karbon, kadmiyum ve demir gibi metallerle sülfid halinde beraber bulunur. Sadece yüksek konsantrasyonlarda toksik olan bu element endüstride ve tarımda (mikrobesin ve insektisit olarak) sıklıkla kullanılmakta ve atık sularla doğaya ulaşmaktadır (Seven ve ark., 2018). Maden yataklarından izole edilen bazı bakterilerin (*Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas stutzeri* ve *Pseudomonas luteola*) çinko, bakır ve kurşun biyoremediasyonunda kullanılabilme potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmanın sonuçlarına göre; *P. luteola* ve *P. polymyxa* bakterilerinin bakır elementini, *P. luteola* ve *P. polymyxa* bakterilerinin ise beraber çinko elementini uzaklaştırmada etkili oldukları saptanmıştır (Özbucak ve ark., 2018).

Sıvı halde bulunan tek metal olan cıva (Hg) doğada cıva tuzu veya organik cıva bileşikleri halinde bulunabilir. Doğal olarak çevrede eser miktarda bulunan cıvanın kaynakları kömür ve bakır cevheri ile toprak ve kayalardır. Cıva kirliliğinin en önemli kaynakları ise kömür yakan termik santraller, demir çelik sanayi ve çöp yakma tesisleridir. Syed ve arkadaşları (2019), atık sularda *Poterospumella* sp.'nin tek başına ve/veya *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Salmonella* sp. ve *Pseudomonas* sp. suşları ile kombinasyon halinde kullanılmasıyla cıva giderim potansiyelini araştırmışlar ve sonuçta *Poterospumella* sp.'nin atık suların fizyokimyasal özelliklerini iyileştirdiğini, 2 hafta içinde de cıva iyonlarının %92-93'ünün uzaklaştırarak mükemmel bir biyoremediasyon potansiyeli gösterdiğini bildirmişlerdir.

Nitratın Bakteriyel Biyoremediasyonu

Artan tarımsal faaliyetler sırasında kullanılan azotlu gübreler ve ileri arıtım yapılmamış atık sulardan kaynaklanan nitrat kirliliği en çok yüzeysel ve yeraltı sularında etkisini göstermekte ve büyük bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Nitrat, insan ve hayvan vücudundan kolayca atıldığı için zehir etkisi yapmaz, ancak çeşitli faktörlerle nitrite dönüştüğünde zararlı hale geçer. Doğada denitrifikasyon bakterileri olarak bilinen *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Aquaspirillum*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Beggiatoa*, *Chromobacterium*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Erythrobacter*, *Gallionella*,

Halobacterium, *Halomonas*, *Hyphomicrobium*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Thiobacillus*, *Vibrio* ve *Xanthomonas* nitrati elementer azota indirgeyebilmektedirler (Kurucuoğlu Ökmen ve Algur, 2011). Doğada denitrifikasyon yapan bakteri sayısı oldukça fazla olsa da NO₃ (Nitrat) giderimi bakımından en çok araştırılan bakteri *Pseudomonas* türleridir (He ve ark., 2018; Prasetyo ve ark.,2018; Li ve ark., 2019). Zhang ve arkadaşları (2019) metale dirençli bir bakteri olan *Pseudomonas putida* ZN1 suşunun endüstriyel atık sudaki nitrojen giderimini araştırmışlar ve amonyumu %97,47, nitrati %86,08 ve nitriti ise %71,57 oranında etkili bir şekilde gidererek mükemmel bir nitrifikasyon ve denitrifikasyon kapasitesi sergileyerek atık sudan amonyumu etkili bir şekilde uzaklaştırdığını bildirmişlerdir.

Pestisitlerin Bakteriyel Biyoremediasyonu

Pestisitler tarım alanlarında zararlı hayvanlar (böcekler, fareler, örümcekler vs), yabancı otlar veya mikroorganizmalar gibi canlılarla mücadelede kullanılan maddeler veya karışımlardır. Tarımsal faaliyetler açısından oldukça önemli olan bu bileşiklerin bilinçsiz kullanımları toprak kalitesinin bozulmasına ve ciddi toprak kirliliğine neden olmaktadır (Niti ve ark., 2013). Hedef zararlıya göre pestisitler; insektisit (böcek öldürücü), fungusit (mantar öldürücü), herbisit (yabancı ot öldürücü), akarisit (örümcek öldürücü), bakterisit (bakteri öldürücü), rodentisit (kemirgen öldürücü), nematosit (nematod öldürücü) vs. gibi isimler alırlar (Akdoğan ve ark.,2012).

Son yıllarda insektisit olarak kullanılan Thiamethoxam (THM)'in *Alcaligenes faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* ve *Streptococcus lactis* bakterileri kullanılarak sulu ortamdan uzaklaştırılmasını içeren bir çalışmada; bakterilerin sırasıyla %39, %60, %52, %67, %65, ve %12 THM giderimi sağladıkları tespit edilmiştir (Zamule ve ark., 2021). THM'yi bozduğu gösterilen diğer türler arasında *Bacillus subtilis* FZB24, *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a, *Bacillus pumilus* SE34 bulunmaktadır (Myresiotis ve ark., 2012). Ayrıca Zhou ve arkadaşları (2014), zengin bir toprak kültürü içerisinde *Achromobacter*, *Agromyces*, *Ensifer*, *Mesorhizobium*, *Microbacterium* ve *Pseudoxanthomonas* bakterilerinin THM'nin %96'sının parçalandığını belirtmiştir.

Yine oldukça sık kullanılan bir insektisit olan İmidacloprid (IMI)'yi parçaladığı bildirilen bakteriyel türler arasında; *Trichoderma viride* (Tamilselvan ve ark., 2008), *Burkholderia cepacia* CH9 (Madhuban ve ark., 2011), *Klebsiella pneumonia* BHC1 (Phugare ve ark., 2013), *Rhizobium* sp., *Bacillus subtilis*,

Brevibacterium sp. (Sabourmoghaddam ve ark., 2014) bulunmaktadır. IMI parçalama yeteneğine sahip diğer türler arasında ise *Ochrobactrum thiophenivorans* ve *Sphingomonas melonis* (Erguven and Demirci, 2019), *Metilobacterium radyotolerans* ve *Microbacterium arthosphaerae* (Erguven and Yildirim, 2019) bulunmaktadır. Ayrıca pek çok *Pseudomonas* türünün de IMI'yi parçaladığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Sabourmoghaddam ve ark., 2014; Gupta ve ark., 2016).

Salunkhe ve arkadaşlarının (2015) *Bacillus* suşları ile yaptıkları çalışmada fungusit etkiye sahip triazolun bu bakteri ile in-vitro ve in-vivo olarak parçalanabildiğini bildirmiştir. *Flavobacterium*, *Klebsiella* ve *Stenotrophomonas*'ın, fungusit olarak kullanılan karbendazim bulunan ortamda büyüme oranlarının incelendiği bir çalışmada; üç bakterinin de ortamda büyüebildiği ve karbendazimin bozunmasında rol oynayan ilk enzimi kodlayan *mheI* genini taşıdıkları bildirilmiştir (Alvarado-Gutiérrez ve ark., 2020).

Petrol ve Hidrokarbonların Bakteriyel Biyoremediasyonu

Petrol ve petrol türevlerinden kaynaklanan kirlilik günümüzde en önemli çevre sorunlarından biridir. Petrol ve petrol ürünleri endüstriyel alanlarda meydana gelen patlamalar sonucu çevreye saçılarak ya da depo tanklarından veya tankerlerden boşaltım esnasında sızarak çevre kirliliğine neden olmaktadır. Doğada petrolü parçalayabilecek çok sayıda bakteri türü bulunmaktadır. Bunlar arasında; *Acinetobacter*, *Artrobacter/Brevibacterium*, *Oceanospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichosporon*, *Alcaligenes*, *Flavobacter/Cytophaga*, *Vibrio*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Rhodococcus*, *Azotobacter* gibi pek çok bakteri bulunmaktadır.

Ham petrol ile kirlenmiş ortamların iyileştirilmesinin araştırıldığı bir çalışmada deniz ortamından izole edilen *Pseudomonas putida* AM-b1 suşunun biyo-yüzey aktif maddesinin petrolün geri kazanımında kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu bildirilmiştir (Maia ve ark., 2019). Mahjoubi ve arkadaşları (2019) ise hidrokarbonla kirlenmiş tortulardan izole edilen *Alcaligenes aquatilis* BU33N genomunun benzoatın parçalanmasını sağlayan enzimleri kodlayan genler de dahil olmak üzere aromatik bileşiklerin metabolizması ile ilgili geniş bir gen havuzuna sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Günümüze kadar pireni degrade edebilen mikroorganizmalarla ilgili pek çok çalışma sürdürülmüştür. *Mycobacterium*, pireni karbon kaynağı olarak kullanabilen ve degrade edebilen bir bakteridir. Yapılan çalışmalar sonucunda *Pseudomonas* ve *Rhodococcus*'un bazı suşlarının da piren hidrokarbonunu parçaladığı bildirilmiştir (Seo ve ark., 2009). Benzo (a) piren biyodegradasyonu

ile hedef biyomoleküller arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada; *B. thuringiensis*'in biyosorpsiyon oranının yaklaşık %90, degradasyon oranının ise yaklaşık %80 olduğunu bildirmişlerdir (Lu ve ark., 2019). Ulusoy ve arkadaşları (2023); petrol kirliliği olduğu düşünülen su ve toprak örneklerinden izole ettikleri bakteriler arasında en yüksek biyodegradasyon oranını (%73) *Pseudomonas hydrolytica*'nın gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Petrolle kirlenmiş çöl topraklarından izole edilen *Actinotalea ferrariae*, *Arthrobacter ginsengisoli*, *Dietzia cinnamea*, *Dietzia papillomatosis* ve *Pseudomonas songnenensis* ile yapılan bir çalışmada; bu mikrobiyal topluluk kullanılarak biyolojik olarak zenginleştirilmiş toprak ve doğal toprak örneklerinde biyodegradasyon oranları karşılaştırılmış ve benzer oranlar tespit edilmiştir. %1 ve %10 petrol konsantrasyonuyla kirlenen her iki toprak örneğinde de petrol, sırasıyla %73,6 ve %69,3'e varan oranlarda etkili bir şekilde uzaklaştırılırken, %20 ve %30 petrol konsantrasyonuyla kirlenen çöl topraklarında bu oran %50'ye ulaşmıştır. Deney sonunda her iki örnekte de *Arthrobacter ginsengisoli* baskın tür olarak ortaya çıkmıştır. Bu da bu bakterinin petrolün uzaklaştırılmasında önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca petrolle kirlenmiş toprak örneklerinde, yüksek petrol giderme potansiyeline sahip hidrokarbonoklastik bakteri türlerinden oluşan mikrobiyal karışımın çoğaltılmasının, petrolün biyolojik ıslahını önemli ölçüde artırmadığı, süper petrole doymuş topraklarda bile yerli petrol parçalayıcı bakterilerin baskın olacağı ve petrolün çevreden uzaklaştırılmasına etkili bir şekilde katkıda bulunacağı sonucuna varılmıştır (Ali ve ark., 2022). Bir başka çalışmada ise ham petrolle kirlenmiş deniz suyundan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *Exiguobacterium* sp., *Bacillus* sp. ve *Alcaligenes* sp. suşlarından oluşan karışık kültürün ham petrolün yaklaşık %75'ini, ayrı ayrı iken ise %50-65'ini parçaladığı tespit edilmiştir (Chen ve ark., 2017).

KAYNAKLAR

- Ackova, D. G. (2018). Heavy metals and their general toxicity on plants, *Plant Science Today*, 5: 15-19.
- Adams, G. O., Fufeyin, P. T., Okoro, S. E. and Ehinomen, I. (2015). Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: A review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3 (1), 28-39.
- Ajmal, A. W., Saroosh, S., Mulk, S., Hassan, M. N., Yasmin, H., Jabeen, Z., ... Hasnain, Z. (2021). Bacteria isolated from wastewater irrigated agricultural

soils adapt to heavy metal toxicity while maintaining their plant growth promoting traits. *Sustainability*, 13 (14): 7792

- Akdoğan, A., Divrikli, Ü. ve Elçi, L. (2012). Pestisitlerin Önemi ve Ekosisteme Etkileri. *Akademik Gıda*, 10(1), 125-132.
- Alkan Uçkun, A., Uçkun, M. and Akkurt, Ş. (2021). Efficiency of *Escherichia coli* Jm109 and genetical engineering strains (*E. coli* MT2, *E. coli* MT3) in cadmium removal from aqueous solutions. *Environmental Technology & Innovation* 24, 102024
- Ali, N., Khanafar, M. and Al- Awadhi, H. (2022). Indigenous oil-degrading bacteria more efficient in soil bioremediation than microbial consortium and active even in super oil-saturated soils. *Front. Microbiol.*, 13:950051
- Almasi, A., Dargahi, A., Ahagh, M. M. H., Janjani, H., Mohammadi, M. and Tabandeh, L. (2016). Efficiency of a constructed wetland in controlling organic pollutants, nitrogen, and heavy metals from sewage. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 9: 2924-2928.
- Alvarado-Gutiérrez, M. L., Ruiz-Ordaz, N., Galíndez-Mayer, J., Curiel-Quesada, E. and Santoyo-Tepole, F. (2020). Degradation kinetics of carbendazim by *Klebsiella oxytoca*, *Flavobacterium johnsoniae* and *Stenotrophomonas maltophilia* strains. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 28518–285261.
- Aşçı, F., Uysal Akkuş, G., Korcan, S. E., Aydın, B., Çetin, G. K. ve Alpaslan, N. (2019). Organize Sanayi Bölgesi (Uşak) Atıklarından Kurşun (Pb) Biyobirikimi Yapabilen Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu. *AKU J. Sci. Eng.* 19, 496-507.
- Bruins, M. R., Kapil, S. and Oehme, F. W. (2000). Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 45, 198-207.
- Caravelli, A. H., Giannuzzi, L. and Zaritzky, N. E. (2008). Reduction of hexavalent chromium by *Sphaerotilus natans* a filamentous micro-organism present in activated sludges. *Journal of Hazardous Materials*, 156, 214-222.
- Chen, M., Xu, P., Zeng, G., Yang, C., Huang, D. and Zhang, J. (2015). Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*, 33: 745-755.
- Chen, Q., Li, J., Liu, M., Sun, H. and Bao, M. (2017) Study on the biodegradation of crude oil by free and immobilized bacterial consortium in marine environment. *PLoS ONE* 12(3):e0174445. [https:// doi. org/ 10. 1371/ journ al. pone. 01744 45](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174445)

- Colonnella, M. A., Lizarraga, L., Rossi, L., Peña, R. D., Egoburo, D., López, N. I. and Iustman, L. J. R. (2019). Effect of copper on diesel degradation in *Pseudomonas extremaustralis*. *Extremophiles*, 23(1), 91-99.
- Ergül Ülger, Z. (2016). Ağır Metal İçeren Atıksulardan İzole Edilecek Bakteriler İle Cr(VI) Biyoremediasyonu (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ergüven, G. Ö., (2019). *Bacillus Subtilis* bakterisi ile metribuzin herbisitinin biyoslahının yapay tarla düzeneğinde araştırılması. *International Journal of Pure And Applied Sciences*, 5(1), 46-52.
- Ergüven, G. Ö. ve Demir, G. (2019). Evaluation of the Detoxification Potential of *Micrococcus* Strains and Plants for Bioremediate Organochlorine Herbicides. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, 3 (3), 353-364.
- Ergüven, G. Ö. ve Yıldırım, N. (2019). The Evaluation of Imidacloprid Remediation in Soil Media by Two Bacterial Strains. *Current Microbiology*, 76: 1461–1466. doi.org/10.1007/s00284-019-01774-w
- Golui, D., Datta, S. P., Dwivedi, B. S., Meena, M. C., Varghese, E., Sanyal, S. K., Ray, P., Shukla, A. K. and Trivedi, V. K. (2019). Assessing soil degradation in relation to metal pollution—a multivariate approach. *Soil and Sediment Contamination*, 28: 630-649.
- Gou, Y., Zhao, Q., Yang, S., Wang, H., Qiao, P., Song, Y. and Li, P. (2020). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and the response of indigenous bacteria in highly contaminated aged soil after persulfate oxidation. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 190, 110092.
- Gupta, M., Mathur, S., Sharma, T. K., Rana, M., Gairola, A., Navani, N. K. and Pathania, R. (2016). A study on metabolic prowess of *Pseudomonas* sp. RPT 52 to degrade imidacloprid, endosulfan and coragen. *J. Hazard. Mater.* 301, 250–258.
- He, T., Ye, Q., Sun, Q., Cai, X., Ni, J., Li, Z. And Xie, D. (2018). Removal of nitrate in simulated water at low temperature by a novel psychrotrophic and aerobic bacterium, *Pseudomonas taiwanensis* strains. *J. Biomed Research International*. doi.org/10.1155/2018/4984087
- HoIan, Z. R., Volesky, B. and Prasetyo, I. (1993). Biosorption of cadmium by biomass of marine algae. *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 41, 819-825.
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q. and Chang, C.C. (2007). Effects of Copper and Cadmium on Heavy Metal Pollut Waterbody Restoration by Duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 62-69

- Kang, W., Zheng, J., Bao, J., Wang, Z., Zheng, Y., He, J.Z. and Hu, H.W. (2019). Characterization of the copper resistance mechanism and bioremediation potential of an *Acinetobacter calcoaceticus* strain isolated from copper mine sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 7922–7933.
- Khalid, S., Shahid, M., Niazi, N. K., Murtaza, B., Bibi, I. and Dumat, C. (2017). A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 182: 247-268.
- Kim, S.K., Lee, B. S., Wilson, D. B. and Kim, E. K. (2005). Selective cadmium accumulation using recombinant *Escherichia coli*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99, 109–114.
- King, H. C., Khera-Butler, T., James, P., Oakley, B. B., Erenso, G., Aseffa, A., Knight, R., Wellington, E. M., and Courtenay, O. (2017). Environmental reservoirs of pathogenic mycobacteria across the Ethiopian biogeographical landscape. *PLOS ONE*, 12 (3): e0173811
- Koçberber Kılıç, N. (2008). Proteomik Yaklaşımla Atıksu Kaynaklı Mikroorganizmalarda Cr(VI) Direnç Yollarının Araştırılması (Doktora Tezi.) Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kurucuoğlu Ökmen, G. ve Algur, Ö. F. (2011). Denitrifikasyon ve Mikroorganizmalar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4 (2):11-15.
- Le, T. H., Hoang, Q. C., Vu, D. D., and Vo, T. H. T. (2021). Biodegradation of organophosphorus insecticide methyl parathion by soil microorganisms. *E3S Web of Conferences*, 265, 03002
- Li, S., Zhang, Y., Qian, H., Deng, Z., Wang, X. and Yin, S. (2019). Removal characteristics of a composite active medium for remediation of nitrogen-contaminated groundwater and metagenomic analysis of degrading bacteria. *Environmental Pollution*, 254, 113053.
- Lu, Q., Chen, K., Long, Y., Liang, X., He, B., Yu, L. And Ye, J. (2019). Benzo (a) pyrene degradation by Cytochrome P450 hydroxylase and the functional metabolism network of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Hazardous Materials*, 366, 329-337.
- Madhuban, G., Debashis, D., Shobhita, K., Saumya, B. and Das, S. K., 2011. Biodegradation of imidacloprid and metribuzin by *Burkholderia cepacia* strain CH9. *Pestic. Res. J.* 23 (1), 36–40.
- Mahjoubi, M., Aliyu, H., Cappello, S., Naifer, M., Souissi, Y., Cowan, D.A. and Cherif, A. (2019). The genome of *Alcaligenes aquatilis* strain BU33N: Insights into hydrocarbon degradation capacity. *Plos One*, 14(9). doi.org/10.1371/journal.pone.0221574

- Maia, M., Capão, A. and Procópio, L. (2019). Biosurfactant produced by oil-degrading *Pseudomonas putida* AM-b1 strain with potential for microbial enhanced oil recovery. *Bioremediation Journal*, 23(4), 302-310.
- Mikhailenko, A. V., Ruban, D. A., Ermolaev, V. A. and Loon, A. J. (2020). Cadmium pollution in the tourism environment: A literature review. *Geosciences*, 10: 1-18.
- Myresiotis, C. K., Vryzas, Z. and Papadopoulou-Mourkidou, E. (2012). Biodegradation of soilapplied pesticides by selected strains of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and their effects on bacterial growth. *Biodegradation* 23 (2), 297–310.
- Nie, J., Sun, Y., Zhou, Y., Kumar, M., Usman, M., Li, J. and Tsang, D. C., (2020). Bioremediation of water containing pesticides by microalgae: Mechanisms, methods, and prospects for future research. *Science of The Total Environment*, 707, 136080.
- Nei, M. S. K. and Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York: Oxford University Press.
- Niti, C., Sunita, S., Kamlesh, K., Rakesh, K. (2013). Bioremediation: An emerging technology for remediation of pesticides. *Res. J. Chem. Environ*, 17, 88–105.
- Özbucak, T., Ertürk, Ö., Ergen, A. Ö., Polat, G. ve Özbucak, S. (2018). Maden yataklarında bulunan bazı bakterilerin ağır metallerin biyoremediasyonunda kullanılabilme potansiyellerinin belirlenmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8(1): 114-124.
- Phugare, S. S., Kalyani, D. C., Gaikwad, Y. B. and Jadhav, J. P. (2013). Microbial degradation of imidacloprid and toxicological analysis of its biodegradation metabolites in silkworm (*Bombyx mori*). *Chemical Engineering Journal*, 230, 27–35.
- Polti, M. A., Amoroso, M. J. and Abate, C. M. (2010). Chromate reductase activity in *Streptomyces sp.* MC1. *Journal Genetic Applied Microbiology*, 56, 11-18.
- Prasetyo, R. A., Pertiwiningrum, A., Erwanto, Y., Yusiati, L. M. and Fitriyanto, N. A. (2018). Characterization of *Pseudomonas sp.* LS3K as nitrate removal agent at different C/N ratios under aerobic condition. In *Proceeding of the 2nd International Conference on Tropical Agriculture, Indonesia*. 185–194.
- Puyen, Z. M., Villagrasa, E., Maldonado, J., Diestra, E., Esteve, I. and Sole A. (2012). Biosorption of lead and copper by heavy-metal tolerant *Micrococcus luteus* DE2008, *Bioresource Technology*, 126, 233-237.
- Roane, T. M., (1999). Lead resistance in two bacterial isolates from heavy metal-contaminated soils. *Microbial Ecology*, 37(3), 218-224,

- Rosen, B. P. (2002). Transport and detoxification systems for transition metals, heavy metals and metalloids in eukaryotic and prokaryotic microbes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 133, 689-693.
- Saba Rehman, Y., Ahmed, M. and Sabri, A. N. (2019). Potential role of bacterial extracellular polymeric substances as biosorbent material for arsenic bioremediation. *Bioremediation Journal*, 23 (2), 72-81.
- Sabourmoghaddam, N., Zakaria, M. P. and Omar, D. (2014). Evidence for the microbial degradation of imidacloprid in soils of Cameron highlands. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 14 (2), 182–188.
- Salunkhe, V. P., Sawant, I. S., Banerjee, K., Wadkar, P. N. and Sawant, S. D. (2015). Enhanced dissipation of triazole and multiclass pesticide residues on grapes after foliar application of grapevine-associated bacillus species. *J. Agric. Food Chem*, 63, 10736–10746.
- Sathishkumar, K., Murugan, K., Benelli, G., Higuchi, A. and Rajasekar, A. (2017). Bioreduction of hexavalent chromium by *Pseudomonas stutzeri* L1 and *Acinetobacter baumannii* L2. *Annals of Microbiology*, 67, 91–98.
- Savaş, B.F., (2023). Çöp sızıntı suyu ve ağır metal kirliliği olan topraklardan izole edilen bakterilerin bioremediasyonda kullanım potansiyellerinin incelenmesi. (Yayınlanmamış yüksek lisans tezi). Karabük Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Çevre Bilimleri Anabilim Dalı. Karabük.
- Sekhar, K., Priyanka, B., Reddy, V. D. and Rao, K. V. (2011). Metallothionein I (CcMT1) of pigeonpea (*Cajanus cajan*, L.) confers enhanced tolerance to copper and cadmium in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, 72: 131–139.
- Seo, J., Keum, Y., and Li, Q. X. (2009). Bacterial Degradation of Aromatic Compounds. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 6, 278- 309. doi.org/10.3390/ijerph6010278
- Seven, T., Can, B., Darende, B. N. ve Ocak, S. (2018). Hava ve Toprakta Ağır Metal Kirliliği. *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(2): 91-103.
- Sharma, B. and Shukla, P. (2021) Lead bioaccumulation mediated by *Bacillus cereus* BPS-9 from an industrial waste contaminated site encoding heavy metal resistant genes and their transporters. *Journal of Hazardous Materials*; 401: 123285.
- Sher, S., Hussain, S. Z. and Rehman, A. (2020). Phenotypic and genomic analysis of multiple heavy metal-resistant *Micrococcus luteus* strain AS2 isolated from industrial waste water and its potential use in arsenic bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 2243–2254.
- Silver, S. (1996). Bacterial resistance to toxic metal-ions-a review. *Gene*, 179, 9-19.

- Singh, A. and Malaviya, P. (2015). Optimization of culture parameters for tannery effluent bioremediation by *Bacillus galactosidilyticus* APBS5-3. *Journal of Environmental Biology*, 36 (5), 1149-1152.
- Singh, S., Mulchandani, A. and Chen, W. (2008). Highly selective and rapid arsenic removal by metabolically engineered *Escherichia coli* cells expressing *Fucus vesiculosus* metallothionein. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 2924–2927.
- Srinath, T., Verma, T., Ramteke, P.W. and Garg, S.K. (2002). Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. *Chemosphere*, 48, 427-435.
- Su, Y. Q., Zhao, Y. J., Wu, N., Chen, Y. E., Zhang, W. J., Cao and D. R. Q, Y. (2018). Chromium removal from solution by five photosynthetic bacteria isolates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 1983–1995.
- Syed, T., Batool, U., Aslam, M., Noreen, Z., Farheen, I., Gondal, A., Shah S., Sandra P. and Bokhari, H. (2019). Bioremediation and decontamination potential of flagellate *Poteroispumella* sp. *Bioremediation Journal*, 23(3), 142-153.
- Tamilselvan, C., Pramila, B., Hemanathan, E., Hariharan, B. and Devarajan, N. (2008). Aerobic degradation of the insecticide, imidacloprid by the antagonistic organisms *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma viride* under in-vitro condition. *Pestology*, 32 (9), 16–19.
- Ting, Y. P., Lawson, F. and Prince, L. G. (1991). Uptake of cadmium and zinc by the alga *Chlorella vulgaris*: II Multi-ion stiation. *Biotechnology Bioengineering*, vol.37, 445-455.
- Toriumi, S., Saito, T., Hosokawa, T., Takahashi, Y., Numata, T. and Kurasaki, M. (2005) Metal Binding Ability of Metallothionein-3 Expressed in *Escherichia coli*. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 96 (4): 295–301.
- Ulusoy, D. ve Filik İşcen, C. (2023). *Pseudomonas hydrolytica* bakterisi ile piren hidrokarbonunun biyodegradasyonu. *Research Journal of Biology Sciences*. 16(1): 26-37,
- Varınca, K., Uçkun, M., Akkurt, Ş. ve Alkan Uçkun, A. (2021). *Ralstonia eutropha* H16 suşuyla sulu çözeltilerden kurşun ve bor biyogiderimi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 37(2) , 314-322.
- Velásquez, L. and Dussan, J. (2009). Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 713-716.
- Vural, A., Demir, S. ve Boyno, G. (2018). Biyoremediasyon ve Fungusların Biyoremediasyonda Kullanılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*; 28: 490–501.

- Xu, S., Xing, Y., Liu, S., Hao, X., Chen, W. and Huang, Q. (2020). Characterization of Cd²⁺ biosorption by *Pseudomonas sp.* strain 375, a novel biosorbent isolated from soil polluted with heavy metals in Southern China. *Chemosphere*, 240, 124893
- Yaqoob, A. A., Al-Zaqri, N., Yaakop, A. S. and Umar, K. (2022). Potato waste as an effective source of electron generation and bioremediation of pollutant through benthic microbial fuel cell. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 53, 102560
- Yao, Z., Li, J., Xie, H. and Yu, C. (2012). Review on remediation technologies of soil contaminated by heavy metals. *Procedia Environmental Sciences*, 16, 722-729.
- Vareda, J. P., Valente, A. J. M. and Durães, L. (2016). Heavy metals in Iberian soils: Removal by current adsorbents/amendments and prospective for aerogels. *Advances in Colloid and Interface Science*, 237: 28-42.
- Verma, S., Kuila, A. (2019). Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environmental Technology & Innovation*, 14;100369
- Zhang, N., Chen, H., Lyu, Y. and Wang, Y. (2019). Nitrogen removal by a metal-resistant bacterium, *Pseudomonas putida* ZN1, capable of heterotrophic nitrification–aerobic denitrification. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(4), 1165-1175.
- Zhou, G. C., Wang, Y., Ma, Y., Zhai, S., Zhou, L. Y., Dai, Y. J. and Yuan, S. (2014). The metabolism of neonicotinoid insecticide thiamethoxam by soil enrichment cultures, and the bacterial diversity and plant growth-promotin. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49, 381–390.
- Zamule, S. M., Dupre C. E., Mendola M. L., Widmer J., Shebert J. A., Roote C. E. and Das, P. (2021). Bioremediation potential of select bacterial species for the neonicotinoid insecticides, thiamethoxam and imidacloprid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 209:111814

BÖLÜM 31

KÜTLE SPEKTROMETRESİ VE PROTEİNLER İÇİN UYGULAMALARI

Arş. Gör. Ceylan FİDAN BABAT¹

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Van, Türkiye. ORCID: 0000-0003-3135-7056

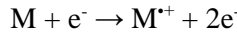
1. Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometresi (MS), yüksek vakumda serbest iyonların kütlelerini, moleküllerin elementel bileşimini ve kimyasal yapılarını belirlemek için kullanılan analitik bir tekniktir. Süreç, parçalanmış ya da bütün halinde numunenin, daha sonra kütle-yük oranı (m/z) ve göreceli miktarlarıyla karakterize edilen gaz halindeki iyonlara dönüştürülmesini içerir. Kütle spektrometresi, örnek moleküllerin iyonik ve nötr türler oluşturduğu gaz fazındaki kimyasal reaksiyonlara bağlıdır (Urban, 2016).

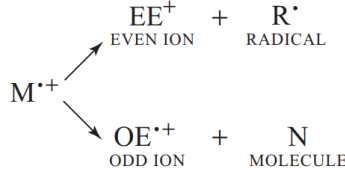
Kütle spektrometresi özellikle yüksek özgüllük ve seçiciliğe, yüksek hassasiyete (attomol; 10^{-11} ve altı) ve hıza (msn'lik bir zaman diliminde bir kütle spektrumu elde edilebilir) sahip olması gibi bazı kendine özgü özelliklerle karakterize edilir (Giorgi, 2014). Kütle spektrometreleri, gaz veya sıvı kromatografi sistemleriyle birleştirildiğinde analitik yeteneklerin çeşitli klinik uygulamalara genişletilmesine olanak tanır. Analitik kimyada kütle spektrometresi ile yapılan en yeni uygulamalar çoğunlukla proteom, metabolom, ilaç keşfi ve metabolizmasında yüksek verim vb. gibi biyokimyasal problemlere yöneliktir. Ayrıca analitik uygulama alanları arasında kirlilik kontrolü, gıda kontrolü, doğal ürünler ya da kimyasal proses izleme mevcuttur ve bu alanlarda rutin olarak uygulanmaktadır. Diğer uygulama alanları arasında atom fiziği, reaksiyon fiziği, reaksiyon kinetiği, jeokronoloji, inorganik kimyasal analiz, iyon-molekül reaksiyonları, termodinamik parametrelerin belirlenmesi (ΔG_f° , K_a , vb.) ve diğerleri yer alır (Hoffman ve Stroobant, 2007).

1.1. Kütle Spektroskopisinin Temel Prensipleri

Bileşiklerin kütle spektrometrik analizindeki ilk adım, elektron iyonizasyonu yoluyla bileşiğin gaz fazı iyonlarının üretilmesidir:



Bu moleküler iyon normalde parçalanmaya uğrar. Eşleşmemiş elektrona sahip radikal bir katyon olduğundan, bir radikal ve çift sayıda elektrona sahip bir iyon veya bir molekül ve yeni bir radikal katyon verecek şekilde parçalanabilir.



Bu iki iyon türü arasındaki önemli fark vardır. Bu iki iyon türü farklı kimyasal özelliklere sahiptir. Moleküler iyonlardan türetilen her birincil ürün iyonu, sırasıyla parçalanmaya maruz kalabilir ve bu böyle devam eder. Tüm bu iyonlar kütle spektrometresinde kütle-yük oranlarına göre ayrılır ve miktarlarıyla orantılı olarak tespit edilir. Böylece sonuçlar, iyonların X ekseninde kütle-yük oranlarını ve Y ekseninde nispi bolluklarını gösterir bir kütle spektrumu olarak elde edilir (Hoffman ve Stroobant, 2007).

1.2. Kütle Spektrometresinin Kısımları

Her Kütle spektrometrisi deneyi: (i) numuneden gaz halindeki iyonların üretilmesi, (ii) analitlerin m/z 'ye göre ayrılması ve (iii) iyonların göreceli bolluğunun saptanması olmak üzere üç temel bileşenden oluşur.

Kütle spektrometreleri, bileşenlerinin tasarımında birçok değişiklik olmasına rağmen en temel haliyle, bir iyon kaynağı, kütle analizörü ve detektörden oluşur (Şekil 1). Kütle spektrometresinin çalışması ayrıca iyonlar için çarpışmasız bir yol gerektirir (özel çarpışma hücreleri hariç) ve dolayısıyla cihazın farklı aşamalarında çeşitli düşük çalışma basınçlarını korumayı sağlayan bir vakum sistemleri mevcuttur. Örnek girişi için ön fraksiyonlama yapmak amacıyla kromatografi veya elektroforez gibi ek bölümler de dahil edilebilir.

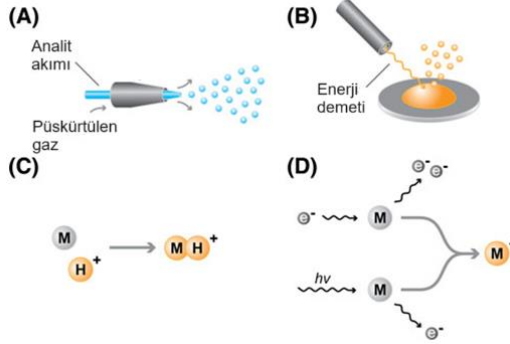
olduğundan, giriş sistemlerinin, giriş/kaynak arayüzünde gaz fazı geçişini sağlaması gerekir. Bir kütle spektrometresine arayüz oluşturan çok sayıda giriş türü (direkt buhar girişi, gaz kromatografisi, sıvı kromatografisi, direkt prob, vb.) olmasına rağmen, hangi girişin uygun olduğunu seçmek için numunenin özellikleri dikkate alınmalıdır. Yüksek uçuculuk ve termal stabiliteye sahip numunelerin girişi, gaz kromatografisi, direkt buhar girişi ve direkt yerleştirme problemleri gibi termal buharlaşmayı içeren çeşitli girişler tarafından kolayca sağlanır. Proteinler/peptitler düşük uçuculuğa sahip olduklarından ve termal olarak kararsız olduklarından, yoğunlaşmış fazdan doğrudan iyonlaşmaya ihtiyaç duyarlar. Bu noktada sıvı kromatografisi, termal olarak kararsız ve uçucu olmayan sıvı bileşiklerin ve gaz kromatografisine uygun olmayan karışımların girişini sağlamak amacıyla kullanılır (Lo ve Schug, 2009).

1.2.2. İyon Kaynağı

MS tarafından yüksek hassasiyet ve doğrulukla niceliksel ve niteliksel verilere ulaşmak için, kütle analizörüne iletmeye uygun analitlerin üretilmesini sağlayan iyonizasyon teknikleri kullanılmalıdır. Bu nedenle ilk adım, analitlerin sıvı veya katı fazdan gaz fazında iyonize türlere dönüştürülmesidir. Gaz fazında olmadıkları sürece, analitlerin ilk önce buharlaştırılması gerekir; bu, ısıya, yüksek elektrik alanlarına, lazer ışınlanmasına maruz bırakma ve/veya atom veya iyon bombardımanı gibi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilir. Analit iyonizasyonu, gaz fazına transfer öncesinde, sırasında ve sonrasında meydana gelebilir ve iyon kaynağında uygulanan elektrik alanının polaritesinin kontrol edilmesiyle seçilebilen pozitif veya negatif yüklü iyonların oluşmasına neden olabilir. Uygun bir iyonizasyon yönteminin seçilmesi kritik öneme sahiptir ve genellikle başarılı bir MS analizinin en önemli belirleyicisi olma niteliğindedir (Jovcevski ve. Pukala, 2019). Birçok iyonizasyon yöntemi mevcuttur ve her birinin kendine göre avantajları ve sınırlamaları vardır. En uygun olanın seçimi, araştırılan analitin fiziko-kimyasal özelliklerine, moleküler ağırlığına, uçuculuğuna, polaritesine vb. bağlıdır (Giorgi, 2014).

Fizikokimya açısından bakıldığında, moleküler türler için sprey iyonizasyonu (SI), desorpsiyon iyonizasyonu (DI), kimyasal iyonizasyon (CI) ve elektron iyonizasyonu (EI) olmak üzere dört temel iyonizasyon tekniği grubu vardır (Cook, 2010). Bu sınıflandırma başlığı altında en yaygın kullanılan iyonizasyon teknikleri Elektron İmpakt (EI), Kimyasal İyonizasyon (CI), Hızlı Atom Bombardımanı (FAB), Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu (MALDI), Elektrosprey İyonizasyonu (ESI), Atmosfer Basıncında Kimyasal İyonizasyon (APCI) ve Atmosfer Basıncı Foto İyonizasyonu (APPI)

teknikleridir. Dört iyonizasyon yaklaşımının hepsinin prensipleri Şekil 2'de şematik olarak açıklanmış ve özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.



Şekil 19. Temel iyonizasyon tekniklerinin şematik açıklaması. a Püskürtme iyonizasyonu (SI). b Desorpsiyon iyonizasyonu (DI). c Kimyasal iyonizasyon (CI). d Elektron iyonizasyonu (EI). EI'de çarpan parçacık ya elektrondur (elektron etkisi) ya da fotondur (fotoiyonizasyon). Kütle spektrometresindeki tüm doğrudan yüzey görüntüleme teknikleri desorpsiyon iyonizasyonuna dayanmaktadır (b) (Pol ve ark., 2010).

İyonizasyon teknikleri sert ve yumuşak olarak gruplandırılabilir. Çoğunlukla Elektron İyonlaşması (EI) ile temsil edilen sert iyonlaşma durumunda, molekül üzerinde büyük miktarda artık enerji biriktirilir. Yüksek enerji fazlalığına sahip bir moleküler iyon üretilir, bu da değerli yapısal bilgiler sağlayabilen yüksek enerjili parçalanma reaksiyonlarıyla sonuçlanır. Enerji fazlalığı çok büyükse, moleküler iyon tespit edilemeyebilir ve bu nedenle analitin moleküler ağırlığı belirlenemeyebilir. Elektrosprey (ESI), matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu (MALDI) gibi modern kütle spektrometrisinde kullanılan iyonizasyon tekniklerinin çoğu ve ortam kütle spektrometrisinde kullanılan tüm iyonizasyon teknikleri ise yumuşak iyonizasyon teknikleri olarak kategorize edilebilir. Yumuşak iyonizasyon teknikleri hedef molekülleri parçalamaz veya herhangi bir ikincil iyonlaşmaya neden olmaz. Yumuşak iyonizasyon teknikleri bu nedenle bir analitin moleküler ağırlığının belirlenmesine izin verirler ancak iyon kaynağında parçalanma olmadan yapısı hakkında bilgi sahibi olmak mümkün değildir (Awad ve ark., 2015; Jovcevski ve. Pukala, 2019; Farahi, 2023).

Tablo 3. Kütle spektrometresinde kullanılan iyonizasyon tekniklerine genel bakış (El-Aneed ve ark., 2009)

İyonizasyon tekniği	Analit yapısı	Örnek girişi	Kütle aralığı	Diğer tanımlamalar
Elektron İmpakt (EI)	Uçucu; termal olarak kararlı	Gaz kromatografisi katı veya sıvı probu	<1000 Da	Sert yöntem; esas olarak fragment iyonları
Kimyasal İyonizasyon (CI)	Uçucu; termal olarak kararlı	Gaz kromatografisi katı veya sıvı probu	<1000 Da	Yumuşak yöntem; Moleküler iyon
Hızlı atom bombardımanı (FAB)	Organometalik bileşikler	Sıvı kromatografisi, direkt enjeksiyon	<5000 Da; optimum aralık 200–2000	Yumuşak yöntem; matris gerektirir
Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu (MALDI)	Biyomoleküller (proteinler, DNA, glikokonjugatlar)	Numune bir matris ile birlikte kristalleştirilir	500.000 Da'nın ötesine geçebilir	Çok yumuşak yöntem tek yüklü iyonlar
Elektrosprey iyonizasyonu (ESI)	Organik ve inorganik bileşikler	Çözeltide örnek	Çok düşük kütlelerden olağanüstü yüksek kütlelere	Çok yumuşak yöntem; çoğaltılmış yüklü iyonları

1.2.3. Kütle Analizörleri

Kütle analizörü iyonizasyon kaynağında gelen iyonları kütle-yük oranına (m/z) göre ayırır. Birçok farklı analizör tasarımı mevcuttur. Kütle analizörleri m/z oranına göre iyonları ayırma yeteneklerinin yanı sıra, bazı analizörler aynı zamanda iyonları yakalama ve depolama yeteneğine de sahiptir. Dolayısıyla bu tür analizörler çok sayıda rolde işlev görebilir.

Ticari üretimdeki en yaygın analizör türleri arasında kuadropol, iyon tuzağı, uçuş zamanlı (TOF) ve Fourier dönüşümü analizörleri (iyon siklotron [ICR] ve Orbitrap) ile bu analizörlerin çok sayıda kombinasyonu veya hibriti bulunur (Şekil 3). Kütle analizörünün seçimi analiz edilmesi istenen m/z aralığı, analitin kütlesi, analizörün gerekli ayırma gücü, analizörün kütle spektrometresinin iyon kaynağı ile arayüz oluşturma yeteneği ve gerekli tespit limiti gibi bir dizi faktöre ve deneysel değerlendirmelere bağlıdır (Haag, 2016).

Tüm uygulamalara uygun tek bir kütle analizörü olmadığından çoğu laboratuvar, farklı analizörlerden yararlanan farklı kütle spektrometrelerini kullanmaktadır. Kütle çözünürlüğü ve doğruluğu birçok faktöre bağlıdır. Tablo 2’de tüm analizörler için kütle çözünürlüğü ve doğruluğunu etkileyen faktörler özetlenmiştir. En sık kullanılan kütle analizörleri aşağıda tartışılmaktadır.

Tablo 4 Kütle spektrometrisinde kullanılan kütle analizörlerine genel bakış (Hoffman ve Stroobant, 2007)

	Kuadrupol	İyon tuzağı	Lineer TOF (rTOF)	Manyetik sektör	FT-ICR	FTOrbitrap
Üst kütle sınırı (m/z)	4,000	6,000	1,000,000 (10,000)	20,000	30,000	50,000
Kütle çözünürlüğü	2,000	4,000	5,000 (20,000)	<100,000	500,000	100,000
Kütle doğruluğu (ppm)	100	100	200(10)	10	<5	<5
İyon örnekleme	Sürekli	Darbeli	Darbeli	Sürekli	Darbeli	Darbeli
Tandem MS uygulaması	Evet, düşük enerjili çarpışma	Evet, çoklu düşük enerjili çarpışma	Evet, düşük ya da yüksek enerjili çarpışma	Evet, yüksek enerjili çarpışma	Evet, çoklu düşük enerjili çarpışma	Hayır

1.2.3.1. Kuadrupol Analizörü

Kuadrupol kütle analizörleri, düşük maliyetleri, kompakt tasarımları, dayanıklılıkları ve güvenilirlikleri nedeniyle kütle spektrometrelerinde sıklıkla kullanılır. Bu özellikleri sayesinde ilaç endüstrisinde en güçlü analizör haline gelmişlerdir. Genellikle üçlü kuadrupol kütle spektrometreleri veya uçuş süresi (TOF) gibi diğer kütle analizörleri ile ardışık (tandem MS) olarak kullanılırlar (Chernushevich ve ark., 2001).

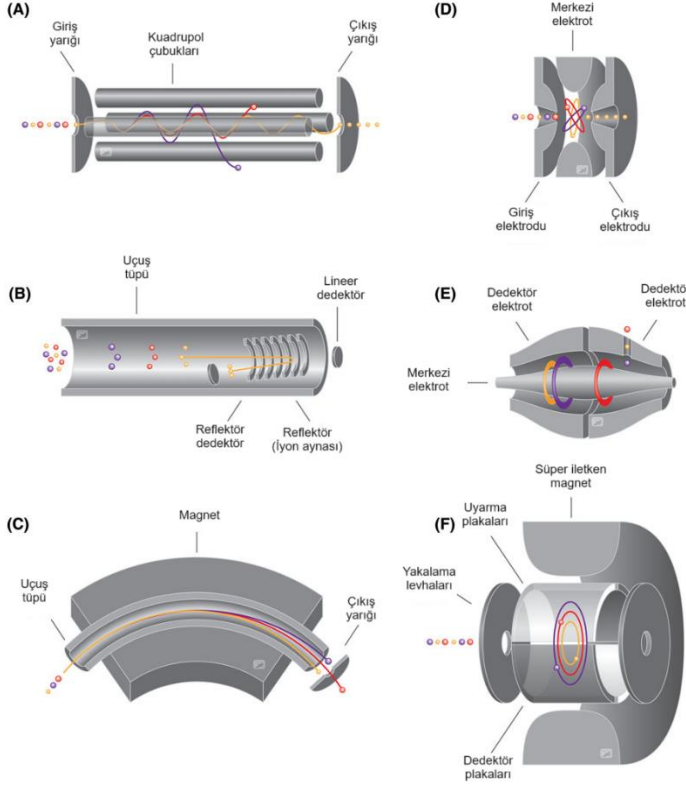
Kuadrupol kütle analizörleri esasen, farklı m/z iyonlarını ayırt etme ve filtreleme yeteneklerinden dolayı bir kütle filtresidir. Kuadrupoller birbirine

paralel dört silindirik veya hiperbolik çubuktan oluşur. Karşılıklı olan çubuklar birbirine elektriksel olarak bağlanır ve bir radyo frekansı potansiyeli uygulanır. Daha sonra radyo frekansı potansiyelinin üzerine bir doğru akım potansiyeli eklenir. Radyo frekansı ve doğru akım potansiyelinin birleşimi, iyonların z yönünde kuadrupolden geçerken salınmasına neden olur. Doğru akım potansiyeline ve radyo frekansı alanının frekansına bağlı olarak, yalnızca belirli bir m/z'ye sahip iyonlar kararlı yörüngelere sahip olur. Kararsız yörüngelere sahip iyonlar çubuklara çarpacak ve filtrelenebilir. Doğru akım ve radyo frekansı potansiyelleri değiştirilerek, farklı m/z iyonları kuadrupoller aracılığıyla taranabilir veya filtrelenebilir (Li ve ark., 2021).

Bir kuadrupol (dört kutuplu) veya başka bir multipol (çok kutuplu; altı kutuplu veya sekiz kutuplu), doğru akım potansiyelinin azaltıldığı ve çubuklara yalnızca bir radyo frekansı potansiyelinin uygulandığı "yalnızca radyo frekansı" modunda da çalışabilir. Bu, tüm iyonların kuadrupol içinden geçmesine izin verir, böylece kuadrupol analizörü, iyonları iyonizasyon kaynağından başka bir analizöre taşımak gibi, iyonların kütle spektrometresinin bir alanından diğerine iletilmesini sağlayan bir cihaza dönüştürülebilir. Böylece, yalnızca radyo frekansı çoklu kutupları, ihtiyaç duyulduğunda bir kütle spektrometresi içinde iyon iletim kılavuzları olarak görev yapabilir. Ayrıca yalnızca radyo frekansı uygulanan çoklu kutuplar çarpışma kaynaklı ayrışma (CID) gerçekleştirmek için çarpışma hücreleri olarak da kullanılabilir (Hayes ve Gross, 1990). Çarpışma hücrelerine inert bir gaz verildiğinde ve çoklu kutuplardaki radyo frekansı enerjisi artırıldığında, çarpışma hücrelerinden iletilen iyonlar çarpışma kaynaklı ayrışma yoluyla parçalanmaya uğrayacaktır. Radyo frekansı enerjisini değiştirerek iyon parçalanma miktarı kontrol edilebilir.

Kuadrupol analizörlü kütle spektrometrelerinin kullanımı düşük maliyetli oluşları ve kompakt tasarımları ve makul boyutları olması açısından avantaj sağlamaktadır; bu özellikleri onları çoğu laboratuvar için ideal kılmaktadır. Farklı üreticiler tarafından üretilirler ve uzun süre sağlam ve güvenilir oldukları kanıtlanmıştır, dolayısıyla çok az bakım gerektirirler. Ayrıca mükemmel stabiliteye sahiptirler ve uzunca bir süre kullanılabilirler, böylece tekrarlanan kalibrasyon ihtiyacını azaltırlar. Kuadrupol analizörlerin hızlı görev döngüleri ve sürekli iyon akışına ihtiyaç duymaları nedeniyle, hem gaz kromatografisi (GC) hem de sıvı kromatografisi (LC) ekipmanıyla kolayca arayüz oluştururlar. Kuadrupol analizörlerinin dezavantajı ise hem düşük m/z aralıklarına hem de zayıf rezolüsyona sahip olmasıdır. Bu durum, çoklu yüklü iyonlar oluşturamayan büyük molekül ağırlıklı bileşikler veya benzer kütlelere sahip bileşikler içeren

karışımları analiz ederken onları dezavantajlı duruma düşürür (Somogy, 2008; Yang ve ark., 2022)



Şekil 20. Kütle spektrometrelerinde yaygın olarak kullanılan altı kütle analizörünün şematik açıklaması. A Kuadrupol (Q), B Uçuş zamanlı (TOF), C Manyetik sektör, D İyon tuzağı (IT), E Orbitrap (OT), F İyon siklotron rezonansı (ICR) (Pol ve ark., 2010).

1.2.3.2. Uçuş Zamanlı (TOF) Kütle Analizörü

Uçuş Süresi (TOF) analizörleri büyük biyomoleküllerin kolay analizine olanak sağlayan MALDI iyonizasyonunun ortaya çıkışı ile ön plana çıkmıştır. En basit haliyle, TOF analizörleri bir uçuş tüpünden ve iyonizasyon kaynağından MS dedektörüne kadar olan ve iyonları hızlandırmaya yarayan bir hızlandırma ızgarasından oluşur. Temel olarak, eğer iyon kaynağından aynı kinetik enerjiyle farklı m/z 'ye sahip iki iyon hızlandırılırsa ve uçuş tüpünün alansız bir bölgesinden sürüklenmesine izin verirse, bu durumda bunların dedektöre varış süreleri farklı olacaktır (Boesl, 2017).



Şekil 21. Uçuş Süresi (TOF) analizörünün şematik gösterimi (Haag, 2016)

İyon kaynağı tarafından üretilen iyonlar, hızlandırma ızgarasına darbeli bir elektrik potansiyeli yerleştirilerek hızlandırılır. Hızlandırılmış iyonlar daha sonra uçuş tüpünün alansız ayırma bölgesinden geçerek m/z 'lerine göre ayrılırlar. İyon kütlesi ne kadar büyük olursa, uçuş tüpü boyunca sürüklenme o kadar yavaş olur. Bir iyon dedektöre çarptığında kütle spektrometresi, iyonun uçuş tüpü boyunca sürüklenmesi için geçen süreyi belirler. Uçuş tüpü boyunca sürüklenme süresi iyonun m/z 'si ile orantılıdır (Haag, 2016).

TOF çok yüksek bir kütle aralığını tespit edebilme avantajına sahip olmasına rağmen, geleneksel bir TOF analizörünün tüp doğrusallığı, çözme gücünü etkileyebilir çünkü TOF'a giren iyonlar farklı kinetik enerjiler taşır ve bu daha sonra çözünürlüğü ve moleküler iyon ölçümlerini etkilemektedir. Bu sorun, TOF içindeki iyonların yolunu değiştiren bir iyon optik cihaz olan refletronun (elektrostatik iyon aynası) geliştirilmesiyle aşılmıştır (Şekil 3). Daha yüksek kinetik enerjiye sahip iyonlar iyon aynasının daha derinlerine nüfuz edecek ve dolayısıyla iyonlar yavaş yavaş itilecek ve TOF spektrumunun çözünürlüğü artacaktır. Diğer bir faktör ise tüpün uzunluğudur; İyonlar (reflektör-TOF'de) daha uzun bir yol kat ettiğinden, uçuş süresindeki artış nedeniyle daha iyi çözünürlük ve doğru kütle ölçümleri elde edilebilmektedir. Refletron tipi kütle analizörlerinde genellikle iki dedektör bulunur: birincisi iyon aynasının ötesinde, ikincisi ise iyon yolunun sonundadır. Bir refletronun iyon kaybına neden olabileceği gerçeği nedeniyle operatör, çözünürlükten mi yoksa hassasiyetten mi ödün vereceğine karar verebilir. TOF'nin doğası gereği, MALDI iyon kaynağına (yani MALDI-TOF) geniş ölçüde bağlıdır. Bununla birlikte TOF, tandem kütle spektrometrik deneyler gerçekleştirebilen hibrit cihazlarda veya ortogonal TOF'da bir ESI kaynağına da verimli bir şekilde bağlanabilir. Bu iyonizasyon kaynakları, uçuş süresi gibi kütle analizörleri ile birlikte mega Dalton kütle

aralığının çok ötesine geçen makromoleküllerin tespit edilmesine olanak tanır (El-Aneed ve ark., 2009).

1.2.3.3. İyon Tuzağı

İyon tuzağı kütle analizörü, kuadropol kütle analizörünün bir modifikasyonudur. Son zamanlarda, 2 boyutlu doğrusal iyon tuzağı, ticari olarak temin edilebilen çoğu ekipmandaki Paul Tuzağı olarak da bilinen 3 boyutlu iyon tuzaklarına göre daha çok sayıda avantaja sahip olması nedeniyle popüler hale gelmiştir. 3 boyutlu tuzaklar birbirine bakan iki hiperbolik elektrot plakasından ve aralarına yerleştirilen hiperbolik halka elektrottan oluşur. Kuadropolde olduğu gibi salınımlı bir radyo frekansı alanı ve üst üste bindirilmiş bir doğrusal elektrik alanı kullanılarak iyonlar elektrotlar arasında tutulur. Analizör aracılığıyla, farklı m/z 'ye sahip iyonlar, radyo frekansı potansiyeli değiştirilerek tuzaktan seçici olarak dışarı atılır. Çıkarılan iyonlar daha sonra dedektöre kaydedilir. Genellikle doğrusal tuzaklar olarak adlandırılan 2 boyutlu tuzaklar, kuadropole eşdeğerdir ancak iyonları kuadropolün kendi içinde hapsedmek için kuadropolün her bir ucuna bir potansiyel alan uygulanır. İyonlar, 2D tuzağın tasarımına göre aksel veya radyal olmak üzere seçici olarak püskürtülebilir (Nolting ve ark., 2019).

İyon tuzakları iyon depolama yeteneğine sahip olduğundan, bunları kullanan kütle spektrometreleri gelişmiş hassasiyetleriyle bilinir. İyon tuzağı analizörleri, kuadropol muadillerine çok benzer şekilde, küçük ve kompakt bir boyuta sahip olma avantajına sahiptir, bu da onların çoğu kütle spektrometresine kıyasla daha uygun fiyatlı olmalarına neden olur. Ayrıca proteomik alanının genişletilmesinde büyük rol oynamışlardır. Bir karışımdaki proteinlerin tanımlanmasındaki ilk gelişmelerin çoğu, iyon tuzak analizörleri kullanan kütle spektrometreleri ile gerçekleştirilmiştir. İyon tuzağı analizörlerinin en büyük dezavantajlarından biri düşük çözünürlüğe sahip olmalarıdır. Yavaş tarama hızlarında bile iyon tuzağı analizörleri (özellikle 3 boyutlu modeller) yalnızca tek birim kütle çözünürlüğüne sahiptir. Ancak, küçük boyutta olmaları nedeniyle 2D analizörler, özellikle tandem MS gerçekleştirirken öncü kütle filtresi olarak hibrit cihazlarda hala yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Somogy, 2008; Haag, 2016).

1.2.3.4. Manyetik Sektör Kütle Analizörü

Manyetik sektör kütle spektrometresi iyi bir stabiliteye, yüksek hassasiyete ve basit bir yapıya sahiptir. İlk Manyetik Sektör kütle analizörü barındıran kütle spektrometreleri, farklı kütle-yük oranlarına sahip iyonların manyetik bir alanda ayrıldığı tek bir odaklama cihazlarıydı. Daha sonra araştırmacılar, yeni bir kütle

analizörü oluşturmak için manyetik sektörü elektrostatik alanla birleştirdiler ve bu yapıda belirli bir hıza sahip iyon ışınları manyetik analizöre girdikten sonra farklı kütle-yük oranlarına göre ayrıştırılabilmektedir. Daha sonra bu iyonlar, aynı kütle-yük oranlarına sahip ancak farklı enerjilere sahip iyonların ayrıldığı elektrostatik alan analizörüne girer. Çift odaklı kütle spektrometreleri tandem ve ortogonal olmak üzere iki forma ayrılabilir. Tandem türleri için, manyetik analizör kütle dağılımı üretirken, elektrostatik analizör enerji dağılımını dengeler (Yang ve ark., 2022).

İlk yıllarda, manyetik sektör kütle spektrometresi, çözünürlüğü manyetik analizörün boyutuna bağlı olduğundan ve dolayısıyla boyutu minyatür bir sistem için ideal olmadığından laboratuvarında MS analizi için kullanılmıştır. Ancak yeni teknolojilerin sürekli ortaya çıkmasıyla durum giderek iyileşmiş ve son zamanlarda, yüksek performanslı Nd-Fe-B kalıcı mıknatısların geliştirilmesiyle, kütle analizörünün boyutu ve ağırlığı azaltılmıştır; ayrıca, tasarlanan kodlanmış açıklıkların kullanılması, çözünürlükten ödün vermeden hassasiyeti arttırmaktadır (Chen ve ark., 2015; Yang ve ark., 2022).

1.2.3.5. İyon siklotron rezonansı (ICR)

ICR-MS veya FTICR-MS, manyetik alandaki iyonların dairesel bir hareketi (siklotronlama) takip etmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu kütle analizörleri, yüksek alanlı süper iletken bir mıknatısın (3-12 T) oluşturduğu manyetik alanda, ortak bir merkezden spiral bir yol boyunca dışarı doğru hızlandırılan iyonların ürettiği görüntü akımını tespit ederek m/z değerlerini ölçer. İyonlar bir devrenin parçası olan Penning tuzağına (statik elektrik/manyetik iyon tuzağı) enjekte edilir. Sabit konumlardaki dedektörler, yanlarından yakın geçen iyonlardan gelen elektrik sinyallerini ölçer ve sinyal üzerinde Fourier dönüşümü gerçekleştirilerek görüntü akımını kütle spektrumuna dönüştürür (Thomas, 2019).

ICR-MS'in temel avantajları arasında yüksek hassasiyeti, yüksek kütle doğruluğu ve üstün çözünürlüğü (1 milyonu aşabilir) yer almaktadır. ICR kütle analizörleri yakalama tipi analizörler olduğundan, MS^n (birden fazla ardışık iyon parçalanması ve analizi turu-tandem) de dahil olmak üzere çeşitli MS analiz metotlarına uygundur. Ayrıca, kütle analiz cihazının yüksek kütle doğruluğu nedeniyle analit tespiti için iyon parçalanması genellikle gerekli değildir. ICR kütle analizörlerinin dezavantajları, cihazın satın alınımı ve çalıştırılmasının yüksek maliyetli oluşu, cihazın büyük olmasından dolayı büyük bir alana ihtiyaç duyulması, yüksek alanlı süper iletken mıknatıs gereksinimi, nispeten uzun sinyal toplama süresi, yüksek manyetik alanlarla ilgili güvenlik endişeleri ve yüksek vasıflı operatörlere ihtiyaç duyulmasıdır. Bu nedenlerden dolayı ICR kütle

analizörleri rutin klinik laboratuvar uygulamalarında kullanıma uygun değildir (Marshall ve ark., 1998; Thomas, 2019).

1.2.3.6. Orbitrap (OT)

Orbitrap kütle analizörü 2006 yılında ticari hale getirilmiştir. FT-ICR analizörüne benzer şekilde, Orbitrap da bir tuzakta salınan iyonlar tarafından üretilen zaman-alanlı sinyali frekans alanına dönüştürmek için Fourier dönüşümünü kullanan bir analizör türüdür. İyonlarda salınımı indüklemek için manyetik alan kullanan FT-ICR analizörlerinin aksine, Orbitrap analizörleri bu salınımları indüklemek için bir elektrik alanı kullanır (Makarov ve ark., 2006; Perry ve ark., 2008).

Orbitrap kütle analizörleri, araştırma laboratuvarı ortamlarında proteomik biyobelirteç keşif uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır ve kesin analit tanımlaması için faydalı olan yüksek çözünürlükleri ve kütle doğrulukları nedeniyle klinik toksikoloji uygulamalarında kullanım için büyük potansiyele sahiptirler Orbitrap kütle analizörleri LC sistemleriyle kolayca arayüzlenebilir, böylece bileşiğin tanımlanmasına yardımcı olmak için doğru kütleli yanısıra alıkonma süresinin de kullanılmasına olanak sağlar (Wu ve ark., 2012; Aebersold ve ark., 2018).

1.2.4. İyonizasyon dedektörleri

Kütle spektrometresinin son bileşeni dedektörlerdir. Dedektör, bir iyon bir yüzeyden geçtiğinde veya bir yüzeye çarptığında ya indüklenen yükü ya da üretilen akımı kaydeder. Bir tarama cihazında, tarama sırasında dedektörde üretilen sinyal ve cihazın taramada bulunduğu yer (hangi m/Q 'da) ile birlikte kullanılması, bir kütle spektrumu, yani m/Q 'nun fonksiyonu olarak iyonların kaydını oluşturacaktır. Belirli bir anda kütle analiz cihazından ayrılan iyonların sayısı genellikle çok az olduğundan, bir sinyal almak için önemli miktarda amplifikasyon yapılması gerekir. Dedektörler, yüksek amplifikasyon gücüne sahip olma, hızlı yanıt verme, düşük gürültü oranı verme, yüksek toplama verimliliğine sahip olma, düşük maliyetli olma, uzun süreli kullanıma elverişli olma gibi gereksinimlerini karşılamalı ve vakumun dışına kurulmalıdır. En yaygın kullanılan dedektörler arasında Faraday kupaları, elektron çarpanı, mikro kanallı plaka dedektörleri ve odak düzlemi dedektörü bulunur (Patel ve ark., 2012; Yang ve ark., 2022).

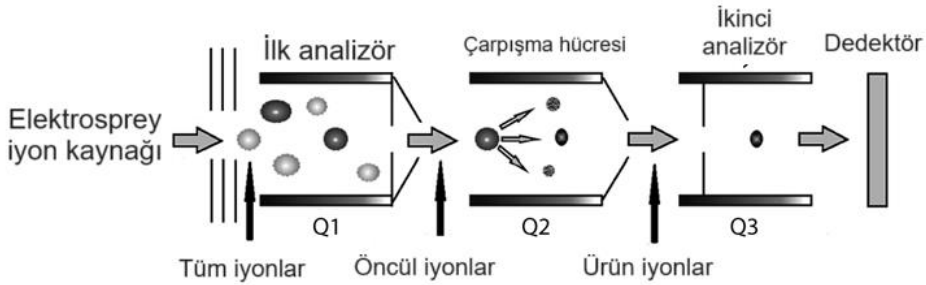
1.3. Tandem MS

Moleküler ağırlık bilgisi bir bileşik için yararlı bir tanımlayıcısı olsa da, çoğu analizde, yüksek kütle doğruluğunda nispeten küçük analitler için bile kesin

tanımlama sağlamak için yeterli değildir. Ayrıca element bileşimi çıkarılabilse bile molekül ağırlığı molekülün yapısı hakkında hiçbir fikir vermez ve bu nedenle ek yöntemlere ihtiyaç duyulur. Tandem MS (aynı zamanda MS/MS veya MSⁿ olarak da bilinir), iyonun artan aktivasyon enerjisiyle parçalanma şekline dayalı olarak bir analitin yapısını daha fazla araştırmak için yaygın olarak kullanılır. Net iyon piki sağlama açısından MS/MS'in çok güvenilir olması onu biyomoleküllerin karakterizasyonu için hayati bir araç haline getirir. Bir MS/MS deneyinde, başlangıçtaki kütle spektral alımından seçilen bir m/z'deki ilgili iyonlar (öncü iyonlar) izole edilir ve parçalanır ve sonuçta ortaya çıkan ürün iyonlarının m/z'si ölçülür. Fragmentasyon bölgeleri ve dolayısıyla gözlemlenen fragman iyonları sıklıkla öngörülebilir ve karakteristik olarak molekülün yapısına bağlıdır ve bu nedenle moleküler yapının ayrıntılarını sağlayacak şekilde yorumlanabilir. Bu yaklaşım hem organik hem de biyomoleküler MS'de yaygın olarak uygulanır ve özellikle biyopolimerlerin dizilenmesi için çok uygundur (Medzihradzsky ve Chalkley, 2015). Aşağıda en yaygın kullanılan tandem MS tipleri özetlenmiştir.

1.3.1. Üçlü Kuadropoller

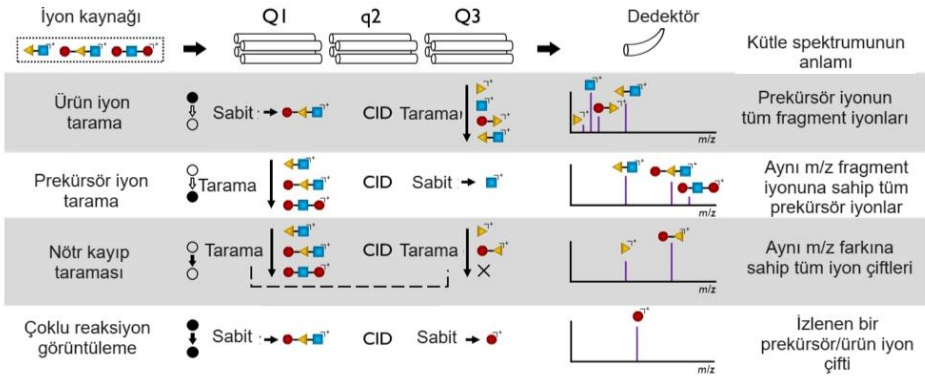
Üçlü kuadropol kütle spektrometreleri, en yaygın olarak satılan kütle spektrometresi türlerinden biridir ve analizörlerin birlikte kullanılmasının en iyi örneklerinden biridir (Yost ve Enke, 1979). Üçlü kuadropol kütle spektrometresinde, sırayla üç takım kuadropol analizör kullanılır (Şekil 5).



Şekil 22. Üçlü kuadropollerin şematik düzenlenmesi (Faktor ve ark., 2012)

İlk analizöre genellikle Q1 adı verilir ve bir dizi m/z değeri boyunca tarama yapabilir veya seçilen bir m/z'nin iyonlarını seçici olarak filtreleyebilir. İlk analizöre genellikle Q1 adı verilir ve bir dizi m/z değeri boyunca tarama yapabilir veya seçilen bir m/z'nin iyonlarını seçici olarak filtreleyebilir. Q1'den geçen

iyonlar daha sonra Q2 olarak adlandırılan ikinci bir kuadrupol dizisine girer. Bir analizör olarak çalışan kuadrupolden farklı olarak Q2, Q1'den seçilen iyonları parçalamak için yalnızca bir çarpışma hücresi olarak kullanılır. Bu işlemde oluşan ürün iyonları daha sonra bir kütle spektrumu elde etmek için son kuadrupol dizisi olan Q3 aracılığıyla taranabilir veya belirli bir iyonu izlemek için Q3 sabitlenebilir. Q1 ve Q3'ün sabit veya tarama modlarının kombinasyonu, gerçekleştirilen taramanın türünü belirler (Yost ve Enke, 1979, Domon ve Aebersold, 2006). En yaygın tarama modları Şekil 6'da açıklanmıştır.

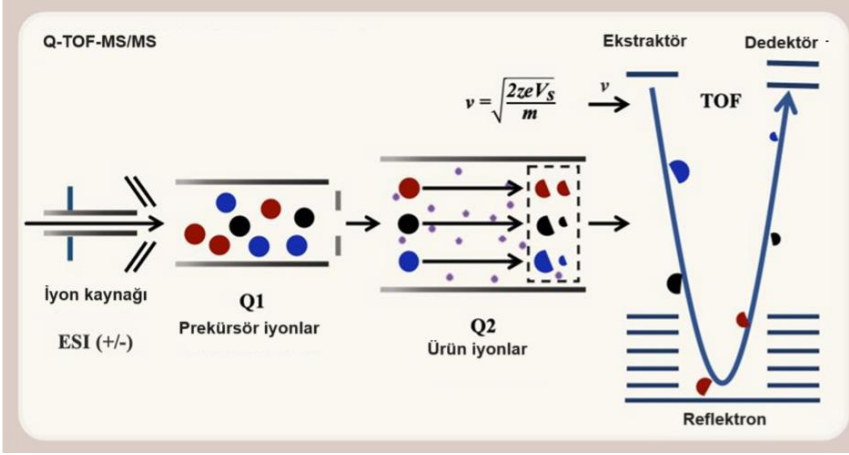


Şekil 23. Üçlü kuadrupol kütle spektrometresinin dört temel işlemi: ürün iyon taraması (Prod), öncü iyon taraması (Prec), nötr kayıp taraması (NL) ve çoklu reaksiyon izleme (MRM). Her kuadrupol kütle filtresinin işlemi ya "Düzeltilme" ya da "Tarama" dır, ancak q2 her zaman parçalanmanın meydana geldiği yerdir.

1.3.2. Q-TOF

Kuadrupol analizörler, iyon kaynağından sürekli bir iyon akışı olduğunda verimli çalışmayı tercih eder. Ancak TOF analizörleri bir darbeyi veya iyon paketini tercih eder. İki analizörün birlikte çalışabilmesi için TOF analizörü, kuadrupol analizörün ardından dik bir konfigürasyona yerleştirilir. Bu konfigürasyon, kuadrupolden filtrelenen iyonların, iki analizör arasında bir dizi itici ve çekici plaka kullanılarak TOF analizörüne bir paket halinde dik olarak enjekte edilmesine olanak tanır (Şekil 7). Q-TOF tandem analizörlerinin en büyük avantajlarından bazıları, üçlü kuadrupol kütle analizörlerine kıyasla daha yüksek kütle doğruluğu, daha yüksek çözünürlük ve artırılmış tarama hızı ve dolayısıyla sıvı kromatografisine kolayca arayüz oluşturma ve çok hızlı tandem MS gerçekleştirme yetenekleridir. Bu özelliği, kromatografik bir çalışmada birlikte elüsyon yapan birçok bileşik olduğunda birçok spektrumun elde edilmesine olanak tanır. Her ne kadar verinin çözünürlüğü, bir orbitrap veya FT-ICR analizörü ile analiz edildiğinde aynı kalitede olmasa da, standart kuadrupol

veya iyon tuzaklarıyla elde edilenlerden çok daha üstündür (Morris ve ark., 1996; Chernushevich ve ark., 2001).



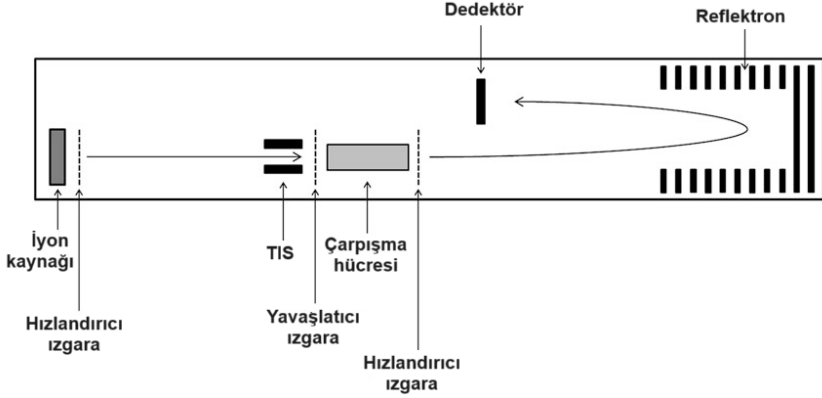
Şekil 24. Q-TOF analizörü, üçlü kuadrupol analizör ve uçuş süresi analizörünün bir hibritidir. Üçlü kuadrupol sisteme benzer ancak son kuadrupolün yerini uçuş süresi analiz cihazı almıştır (Yang ve ark., 2023)

1.3.3. TOF-TOF

Uçuş zamanlı/uçuş zamanlı (TOF/TOF), iki TOF analizörünün birlikte kullanıldığı ve çarpışma kaynaklı ayrışmanın (CID) iki TOF analizörü arasında gerçekleştirildiği bir yöntemdir (Şekil 8) ve genellikle MALDI gibi iyonizasyon yöntemleriyle iyonize edilen peptit ve oligonükleotidler gibi biyolojik bileşikler üzerinde tandem MS gerçekleştirilmesine olanak tanır. TOF analizörlerinin çalışma hızı nedeniyle hem MS hem de MS/MS seviyesinde numune analizi çok hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir.

Bir TOF/TOF analizöründe tandem MS gerçekleştirmek için, birçok adımda çok hızlı elektronik değişimlerin gerçekleşmesi gerekir. İlk olarak, farklı m/z'ye sahip iyonlar, hızlarına bağlı olarak uçuş tüpünden ayrılır. İkinci aşamada, diğerlerinin tümü filtrelenirken belirli bir m/z'ye sahip iyonlar seçilir. Bu öncü iyon seçimi genellikle, iyonları kapıya varış zamanlarına göre filtreleyen esasen zamanlı iyon seçici (TIS) olan Bradbury Nielsen kapısı kullanılarak gerçekleştirilir. Üçüncü aşamada, seçilen öncü iyonlar daha sonra onları çok daha yavaş bir hıza düşüren bir dizi iyon optiğine aktarılır. Dördüncü aşamada, iyonlar daha sonra çarpışma kaynaklı ayrışma için bir çarpışma hücresinden geçer. Son olarak, oluşan ürün iyonları ikinci bir uçuş tüpünde yeniden hızlandırılır ve analiz edilir. Bu analizör kombinasyonunun hızlı analizi, MALDI iyon kaynaklarıyla

birleştğinde, onu triptik sindirimlerden elde edilen peptitlerin analizi için ideal kılar (Medzihradzsky ve ark., 2000; Vestal ve Campbell, 2005; Haag, 2016).



Şekil 25. TOF/TOF analizörleri, iki TOF analizörünü art arda birleştirir. İyonlar ilk TOF'ta hızlandırılır. Zamanlanmış bir iyon seçici, belirli bir m/z 'ye sahip iyonların geçişine izin verir. Seçilen iyonlar daha sonra çarpışma kaynaklı ayırmaya maruz kalacakları bir çarpışma hücresine geçmeden önce yavaşlatılır. Ortaya çıkan fragman iyonları ikinci TOF'a doğru yeniden hızlandırılır ve bir kütle spektrumu elde etmek için uçuş süreleri ölçülür.

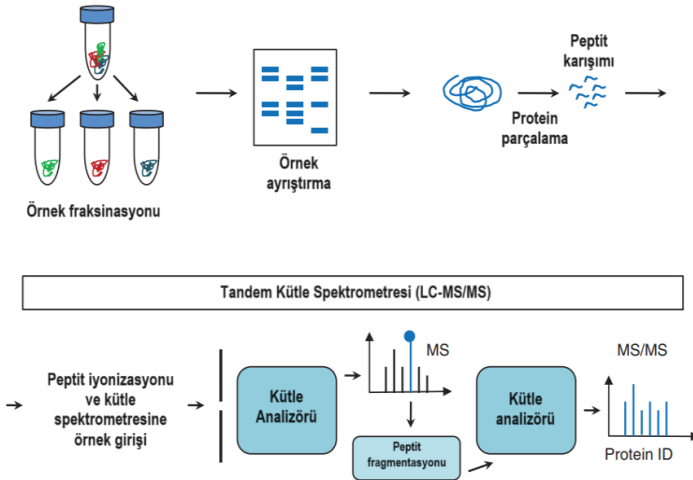
2. Kütle Spektrometresinin Protein Uygulamaları

Yaşamı oluşturan biyokimyasal süreçleri anlamak, yalnızca genomda kodlanan genetik talimatların bilgisini değil, aynı zamanda proteinlerin ve metabolik substratların ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasını da gerektirir. Biyolojik bir sistemde bulunan proteinlerin veya proteomun karakterizasyonu, biyolojinin doğasında bulunan karmaşıklıkların daha iyi anlaşılması için temel sağlamaktadır. Proteom kompleks olmasının yanısıra mekansal, zamansal ve kimyasal olarak dinamiktir. Kütle spektrometresi (MS) temelli proteomik, biyolojik bir numune veya sistemdeki proteinlerin yüksek verimli karakterizasyonu ve miktarının belirlenmesi için bir araç sağlayan, büyüyen bir dizi yardımcı teknoloji içerir (Domon ve Aebersold, 2006).

Genom dizisi ve tanımlanan genler, bir organizmanın doğal sistem çapındaki biyolojik karmaşıklığı gösterir bir parçadır ve proteom, genom için oldukça tamamlayıcı olmasına rağmen, hücreden hücreye ve zamandan zamana farklılık gösterir. Proteinlerin translyasyon sonrası modifikasyonları (PTM'ler), genellikle yalnızca bir organizmanın genomunun temelini dayanarak tahmin edilenden çok daha geniş protein türü çeşitliliğine katkıda bulunur. Biyoloji, biyomedikal araştırmalar ve sistem biyolojisi üzerinde geniş etkisi olan çok çeşitli MS tabanlı proteom çalışmaları mevcuttur. MS tabanlı proteomiklerin uygulamaları,

tanımlayıcıdan çalışmalardan kantitatif çalışmalara kadar uzanmaktadır. MS teknolojilerindeki ilerlemeler, numune hazırlamadaki iyileştirmelerle birleştiğinde, organeller, membranlar, biyosıvılar (örn. kan, beyin omurilik sıvısı, tükürük, idrar, ter), hücreler, dokular, organlar ve mikrobiyal topluluklar dahil olmak üzere çok çeşitli numune türlerinin biyolojik karmaşıklığı hakkında daha fazla bilgi sağlamıştır (Ideker ve ark., 2001).

Proteomik yaklaşımlarda MS tabanlı deneylerin temel parametreleri hassasiyet, çözünürlük, dinamik aralık ve kütle doğruluğudur. Bu nedenle tipik bir MS tabanlı proteomik deneyi sırasında bu unsurların dikkate alınması gerekir. Proteomik çalışmalar, deneysel hedefe göre uyarlanması gereken birkaç adımdan oluşmaktadır. İlk olarak çalışılması hedeflenen proteinler kaynaklarından izole edilir ve afinite saflaştırması ve ardından 1D veya 2D jel elektroforezi gibi teknikler kullanılarak biyokimyasal fraksiyonlama sağlanır. Parçalara ayrılan proteinler daha sonra enzimatik parçalanmaya (genellikle trypsin ile) tabi tutularak bir peptit karışımı oluşturulur. Peptitler iyonize edilir ve kütle spektrometresine dahil edilir; burada yüklü kütle öncülleri, kütle-yük (m/z) oranı olarak ölçülür ve ardından kütle spektrumu olarak kaydedilir. MS/MS deneylerinde, kullanıcı tanımlı bir dizi kriteri karşılayan en yüksek yoğunluklu öncü iyonlar, çarpışma kaynaklı ayrışma (CID) için seçilir ve peptit dizilerinin tanımlanmasına olanak tanıyan MS/MS spektrumları oluşturulur (Şekil 9).



Şekil 26. Genel bir proteomik deney iş akışının şeması (Sokolowska ve ark., 2013).

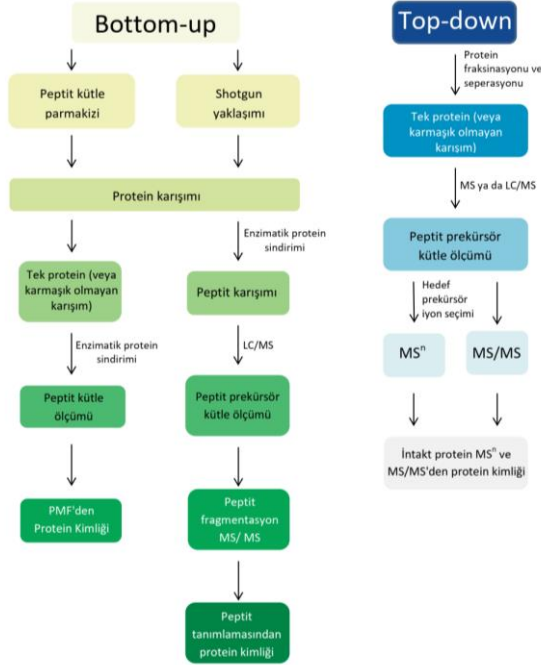
Birinci bölümde anlatıldığı üzere proteinler ve peptitler gibi biyomoleküllerin kütle spektrometresinde analizi, analitin gaz fazında yüklü bir iyon oluşturmasını gerektirir. Verimli ve örneği tahrip etmeyen (yumuşak) iyonizasyon

yöntemlerinin geliştirilmesi, biyomoleküllerin MS tarafından önemli ölçüde örnek tahribatı olmaksızın analiz edilmesini sağlar. Proteomik çalışmalarda yumuşak iyonizasyon işlemlerinin en yaygın olarak uygulananları, elektrosprey iyonizasyonu (ESI) ve matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonudur (MALDI). Şekil 9'da gösterildiği gibi, biyomoleküllerin MS tarafından tanımlanması tipik proteomik iş akışında önemli bir bileşendir (Guerrera ve Kleniner, 2005).

2.1. Kütle spektrometresi ile Protein Tanımlaması ve Karakterizasyonu

Günümüzde araştırmacıların çok karmaşık bir numunedeki tüm proteinleri tek adımlı bir deneyde tanımlamasına olanak tanıyan bir yöntem mevcut değildir. Karmaşık biyolojik numunelerde potansiyel olarak yüzlerce ila binlerce protein tespit edilebilir ve ölçülebilir. Nispi miktarları daha fazla olan birçok proteini içeren karışım içerisinde eser miktarda örneklerin tespiti analitik olarak zorluk çıkarmaktadır. Bu sorunu kısmen çözmek için sıvı kromatografi (LC) tekniği MS ile birleştirilmiştir. Böylece tek ölçümde binlerce protein ve peptidin analizine olanak sağlanmıştır.

Protein tanımlama ve karakterizasyonundaki ilk adım, molekül ağırlığının (MA) ve birincil amino asit dizisinin belirlenmesidir. MS kullanılarak protein karakterizasyonu için bütünsel proteinlerin analizi (top-down yaklaşım) ve tripsin gibi enzimlerle muamele sonrası parçalanmış bir proteinden elde edilen peptit karışımının analizi (bottom-up yaklaşım) olmak üzere iki temel yaklaşım vardır (Şekil 10).



Şekil 27. Bottom-up ve Top-down MS temelli protein tanımlama ve karakterizasyonuna yönelik stratejiler (Han ve ark., 2008'den uyarlanmıştır)

Top-down yaklaşım, bütünsel (intakt) proteinlerin gaz fazında iyonizasyonunu ve ardından öncül bir parçalama işlemi (enzim muamelesi) yapılmaksızın kütle ölçümünü (yüksek çözünürlükte) içerir. Doğru ölçümler için biyolojik örneklerin tek bir proteine veya daha az karmaşık protein karışımlarına ayrılması ve/veya fraksiyonlara ayrılması gerekir. Bu yaklaşım, protein izoformlarının veya herhangi bir potansiyel translayon sonrası modifikasyonun tanımlanmasına izin verir (McLafferty ve ark., 2007). Shotgun proteomikleri olarak bilinen bottom-up yaklaşımında ise, protein karışımı, tek veya çok boyutlu kromatografi kullanılarak ayrılan ve tandem MS (MS/MS) kullanılarak analiz edilen bir peptit karışımı oluşturmak üzere doğrudan tripsinle muamele edilerek parçalanır (McDonald ve Yates, 2003). Daha kapsamlı protein karakterizasyonu yapabilmek için top-down ve bottom-up yaklaşımları kombine halde uygulanabilir (Han ve ark., 2008; Wu ve ark., 2009).

2.1.1. Post traslasyonel modifikasyonların analizi

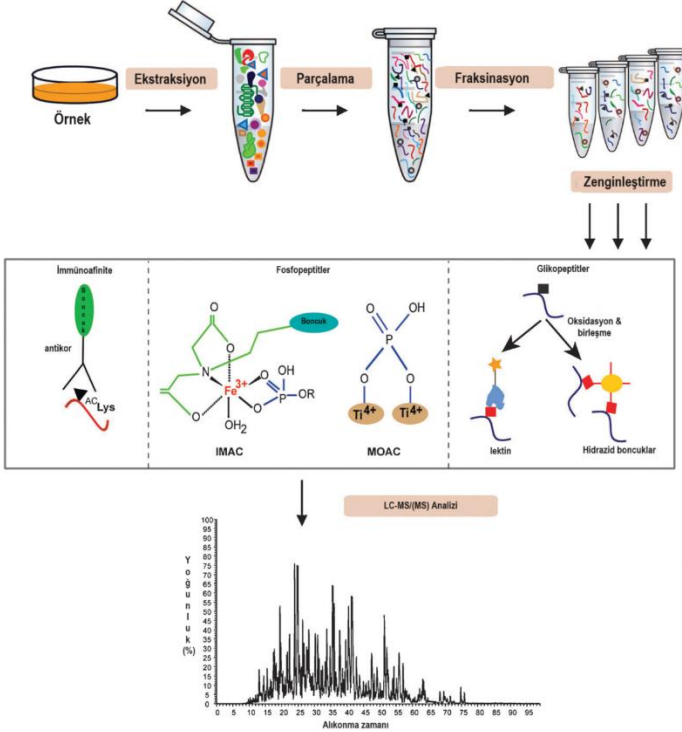
Hücrelerin biyolojik fonksiyonlarına kısmen protein post translasyonel modifikasyonlar (PTM'ler) aracılık eder. PTM'ler statik veya dinamik olabilir ve bir proteinin kimyasal durumunu, standart protein profillemeye teknikleriyle

kolayca tespit edilemeyecek şekilde zorlaştırabilirler. Proteomun kimyasal çeşitliliğini ve karmaşıklığını arttırdıkları için ve kapsamlı bir şekilde yapılması hedeflenen protein çalışmaları, dinamik sistem düzeyinde analizler gerçekleştirme becerisi gerektirmektedir. Verimli, büyük ölçekli PTM profillemeye teknolojilerinin geliştirilmesindeki son gelişmeler, hücrelerin bilgiyi nasıl işlediğine dair birçok yararlı bilgi sağlamıştır ancak hala önemli zorluklar vardır. Şimdiye kadar çoğu PTM çalışması fosforilasyon, glikozilasyon, ubikuitinasyon, sumoilasyon ve asetilasyon gibi ortak modifikasyonlara odaklanmıştır (Simon ve Cravatt, 2008; Choudhary ve Mann, 2010).

Geleneksel bottom-up proteom analizlerinde olduğu gibi, PTM analitik yöntemleri daha yüksek hassasiyet ve daha geniş bir proteom kapsamı elde etmeyi amaçlamaktadır. Başarılı bir PTM analizi verimli hücresel preparatların ve protein ekstraksiyon protokollerinin hazırlanmasına bağlıdır. Son zamanlarda, büyük ölçekli PTM analizleri için örnek hazırlama ve analitik tekniklerde önemli gelişmeler olmuştur (Şekil 11). Modifiye edilmiş proteinleri veya peptidleri zenginleştirmek için yaygın olarak kimyasal ve afinite temelli yöntemler kullanılır (Nielsen ve ark., 2008). Kimyasal yaklaşımlar, seçici yakalamaya izin veren afinite etiketlerinin, değiştirilmiş proteinler/peptitler üzerine eklenmesini içerir. Kimyasal olarak tasarlanan, fosforile ve glikosile edilmiş proteinleri üzerine afinite etiketlerinin yerleştirildiği kinazlar ve glikosiltransferazların kullanılması bu tür kimyasal yaklaşımlara örnektir. Ayrıca, fosfat grubunun fosfoserinden (pSer) ve fosfotreoninden (pThr) β -eliminasyonu ve bu kalıntıların doğrudan tespiti için verecek şekilde dehidroalanin ve dehidroaminobütirik asite dönüştürülmesi de kimyasal yöntemlerde uygulanmaktadır. Alternatif bir diğer kimyasal yöntem, fosforamidat kimyası (PAC) kullanılarak bir katı faz desteğine bağlanarak fosforile edilmiş kalıntıların seçimini içerir. Bununla birlikte, kimyasal yaklaşımlar istenmeyen yan reaksiyonlara yol açabilir, bu da numune karmaşıklığının artmasına ve *in vivo* modifikasyonların ayırımının zorlaşmasına sebep olur (Nielsen ve ark., 2008; Jensen ve ark., 2009).

Gelişmiş MS teknolojileri, hem bilinen hem de yeni PTM'lerin tanımlanmasına olanak tanır ve böylece antikör temelli yaklaşımlara göre önemli bir avantaj sağlar ve bu yaklaşımlar için tamamlayıcıdır. MS ile birleştirilmiş fosforile edilmiş (immobilize metal iyon afinite kromatografisi; IMAC, metal oksit afinite kromatografisi; MOAC) ve glikosile edilmiş (lektin afinite kromatografisi, hidrazid yakalama) proteinler/peptitler için diğer afinite temelli zenginleştirme yöntemleri önemli bir başarı ile uygulanmıştır ve bunlar aşağıda detaylıca tartışılmıştır. Fosforile edilmiş (IMAC, MOAC) ve glikosile edilmiş (lektin afinite kromatografisi, hidrazid yakalama) proteinler/peptitler gibi afinite

temelli zenginleştirme yöntemlerinin MS ile birleştirilmesiyle yapılan analizler başarı ile uygulanmaktadır. PTM'ler peptitlerin moleküler ağırlığını artırabilir veya azaltabilir ve MS/MS'de modifikasyona özgü sinyallerle sonuçlanabilir. Artık biyolojik araştırmalarda rutin olarak kullanılmasına rağmen, PTM'leri tespit etmek ve ayırt etmek, düşük PTM stokiyometrisi, daha karmaşık MS/MS spektrumları ve yanlış keşif oranına sahip artan veri tabanı arama alanıyla ilişkili bilişim zorlukları nedeniyle geleneksel bottom-up proteomik yaklaşımları için hala zorluk teşkil etmektedir (Choudhary ve Mann, 2010).



Şekil 28. Protein translyasyon sonrası modifikasyonunu incelemek için kullanılan deneysel stratejiler. PTM analizi için tipik bir iş akışı, hücrelerden veya dokulardan proteinlerin ekstraksiyonunu, ardından ekstrakte edilen proteinlerin peptidlere proteolizini, fraksinyasyon yoluyla numune karmaşıklığının azaltılmasını, PTM peptidlerinin LC-MS/(MS) kullanılarak zenginleştirilmesini ve tanımlamaları, nicelik analizleri ve PTM alan eşleştirmesi için veritabanı aramaları içermektedir (Angel ve ark., 2012).

2.1.1.1. Protein Glikozilasyonu

Glikozilasyon, hücre-hücre tanıma gibi birçok biyolojik süreci geliştirir ve bir proteinin biyolojik aktivitesini etkiler (Spiro, 2002; Marino ve ark., 2010). Biyoterapötik alanında glikozilasyon, rekombinant proteinlerin stabilitesini ve

çözünürlüğünü etkileyen en yaygın modifikasyondur (Kamoda, ve Kakehi, 2008; Read ve ark., 2011). Glikosilasyon mekanizması ve işlevselliği, farklı glikan kompozisyonuna sahip birçok glikosile edilmiş varyantın karışımıyla sonuçlandığı için glikoproteinlerin tanımlanması ve karakterizasyonu zorlu bir iştir. MS tabanlı proteomik analizlerde doğru kütle ölçümleri, glikanların bileşiminin doğru hesaplanması için kritik öneme sahiptir (Leymarie ve Zaia, 2012). Glikanların hızlı, doğru ve güvenilir bir şekilde tanımlanmasına yönelik yöntemin seçimi amaca yönelik olarak belirlenmelidir. Glikoproteinlerin analizi, glikopeptitlerin enzimatik olarak sindirilmesi ile başlatılır. Elde edilen karışım daha sonra LC-MS/MS ile analiz edilir; sonuçta, sakkarit tanısıl fragmanlarının, özellikle de heksozların tanımlanmasına olanak sağlar. Ancak bu yöntem, glikoproteinleri tespit etme verimliliğinin az olması ve bazen ters fazlı LC tarafından zayıf tutulmanın gerçekleşmesi sonucu gaz fazında deglikozilasyon riskinin olması nedeniyle ideal değildir (Morelle ve Michalski, 2007; Wührer ve ark., 2007; Pan ve ark., 2011). Bu tür sorunlara çözüm bulmak amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden biri sonraki LC-MS/MS analizinde tanımlanmayı kolaylaştırmak için lektin afinite kromatografisi kullanılarak glikoprotein zenginleştirilmesi yapmaktır (Mechref ve ark., 2008). Bir diğer teknik, glikopeptitlerden glikanların salınmasını sağlayan kimyasal bir yöntemdir. N-bağlantılı glikanlar, peptid-N-glikosidaz F kullanılarak salınabilirken, O-bağlantılı glikanlar β -eliminasyonu ile salınabilir. Glikanın çıkarılmasıyla meydana gelen peptitler için kütle birimlerindeki değişiklik, glikozilasyon bölgelerinin oluşturulmasına izin verir. N-bağlantılı glikanlar için, asparagin kalıntılarının aspartata dönüştürülmesi bir birimlik kütle artışına yol açar. O-glikanlar için treonin kalıntılarının aminobütirik asite ve serin kalıntılarının alanine dönüşümü 16 kütle biriminin kaybıyla sonuçlanır (Bond ve ark., 2008). Mevcut yöntemler glikosilasyon bölgelerinin nispeten hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlanmasına olanak tanır, ancak glikanların tam yapısal bileşiminin doğru karakterizasyonu hala çok zordur. Elde edilen spektrumların yorumlanması, glikan konum izomerlerinin varlığı nedeniyle oldukça zorlayıcıdır. Ayrıca analiz edilen numuneler yüksek düzeyde saf olmalıdır ve onaylanmış standartların kullanımı gerekmektedir (Sokolowska ve ark., 2013).

2.1.1.2. Protein fosforilasyonu

Protein fosforilasyonu sinyalleme çalışmalarının odağındadır. İnsan genomundaki proteinlerin %30'unun fosforile edilebildiği ve anormal fosforilasyonun artık insan hastalıklarının bir nedeni olduğu kabul edilmektedir (Cohen, 2002). İmmobilize metal iyonu (Fe^{3+} veya Ga^{3+}) afinite kromatografisi (IMAC) ve metal oksit (TiO_2 veya ZrO_2) afinite kromatografisi (MOAC) ile

fosfopeptit zenginleştirilmesi yöntemleri fosfoproteomik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer teknikler ise, yüksek hassasiyet ve verim potansiyeline sahip olan ancak hedefler hakkında önceden bilgi gerektiren protein ve antikor bazlı diziler ve floresans bazlı tek hücre analizleridir. Fosforilasyon, HPO_3 eklenmesine bağlı olarak fosfotirozinde (pY) moleküler kütleyi 80 Da artırır ve amino asit fosforilasyon bölgesinin oluşması, peptit fragmanı iyonları üzerinde 80 Da'lık (veya H_3PO_4 için 98 Da) kütle artışının gözlemlenmesi yoluyla gerçekleştirilebilir (Aryal ve Ross, 2010).

2.1.1.3. Disülfid (-S-S-) köprülerinin oluşumu

Proteinlerin bir diğer önemli modifikasyonu disülfür köprülerinin oluşumudur. Sistein kalıntılarının oksidasyonu yoluyla oluşurlar ve yaygın olarak hücre dışı ve membrana bağlı proteinlerde bulunurlar. Disülfür köprülerinin oluşumu, proteinlerin doğru fonksiyonunun korunmasında ve bunun sonucunda organizmanın fizyolojik durumunun korunmasında önemli bir rol oynar. Doğru disülfid köprülerinin tanımlanması, proteinlerin üç boyutlu yapılarının çözümünde kritik bir noktadır (Xu ve ark., 2008; Mcauley ve ark., 2008). Bu nedenle disülfür bağlantılarının tespiti, araştırmacıların proteinlerin yapısını ve fizyolojik işlevlerini anlamalarına olanak tanır. Disülfür bağlı proteinlerin araştırılması, indirgeyici ve indirgeyici olmayan koşullar altında ayırma ve ardından MS analizi ile gerçekleştirilebilir. Disülfür köprüsü tanımlamasına yönelik temel MS stratejisi, aynı numunenin indirgenmiş ve indirgenmemiş alikotlarının sindirimini ve MALDI-MS veya ESI-MS kullanılarak yarı-sistini kalıntılarını karakterize etmek için peptid kütlelerinin karşılaştırılmasını içerir (Sokolowska ve ark., 2012a; Sokolowska ve ark., 2012b).

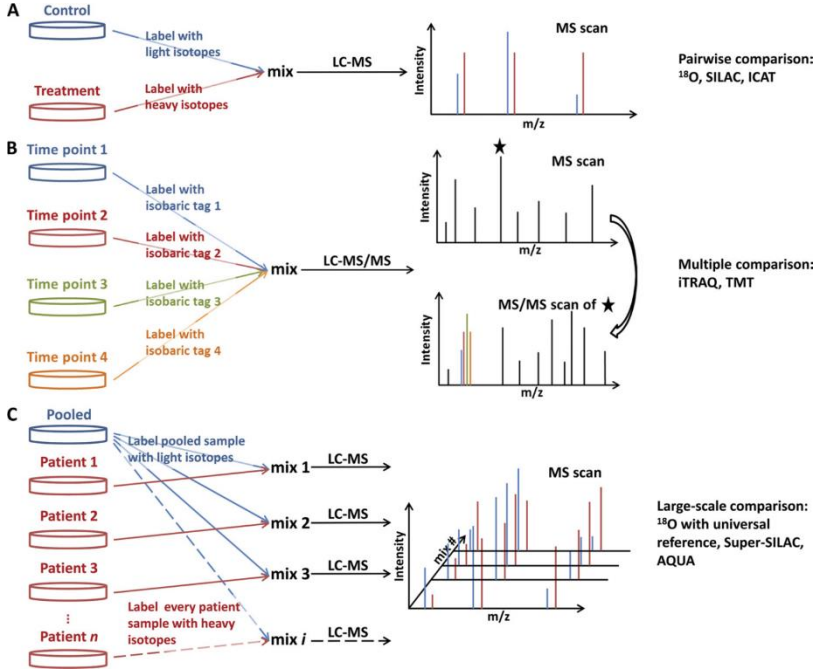
2.2. Kütle Spektrometresi Tabanlı Kantitatif Proteomik

Farklı fizyolojik ve patolojik durumlar arasında protein ekspresyonundaki değişikliklerin kantitatif ölçümü, proteomik araştırmaların bir diğer önemli odağıdır. Belirli proteinlerin ekspresyonunda birkaç kat değişikliğin meydana gelmesi nadir bir olgu değildir, bu nedenle kütle spektrometresi temelli proteomiklere niceliksel bir boyut eklemek, yeteneklerini ve avantajlarını genişletir. Karmaşık biyolojik örneklerdeki protein bileşenlerinin bağlı ve mutlak miktarını değerlendirmek için protein ve peptid miktarının belirlenmesine yönelik çeşitli kütle spektrometresi bazlı iş akışları geliştirilmiştir (Şekil 12).

Farklı biyolojik koşulların olması durumunda protein miktarlarındaki farklılıkları kantitatif olarak ölçmek için genellikle etiketsiz veya etiket temelli (stabil izotop etiketleme tekniklerini içerir) teknikler kullanılabilir ve sonuçlar genellikle "kat değişimleri" olarak ifade edilir. Genel olarak, etiketsiz yaklaşımlar

daha geniş dinamik aralığa ve daha geniş proteom kapsamına sahipken, kararlı izotop etiketleme yaklaşımları daha yüksek ölçüm hassasiyeti ve doğruluğu sağlar. Diğer bir yaygın yaklaşım, belirli bir numunedeki bir peptidin/proteinin tam miktarını veya konsantrasyonunu belirleyen ve uygun bir "dahili" standardın kullanılmasını gerektiren mutlak kantifikasyon tekniğidir. Tüm bu tekniklerin, çalışma amacına göre hangisinin en iyi olduğuna karar vermeden önce göz önüne alınması gereken önemli ölçüde farklı avantajları ve dezavantajları vardır (Ong ve Mann, 2005; Bantscheff ve ark., 2007).

En popüler metabolik etiketleme tekniği, hücre kültüründe amino asitlerle stabil izotop etiketleme (SILAC) tekniğidir (Ong ve ark., 2002). Kısaca, bir veya birkaç amino asit (tipik olarak Arg veya Lys) "ağır" izotoplarla (örneğin ^{13}C ve/veya ^{15}N atomları) etiketlenir ve besiyeri ortamına eklenir. Daha sonra, ağır izotop etiketli amino asitler, birkaç hücre bölünmesinden sonra tüm proteinlere katılmış olur. Ağır izotop etiketli proteom ve normal etiketli proteomun eşit miktarları, intakt hücreler (eşit sayıda ağır ve normal izotop etiketli hücre) veya hücre lizatları (eşit miktarda ağır ve normal izotop etiketli protein içerikleri) seviyesinde karıştırılabilir ve analiz edilebilir. SILAC, doğal biyosentez işlemi sırasında izotoplar dahil edildiğinden *in vivo* değişiklikleri (örn. protein dönüşümü) ölçmek için kullanılabilir. Bir diğer avantajı ise birden fazla etiketin (örn. $^{12}\text{C}_6^{14}\text{N}_4\text{-Arg}$, $^{13}\text{C}_6^{14}\text{N}_4\text{-Arg}$ ve $^{13}\text{C}_6^{15}\text{N}_4\text{-Arg}$) mevcut olması nedeniyle MS/MS analizine tek örnek yerine çok sayıda örneğin dahil edilebilmesidir. Dezavantajı ise Bir eksiklik, SILAC'ın hücre kültürleriyle sınırlı olması ve dokulara veya biyosıvılara kolayca uygulanamamasıdır. (Ong ve Mann, 2005, Elliott ve ark., 2009).



Şekil 29. Kararlı izotop etiketlemeyi kullanan MS tabanlı protein ölçüm teknikleri için iş akışları. A, ikili karşılaştırma, iki örneği karşılaştırmak için kullanılır; ^{18}O etiketleme, SILAC ve ICAT bu kategoriye girer. B, çoklu karşılaştırma, kullanılan izobarik etiketlere (4- plex TRAQ, 6-plex TMT veya 8-plex iTRAQ) bağlı olarak dört, altı veya sekiz adede kadar örneği karşılaştırmak için kullanılır. C, büyük ölçekli karşılaştırma, bu teknikte dahili bir standart kullanılır: ^{18}O etiketli evrensel referans, süper SILAC karışımı veya sentetik izotop etiketli peptitler. AQUA, mutlak kantifikasyon (Xie ve ark., 2011).

Yaygın olarak uygulanan bir başka kararlı izotop etiketleme tekniği, izotop içeren etiketlerin kimyasal reaksiyonlar yoluyla proteinlere veya peptitlere dahil edilmesine dayanır; bu, her türlü biyolojik malzemeye uygulanabilen bir stratejidir. Bildirilen ilk kimyasal etiketleme proteomik yaklaşımı, spesifik olarak Cys kalıntılarının sülfhidril grubuyla tepkime veren izotop kodlu afinite etiketidir (ICAT) (Gygi ve ark., 1999). Göreceli protein bolluğu MS modunda belirlenir ve kütle değişimi, ICAT etiketli Cys başına 9 Da'dır (^{13}C 'nin ağır formda kullanılması şartıyla) (Vaughn ve ark., 2006). Son zamanlarda, birden fazla numunenin eş zamanlı kantitatif analizini (multiplexing) kolaylaştıran, peptitlerin etiketlemek için kullanılan kimyasal olarak reaktif yeni etiketler geliştirilmiştir; bu, özellikle biyolojik bir sistemin farklı zaman noktalarında takip edilmesi için faydalıdır (Bantscheff ve ark., 2007; Wolf-Yadlin ve ark., 2007). Peptit etiketlemesi için en yaygın kullanılan diğer teknikler, bağlı ve mutlak ölçüm için izobarik etiketlerinin (iTRAQ) (Ross ve ark., 2004; Choe ve ark., 2007; Pierce

ve ark., 2008) ve tandem kütle etiketlerinin (TMT) kullanıldığı tekniklerdir (Thompson ve ark., 2003, Dayon ve ark., 2008). iTRAQ ve TMT etiketleri, triptik peptidlerin birincil amin grupları ile spesifik olarak reaksiyona girer ve etiketleme reaksiyonları, yan reaksiyonlar olmaksızın büyük ölçüde tamamlanır. Farklı biyolojik kaynaklardan ve zaman noktalarından eş zamanlı çoklu analize izin vermek için geliştirilmişlerdir (Ross ve ark., 2004; Dayon ve ark., 2008; Muth ve ark., 2010).

Bu stratejiler ölçüm yeteneklerimizi büyük ölçüde arttırmış olsa da, bireysel analiz ile yanlış negatif (eksik veri) veya yanlış pozitif tanımlama arasındaki tekrarlanabilirlik eksikliği gibi sınırlamaları vardır. Bu sorunları çözmek için, protein ve peptit ölçümünde, seçilmiş reaksiyonu görüntüleme (SRM) ve çoklu reaksiyon görüntüleme (MRM) gibi hedeflenmiş ölçüm teknikleri geliştirilmiştir (Wolf-Yadlin ve ark., 2007; Holman ve ark., 2012). Bu analizler uzun yıllardan beri küçük moleküller ve metabolitler üzerinde gerçekleştirilmektedir ancak proteinlerin ve PTM'lerin miktarının belirlenmesinde giderek daha yaygın hale gelmektedir. SRM ve MRM, kararlı izotop etiketli dahili standartlarla birlikte kullanıldığında mükemmel tekrarlanabilirlik gösterir (Addona ve ark., 2009; Duncan ve ark., 2010).

KAYNAKLAR

- Addona, T. A., Abbatiello, S. E., Schilling, B., Skates, S. J., Mani, D. R., Bunk, D. M., Spiegelman, C. H., Zimmerman, L. J., Ham, A., Keshishian, H., Hall, S. C., Allen, S., Blackman, R. K., Borchers, C. H., Buck, C., Cardasis, H. L., Cusack, M. P., Dodder, N. D., Gibson, B. W., Held, J. M., Hiltke, T., Jackson, A., Johansen, E. B., Kinsinger, C. R., Li, J., Mesri, M., Neubert, T. A., Niles, R. K., Pulsipher, T. C., Ransohoff, D., Rodriguez, H., Rudnick, P. A., Smith, D., Tabb, D. L., Tegeler, T. J., Variyath, A. M., Vega-Montoto, L. J., Wahlander, A., Waldemarson, S., Wang, M., Whiteaker, J. R., Zhao, L., Anderson, N. L., Fisher, S. J., Liebler, D. C., Paulovich, A. G., Regnier, F. E., Tempst, P., Carr, S. A. (2009). Multi-site assessment of the precision and reproducibility of multiple reaction monitoring-based measurements of proteins in plasma. *Nature biotechnology*, 27(7), 633-641.
- Aebersold, R., Agar, J. N., Amster, I. J., Baker, M. S., Bertozzi, C. R., Boja, E. S., Costello, C. E., Cravatt, B. F., Fenselau, C., Hergenrother, P. J., Ge, Y., Gunawardena, J., Hendrickson, R. C., Hergenrother, P. J., Huber, C. G., Ivanov, A. R., Jensen, O. N., Jewett, M. C., Kelleher, N. L., Kiessling, L. L., Krogan, N. J., Larsen, M. R., Loo, J. A., Loo, R. R. O., Lundberg, E., MacCoss, M. J., Mallick, P., Mootha, V. K., Mrksich, M., Muir, T. W., Patrie, S. M., Pesavento, J. J., Pitteri, S. J., Rodriguez, H., Saghatelian, A., Sandoval, W., Schlüter, H., Sechi, S., Slavoff, S. A., Smith, L. M., Snyder, M. P., Thomas, P. M., Uhlén, M., Eyk, J. E. V., Vidal, M., Walt, D. R., White,

- F. M., Williams, E. R., Wohlschlager, T., Wysocki, V. H., Yates, N. A., Young, N. L., Zhang, B. (2018). How many human proteoforms are there?. *Nature chemical biology*, 14(3), 206-214.
- Angel, T. E., Aryal, U. K., Hengel, S. M., Baker, E. S., Kelly, R. T., Robinson, E. W., Smith, R. D. (2012). Mass spectrometry-based proteomics: existing capabilities and future directions. *Chemical Society Reviews*, 41(10), 3912-3928.
- Aryal, U. K., Ross, A. R. (2010). Enrichment and analysis of phosphopeptides under different experimental conditions using titanium dioxide affinity chromatography and mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry*, 24(2), 219-231.
- Bantscheff, M, Schirle M, Sweetman G, Rick J, Kuster B. (2007). Quantitative mass spectrometry in proteomics: a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 1017-1031.
- Boesl, U. (2017). Time-of-flight mass spectrometry: introduction to the basics. *Mass spectrometry reviews*, 36(1), 86-109.
- Bond, M. R., Kohler, J. J. (2007). Chemical methods for glycoprotein discovery. *Current opinion in chemical biology*, 11(1), 52-58.
- Chernushevich, I. V., Loboda, A. V., Thomson, B. A. (2001). An introduction to quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of mass spectrometry*, 36(8), 849-865.
- Choe, L., D'Ascenzo, M., Relkin, N. R., Pappin, D., Ross, P., Williamson, B., Guertin, S., Pribil, P., Lee, K. H. (2007). 8-plex quantitation of changes in cerebrospinal fluid protein expression in subjects undergoing intravenous immunoglobulin treatment for Alzheimer's disease. *Proteomics*, 7(20), 3651-3660.
- Choudhary, C., Mann, M. (2010). Decoding signalling networks by mass spectrometry-based proteomics. *Nature reviews Molecular cell biology*, 11(6), 427-439.
- Cohen, P. (2002). The origins of protein phosphorylation. *Nature cell biology*, 4(5), E127-E130.
- Cooks RG (2010) Foreword: desorption ionization and spray ionization: connections and progress. In: Cole RB (ed) *Electrospray and MALDI mass spectrometry: fundamentals, instrumentation, practicalities, and biological applications*. Wiley, Hoboken
- Dayon, L., Hainard, A., Licker, V., Turck, N., Kuhn, K., Hochstrasser, D. F., Burkhard, P. R., Sanchez, J. C. (2008). Relative quantification of proteins in human cerebrospinal fluids by MS/MS using 6-plex isobaric tags. *Analytical chemistry*, 80(8), 2921-2931.
- De Hoffmann, E., Stroobant, V. (2007). *Mass spectrometry: principles and applications*. John Wiley & Sons.

- Domon, B., Aebersold, R. (2006). Mass spectrometry and protein analysis. *Science*, 312(5771), 212-217.
- Duncan, M. W., Aebersold, R., Caprioli, R. M. (2010). The pros and cons of peptide-centric proteomics. *Nature biotechnology*, 28(7), 659-664.
- El-Aneed, A., Cohen, A., Banoub, J. (2009). Mass spectrometry, review of the basics: electrospray, MALDI, and commonly used mass analyzers. *Applied spectroscopy reviews*, 44(3), 210-230.
- Elliott, M. H., Smith, D. S., Parker, C. E., Borchers, C. (2009). Current trends in quantitative proteomics. *Journal of Mass Spectrometry*, 44(12), 1637-1660.
- Farahi, F. (2023). Soft Ionization: Improving Indoor Air Quality. *IEEE Transactions on Industry Applications*, 59(5), 5580- 5586
- Giorgi, G. (2014). Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry: An Overview. *Detection of Chemical, Biological, Radiological and Nuclear Agents for the Prevention of Terrorism: Mass Spectrometry and Allied Topics*, 17-31.
- Xu, H., Zhang, L., & Freitas, M. A. (2008). Identification and characterization of disulfide bonds in proteins and peptides from tandem MS data by use of the MassMatrix MS/MS search engine. *Journal of proteome research*, 7(01), 138-144.
- Guerrera, I. C., Kleiner, O. (2005). Application of mass spectrometry in proteomics. *Bioscience reports*, 25(1-2), 71-93.
- Gygi, S. P., Rist, B., Gerber, S. A., Turecek, F., Gelb, M. H., Aebersold, R. (1999). Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags. *Nature biotechnology*, 17(10), 994-999.
- Haag, A. M. (2016). Mass analyzers and mass spectrometers. *Modern proteomics—sample preparation, analysis and practical applications*, 157-169.
- Han, X., Aslanian, A., Yates III, J. R. (2008). Mass spectrometry for proteomics. *Current opinion in chemical biology*, 12(5), 483-490.
- Hayes R. N., Gross, M. L. (1990). Collision-induced dissociation. *Method Enzymol*, 193:237-263
- Holman, S. W., Sims, P. F., Eyers, C. E. (2012). The use of selected reaction monitoring in quantitative proteomics. *Bioanalysis*, 4(14), 1763-1786.
- Ideker, T., Galitski, T., Hood, L. (2001). A new approach to decoding life: systems biology. *Annual review of genomics and human genetics*. 2(1), 343-372.
- Jensen, L. J., Kuhn, M., Stark, M., Chaffron, S., Creevey, C., Muller, J., Doerks, T., Julien, P., Roth, A., Simonovic, M., Bork, P., von Mering, C. (2009). STRING 8—a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms. *Nucleic acids research*, 37(1), 412-416.
- Jovcevski, B., Pukala, T. L. (2019). Mass spectrometry and its applications. *Biomolecular and Bioanalytical Techniques: Theory, Methodology and Applications*, 219-253.

- Kamoda, S., Kakehi, K. (2008). Evaluation of glycosylation for quality assurance of antibody pharmaceuticals by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 29(17), 3595-3604.
- Leymarie, N., Zaia, J. (2012). Effective use of mass spectrometry for glycan and glycopeptide structural analysis. *Analytical chemistry*, 84(7), 3040-3048.
- Li, C., Chu, S., Tan, S., Yin, X., Jiang, Y., Dai, X., Gong, X., Fang, X., Tian, D. (2021). Towards higher sensitivity of mass spectrometry: A perspective from the mass analyzers. *Frontiers in chemistry*, 9, 813359.
- Lo, A., Schug, K. A. (2009). A Birds-Eye View of Modern Proteomics. *Separation & Purification Reviews*, 38(2), 148-172.
- Makarov, A., Denisov, E., Lange, O., Horning, S. (2006). Dynamic range of mass accuracy in LTQ Orbitrap hybrid mass spectrometer. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 17, 977-982.
- Marino, K., Bones, J., Kattla, J. J., Rudd, P. M. (2010). A systematic approach to protein glycosylation analysis: a path through the maze. *Nature chemical biology*, 6(10), 713-723.
- Marshall, A. G., Hendrickson, C. L., Jackson, G. S. (1998). Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: a primer. *Mass spectrometry reviews*, 17(1), 1-35.
- Mcauley, A., Jacob, J., Kolvenbach, C. G., Westland, K., Lee, H. J., Brych, S. R., Rehder, D., Kleemann, G. R., Brems, D. N., Matsumura, M. (2008). Contributions of a disulfide bond to the structure, stability, and dimerization of human IgG1 antibody CH3 domain. *Protein Science*, 17(1), 95-106.
- McDonald, W. H., Yates III, J. R. (2003). Shotgun proteomics: integrating technologies to answer biological questions. *Current opinion in molecular therapeutics*, 5(3), 302-309.
- McLafferty, F. W., Breuker, K., Jin, M., Han, X., Infusini, G., Jiang, H., Kong, X., Begley, T. P. (2007). Top-down MS, a powerful complement to the high capabilities of proteolysis proteomics. *The FEBS journal*, 274(24), 6256-6268.
- Mechref, Y., Madera, M., Novotny, M. V. (2008). Glycoprotein enrichment through lectin affinity techniques. *2D page: sample preparation and fractionation*, 373-396.
- Medzihradzky, K. F., Campbell, J. M., Baldwin, M. A., Falick, A. M., Juhasz, P., Vestal, M. L., Burlingame, A. L. (2000). The characteristics of peptide collisioninduced dissociation using a high-performance MALDI-TOF/TOF tandem mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, 72: 552-558
- Medzihradzky, K. F., Chalkley, R. J. (2015). Lessons in de novo peptide sequencing by tandem mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 34: 43-63.
- Morelle, W., Michalski, J. C. (2007). Analysis of protein glycosylation by mass spectrometry. *Nature protocols*, 2(7), 1585-1602.

- Morris, H. R., Paxton, T., Dell, A., Langhorne, J., Berg, M., Bordoli, R. S., Hoyes, J., Bateman, R. H. (1996) High sensitivity collisionally-activated decomposition tandem mass spectrometry on a novel quadrupole/orthogonal-acceleration time-of-flight mass spectrometer. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 10:889–896
- Muth, T., Keller, D., Puetz, S. M., Martens, L., Sickmann, A., Boehm, A. M. (2010). jTraQX: a free, platform independent tool for isobaric tag quantitation at the protein level. *Proteomics*, 10(6), 1223-1225.
- Nielsen, M. L., Vermeulen, M., Bonaldi, T., Cox, J., Moroder, L., Mann, M. (2008). Iodoacetamide-induced artifact mimics ubiquitination in mass spectrometry. *Nature methods*, 5(6), 459-460.
- Nolting, D., Malek, R., Makarov, A. (2019). Ion traps in modern mass spectrometry. *Mass spectrometry reviews*, 38(2), 150-168.
- Ong, S. E., Mann, M. (2005). Mass spectrometry-based proteomics turns quantitative. *Nature chemical biology*, 1(5), 252-262.
- Ong, S. E., Blagoev, B., Kratchmarova, I., Kristensen, D. B., Steen, H., Pandey, A., Mann, M. (2002). Stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC, as a simple and accurate approach to expression proteomics. *Molecular & cellular proteomics*, 1(5), 376-386.
- Pan, S., Chen, R., Aebersold, R., Brentnall, T. A. (2011). Mass spectrometry based glycoproteomics—from a proteomics perspective. *Molecular & cellular proteomics*, 10(1).
- Perry, R. H., Cooks, R. G., Noll, R. J. (2008). Orbitrap mass spectrometry: instrumentation, ion motion and applications. *Mass spectrometry reviews*, 27(6), 661-699.
- Pierce, A., Unwin, R. D., Evans, C. A., Griffiths, S., Carney, L., Zhang, L., Jaworska, E., Lee, C. F., Blinco, D., Okoniewski, M. J., Miller, C. J., Bitton, D. A., Spooner, E., Whetton, A. D. (2008). Eight-channel iTRAQ enables comparison of the activity of six leukemogenic tyrosine kinases. *Molecular & Cellular Proteomics*, 7(5), 853-863.
- Pól, J., Strohalm, M., Havlíček, V., Volný, M. (2010). Molecular mass spectrometry imaging in biomedical and life science research. *Histochemistry and cell biology*, 134, 423-443.
- Read, E. K., Park, J. T., Brorson, K. A. (2011). Industry and regulatory experience of the glycosylation of monoclonal antibodies. *Biotechnology and applied biochemistry*, 58(4), 213-219.
- Ross, P. L., Huang, Y. N., Marchese, J. N., Williamson, B., Parker, K., Hattan, S., Khainovski, N., Pillai, S., Dey, S., Daniels, S., Purkayastha, S., Juhasz, P., Martin, S., Bartlett-Jones, M., He, F., Jacobson, A., Pappin, D. J. (2004). Multiplexed protein quantitation in *Saccharomyces cerevisiae* using amine-reactive isobaric tagging reagents. *Molecular & cellular proteomics*, 3(12), 1154-1169.

- Simon, G. M., Cravatt, B. F. (2008). Challenges for the 'chemical-systems' biologist. *Nature chemical biology*, 4(11), 639-642.
- Sokolowska, I., Gawinowicz, M. A., Wetie, A. G. N., Darie, C. C. (2012)a. Disulfide proteomics for identification of extracellular or secreted proteins. *Electrophoresis*, 33(16), 2527-2536.
- Sokolowska, I., Ngounou Wetie, A. G., Woods, A. G., & Darie, C. C. (2012)b. Automatic determination of disulfide bridges in proteins. *Journal of Laboratory Automation*, 17(6), 408-416.
- Sokolowska, I., Wetie, A. G. N., Woods, A. G., Darie, C. C. (2013). Applications of mass spectrometry in proteomics. *Australian Journal of Chemistry*, 66(7), 721-733.
- Somogyi, Á. (2008). Mass spectrometry instrumentation and techniques. In *Medical applications of mass spectrometry* (pp. 93-140). Elsevier.
- Spiro, R. G. (2002). Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds. *Glycobiology*, 12(4), 43-56.
- Thomas, S. N. (2019). Chapter 10-Mass spectrometry. *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*, 171-185.
- Thompson, A., Schäfer, J., Kuhn, K., Kienle, S., Schwarz, J., Schmidt, G., Neumann, T., Johnstone, R., Mohammed, A. K. A., Hamon, C. (2003). Tandem mass tags: a novel quantification strategy for comparative analysis of complex protein mixtures by MS/MS. *Analytical Chemistry*, 75, 1895-1904.
- Urban, P. L. (2016). Quantitative mass spectrometry: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 374(2079), 20150382.
- Vestal, M. L., Campbell, J. M. (2005). Tandem time-of-flight mass spectrometry. *Methods in Enzymology*, 402:79-108
- Wolf-Yadlin, A., Hautaniemi, S., Lauffenburger, D. A., White, F. M. (2007). Multiple reaction monitoring for robust quantitative proteomic analysis of cellular signaling networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(14), 5860-5865.
- Wu, A. H., Gerona, R., Armenian, P., French, D., Petrie, M., Lynch, K. L. (2012). Role of liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry (LC-KHR/MS) in clinical toxicology. *Clinical Toxicology*, 50(8), 733-742.
- Wu, S., Lourette, N. M., Tolic, N., Zhao, R., Robinson, E. W., Tolmachev, A. V., Smith, R. D., Paša-Tolić, L. (2009). An integrated top-down and bottom-up strategy for broadly characterizing protein isoforms and modifications. *Journal of proteome research*, 8(3), 1347-1357.
- Wuhrer, M., Catalina, M. I., Deelder, A. M., Hokke, C. H. (2007) Glycoproteomics based on tandem mass spectrometry of glycopeptides. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 849:115-128

- Xie, F., Liu, T., Qian, W. J., Petyuk, V. A., Smith, R. D. (2011). Liquid chromatography-mass spectrometry-based quantitative proteomics. *Journal of Biological Chemistry*, 286(29), 25443-25449.
- Yang, M., Li, J., Zhao, C., Xiao, H., Fang, X., Zheng, J. (2023). LC-Q-TOF-MS/MS detection of food flavonoids: Principle, methodology, and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(19), 3750-3770.
- Yang, Z., Ren, Z., Cheng, Y., Sun, W., Xi, Z., Jia, W., Gang, L., Yongjun, W., Meiru, G., Li, D. (2022). Review and prospect on portable mass spectrometer for recent applications. *Vacuum*, 199, 110889.
- Vaughn, C. P., Crockett, D. K., Lim, M. S., & Elenitoba-Johnson, K. S. (2006). Analytical characteristics of cleavable isotope-coded affinity tag-LC-tandem mass spectrometry for quantitative proteomic studies. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 8(4), 513-520.
- Yost, R. A., Enke, C. G. (1978). Selected ion fragmentation with a tandem quadrupole mass spectrometer. *Journal of the American Chemical Society*, 100(7):2274–2275 39.
- Yost, R. A., Enke, C. G. (1979). Triple quadrupole mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 51(12):1251-1264

BÖLÜM 32

**BİYOÇEŞİTLİLİK PERSPEKTİFİNDEN
KIZILKOLTUK VE KARAKÜR
(ŞAPHANE -KÜTAHYA)
KÖYLERİ VE ÇEVRESİNİN
DAMARLI BİTKİLER
FLORASI VE ALANDAKİ
BİTKİ FORMASYONLARINA
GENEL BİR BAKIŞ**

Onur KOYUNCU¹

¹ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Uygulama Laboratuvarı Uygulama
ve Araştırma Merkezi (ARUM), Eskişehir, Türkiye

*Corresponding Author

ORCID 0000-0002-0364-6638

Giriş

Günümüzde hem yaşam standartlarının hem de doğanın korunması birlikte sürdürülmesi zorunlu iki konu haline gelmiştir. Birbirine zıt bu iki konu teknoloji, endüstri, sanayi, enerji, vb süreçlerin gerçekleştirilmesiyle beraber iklimin ve doğanın korunarak devamlılığının sağlanması dünyanın en önemli gündemleri arasındadır. Doğaya zarar vermeden, mümkün olan en az tahribatla yerine daha fazlasıyla yenisini oluşturarak veya koruma tedbirleri alarak dünyanın hızla değişen gelişmelerine ayak uydurmak artık gelişmiş ülkelerin bir mecburiyeti durumuna gelmiştir. Değişim hayatın her alanında olduğu gibi doğada da her zaman ve her koşulda var olan açık bir gerçektir. Bir bütün olarak dünya ekosistemindeki değişimlerin bir sonucu olarak yeryüzündeki biyolojik çeşitlilik de değişmekte, dönüşmekte ve farklılaşmaktadır [1]. Çeşitlilik her ekosistemin en dinamik özellikleri arasındadır. Ekosistemlerin değişim dinamiği, içinde bulunduğu sisteme direnç gösterme, süreklilik arz etmekte, güç ve canlılık kazandırmaktadır. Biyolojik çeşitlilik, tüm canlı türlerinin farklılığını ve dinamizmini, içinde buldukları, bir parçası oldukları karmaşık ekolojik yapılar ve süreçler ile birbirleriyle ve çevreleriyle karşılıklı etkileşimlerini ve fonksiyonlarını ifade eden kapsayıcı, bütüncül bir kavramdır. Başka bir ifade ile biyolojik çeşitlilik; habitatların ve ekosistemlerin çeşitli canlı ve cansız faktörler bakımından gösterdiği tüm özellikleri kapsar. Diğer bir deyişle biyolojik çeşitlilik; tür çeşitliliği, genetik çeşitlilik, ekosistem çeşitliliği ve ekolojik işlevlerin (süreçlerin) çeşitliliği olmak üzere esasen dört önemli başlıktan meydana gelir. Bir türün sahip olduğu genlerin toplamı türün ekosistem içerisindeki topyekün kabiliyetlerini, katkısını ve fonksiyonlarını oluşturan esas faktördür. Bu nedenle genetik çeşitlilik kavramı populasyon içindeki genetik farklılıklar ile ifade edilmektedir. Öz olarak genetik çeşitlilik ifadesi, ekosistemdeki bir bireyin sahip olduğu genetik bilgilerin toplamı şeklinde de ifade edilebilir. Belli bir bölgedeki türlerin listesi ise tür çeşitliliği olarak bilinir. Bir bölgedeki tür çeşitliliği kavramı, genellikle sınırları belli olan coğrafi bir alan içindeki (örneğin bir şehir, bir köy gibi) türlerin adlarının alt alta yazılmasıyla oluşan bir liste olarak düşünülebilir [2]. Örneğin sınırları belli bir bölgedeki bitkilerin alt alta yazılmış listesine o bölgenin florası denir. Bir bölgede doğal olarak yaşayan türlerin sayısı (söz konusu bölgenin tür zenginliği) o bölgenin biyoçeşitliliğini ifade etmekte en sık kullanılan ifadelerden biridir. Genel olarak türlerin çevreleriyle olan ilişkiler bütünü de ekosistem çeşitliliğini meydana getirir. Başka bir deyişle, türlerin diğer canlılar ve çevreleri ile olan ilişkiler toplamına ekosistem çeşitliliği denir. Bir ekosistem canlı (biyotik) ve cansız (abiyotik) elemanlardan meydana gelir. Abiyotik elemanlar; iklim, toprak, su,

gibi kavramlardan, canlı elemanlar ise aynı ve farklı türe ait diğer canlılardan oluşur. Her ekosistem sahip olduğu abiyotik ve biyotik özellikleri bakımından kendine has özellikler taşır ve bu spesifik özellikleri bakımından diğer ekosistemlerden ayrılır. Tüm bu nedenlerden dolayı; biyolojik çeşitlilik kavramı dört unsuru bakımından da kendine özgü özellik ve nitelik taşır, bu nitelikler de ekositemin kıymetini meydana getirir [3]. Doğal ekosistemler tüm dünyanın ortak malı olduğundan hem ulusal hem de uluslararası kanun, yönetmelik ve organizasyonlarla koruma altındadır ve sürdürülebilirliğinin sağlanması bakımından güvence ve teminat altına alınmıştır.

Bu nedenlerle günümüzde biyoçeşitliliğin korunması, sürdürülebilirliğinin sağlanması ile birlikte modern yaşamın gereklilikleri birarda ele alınmalı her iki yönden de gereğinin yapılması zorunludur [1].

Bu çalışmada da biyoçeşitlilik ve sürdürülebilir çevre perspektifinden araştırma alanındaki damarlı bitki florası ve genel vejetasyon yapısı belirlenmeye çalışılarak, hem bir durum tespiti yapılmış hem de ileride bölgede ve çevresinde gerçekleştirilecek olası tüm bilimsel ve antropolojik faaliyetler için veri hazırlanması hedeflenmiştir. Böylece alanın flora bakımından biyoçeşitliliği ortaya konmaya çalışılarak, bitkilerin tanınması, korunması, onlardan daha iyi yararlanılması vb konularda bir farkındalık oluşturulmaya çalışılmıştır.

Bitki biyoçeşitliliği de biyoçeşitlilik kavramının en önemli elemanları arasındadır. Şöyleki; bitkiler ekosistem içerisinde besin zincirinin tabanında bulunan üretici canlılar olup diğer canlıların yaşamlarını devam ettirebilmeleri bakımından neredeyse olmazsa olmaz durumundadır. Ayrıca bitkilerin ekosistem içerisindeki diğer fonksiyonları, tür çeşitliliği ve hacimce büyüklükleri hesaba katılacak olursa kıymeti ve fonksiyonları daha da iyi anlaşılacaktır [2].

Genelde flora kavramıyla kastedilen genel olarak damarlı ve tohumlu bitkilerdir. Ancak tohumuz bitkiler, liken, alg, mantar ve bazen bakteri çeşitliliği için de flora kavramı kullanılmaktadır. Ülkemizdeki tohumlu bitkiler florası yaklaşık 12.000 damarlı bitki türünden meydana gelmektedir. Tüm Avrupa kıtasında da yaklaşık aynı miktarda bir bitki çeşitliliğinin var olduğu düşünülecek olursa Türkiye'nin bu bakımdan ne kadar zengin ve kıymetli olduğu anlaşılabilir. Bu zenginliğin birçok nedeni vardır. Anadolunun 3 farklı fitocoğrafik bölgenin kesişim noktasında olması, 0 dan 5000 metreye kadar değişkenlik gösterebilen yükseltilere sahip bir topoğrafyaya sahip olması, jeolojik devirler boyunca buzlar altında kalmaması ve Avrupadaki bitkilerin Anadoluya kaçıp sığınarak yaşam şansı bulmaları, çok sayıda mikroklima alanına sahip olması, birçok cinsin gen

merkezi olması, zengin ve çeşitlilik gösteren bir toprak yapısına sahip olması vb. nedenler sayılabilir [4,5].

Bu zenginlik doğal olarak bu konuda çalışan bilim insanlarına ilave sorumluluklar yüklemektedir. Ülkemizin sahip olduğu bitki çeşitliliğinin incelenmesi, tanıtılması, korunması ve bu zenginlikten daha çok nasıl yararlanılacağına araştırılması gibi birçok farklı yönüyle çalışmaların gerçekleştirilmesi önem arz etmektedir.

Bugün hem endüstrileşmenin devam ettirilmesi hem de biyoçeşitliliğin korunması birlikte yürütülmesi gereken bir durum olduğuna göre bu perspektifte biyolojik çeşitlilik kavramı, ekonomik, sosyal, psikolojik, kültürel, doğal yaşamın sürdürülebilirliği bakımından çok önemli bir değer olarak karşımızda durmaktadır. Bu nedenle biyoçeşitliliğin önemli bir parçası olan bitki biyoçeşitliliği (flora) çalışmaları her coğrafyada birebir yapılmalı, periyodik aralıklarla izlenmeli, olası değişiklikler değerlendirilmeli, olumsuzluklar bakımından önlemler ve diğer gereklilikler yerine getirilmelidir. Yani doğal ekosistemlerin sürdürülebilirliği için; lokal flora çalışmaları gerçekleştirilmeli topyekün ekosistem ölçeğinde değerlendirilmeye çalışılmalı, hem doğa koruma faaliyetleri hem de dünyanın güncel konjoktürüne uyumlu süreçlerinin yürütülmesi çalışmaları gerçekleştirilmelidir[1-3].

Bu çalışmada 2023 yılında yapılan arazi çalışmaları ile Kütahya ili Şaphane ilçesi, Kızılkoltuk ve Karakür Köyleri çevresinde damarlı bitki çeşitliliğinin ve genel olarak bitki formasyonlarının belirlenmesine çalışılmıştır. Böylece başta araştırma alanı olmak üzere, ülkemizin bitki biyoçeşitliliğinin belirlenmesine ve konuyla ilişkili olan benzer tüm çalışmalara ve faaliyetlere veri oluşturulmuştur.

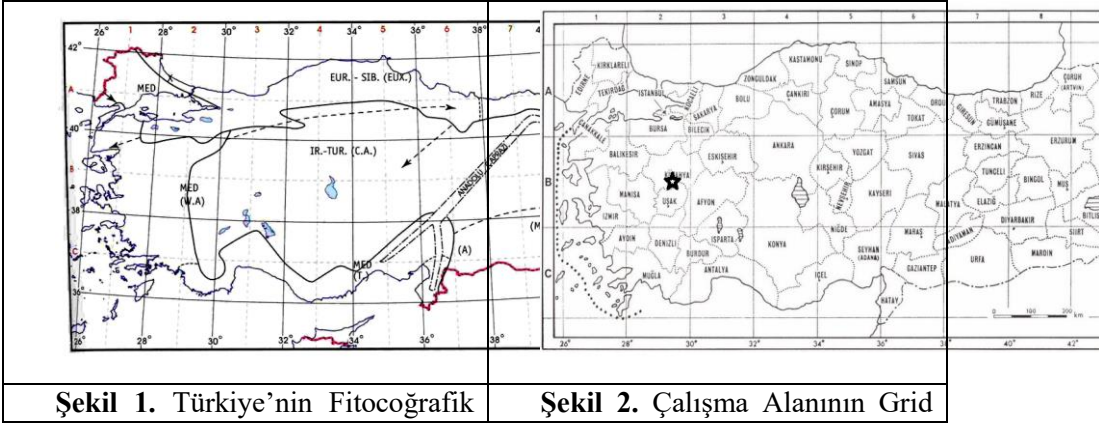
Materyal ve Yöntem

Çalışma sahasında ve yakın çevresinde önceki yıllarda yapılan floristik çalışmalar başta olmak üzere ilgili floristik literatürlerin taramaları gerçekleştirilmiştir. 2022 yılında araştırma sahasında ve çevresinde vejetasyon dönemlerinde arazi çalışmaları gerçekleştirilerek araştırma sahasının ve çevresinin tohumlu bitki florası belirlenmeye çalışılmıştır. Bitki örnekleri toplanmış, lokalite bilgileri kaydedilmiş ve habitatların ve bitkilerin fotoğrafları çekilmiştir. Ulusal ve uluslararası ilgili yöntemler ve literatürler kullanılarak bitki teşhisleri yapılmış, değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar bazı yönleriyle ortaya konularak tartışılmıştır.

Bulgular

Araştırma Alanındaki Ekolojik Yapı ve Fitocoğrafik Bölge

Dünya ekosistemindeki bitki örtüsü floristik elemanların özelliklerine bakılarak büyük flora alemlerine ayrılır. Bu flora alemlerinde yine flora elemalarının özelliklerine ve coğrafik durumlarına göre farklı floristik bölgelere ayrılır. Anadolu yarım adası (Küçük Asya) Holoarktik Flora Alemi içinde, yeryüzü şekilleri ve iklim bileşenleri bakımından farklılıklar gösteren 3 farklı floristik bölgenin varlığı ile bilinir. Akdeniz, İran-Turan ve Avrupa-Sibirya Fitocoğrafik Bölgeleri Anadolu'da etkisi görülen üç fitocoğrafik bölgedir. Araştırmaya konu olan alan, Kütahya ili Şaphane ilçesi, Kızılkoltuk ve Karakür Köyleri Çevresi, Davis'in kareleme sistemine göre B2 karesi içinde yer almakta olup esasen Akdeniz Fitocoğrafik bölgesi ile İran-Turan Fitocoğrafik bölgesi sınırında yer almaktadır [4]. Bu nedenle daha çok bu iki fitocoğrafik bölgeninde karakteristik elemanlarını içeren heterojen bir floristik kompozisyona sahip olduğu görülmektedir (Şekil 1, 2).



Çalışma alanı 1000 metre ile 1100 metre arasında değişen yüksekliğe sahiptir. Yapılan literatür taramalarına göre çalışma alanı çevresinde herhangi bir tür ve habitat koruma çalışması veya herhangi bir korunan ve özellikli alan olmadığı anlaşılmaktadır.

Genel olarak bir türün doğal olarak yaşadığı yerlere o türün doğal yayılış alanı denir. Doğal olarak yayılış alanları çevresel etkilerin bitkiye yaşam olanağı tanınmasıyla doğrudan ilişkilidir. Bu durumda türlerin yayılış alanlarını esasen coğrafik özelliklerin belirlediği söylenebilir. Yeryüzünde de flora alemlerinin oluşmasında öncelikli faktörler, iklim bileşenlerinden sıcaklık ve yağış olarak kabul edilir. Her flora bölgesinde olduğu gibi Akdeniz, Avrupa-Sibirya ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinin de floristik karakteri ve vejetasyon tipi kendilerine

özgü bir yapı göstermektedir. Doğal olarak özellikle geçiş zonlarında tüm karakteristik floristik özellikler birbirlerine geçiş özelliği göstermektedir [4].

Araştırma alanı Akdeniz ile İran-Turan Fitocoğrafik bölgelerinin geçiş bölümünde yer almaktadır. Kütahya ili esasen İran-Turan bitki coğrafyası sınırları içerisinde kalmasına rağmen Akdeniz Fitocoğrafik Bölgesine karakteristik bitki taksonlarının varlığı ile de bilinir. Fakat araştırma sahası baskın tek tip vejetasyon yapısı ve toprak özellikleri nedeni ile bu durumdan yeterince etkilenmemiştir. Araştırma sahası ve yakın çevresinde daha ziyade yüksek ekolojik toleransa sahip geniş yayılışlı bitki taksonlarıyla IUCN kriterlerine göre LC kategorisinde yer alan düşük riskli endemik taksonların varlığı da görülmektedir [6-8]. Gerçekleştirilen arazi çalışmalarında bölgenin hâkim vejetasyon tipinin step (çayır) ve meşe ağaçlardan oluşan bozuk orman vejetasyonu olduğu görülmektedir. Bununla birlikte alan içinde su birikintileri, gölcükler, sulu dereler ve derecikler görülmektedir.

Araştırma Alanı ve Çevresindeki Bitki Formasyonları

Yapılan arazi çalışmaları sonucunda araştırma alanı ve çevresinde saplı meşelerden (*Quercus robur*) oluşan orman, step ve sucul elemanlardan oluşan vejetasyonların hep birlikte var olduğu görülmektedir.

Buna göre araştırma alanı ve yakın çevresinde;

- 1- Orman Vejetasyonu
- 2- Step Vejetasyonu
- 3- Dere Vejetasyonu (Riparian) olmak üzere 3 farklı vejetasyonun varlığından söz edilebilir, (Şekil 3-24).

Orman Vejetasyonu

Bölgede orman vejetasyonu sıklıkla bölgenin edafik ve iklimsel şartlarına uyum sağlamış *Quercus robur* (Saplı meşe) ağaçlarının meydana getirdiği geniş yapraklı bozuk-seyrek orman vejetasyonudur. Ayrıca *Pinus nigra*, *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus foetidissima*, *Cistus laurifolius*, *Ostrya alba*, *Pyrus elaeagnifolia* subsp. *elaagnifolia* ve *Phillyrea latifolia* gibi ağaç ve çalı formundaki bitki taksonlarına rastlanmaktadır.

Step Vejetasyonu

Araştırma alanı Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinin karakteristik bir özelliği olan kurak ve sıcak dönemlere uyum gösteren genel bir vejetasyon yapısı gösterir. Bu formasyondaki bitki gruplarının oluşturduğu step vejetasyonunu *Anchusa*, *Astragalus*, *Alyssum*, *Centaurea*, *Cichorium*, *Crepis*,

Crupin, Dipsacus, Filago, Hypericum, Onosma, Rosa, Salvia, Scolymus, Scabiosa Muscari Silene, Minuartia, Verbascum, Pyrus, Verbascum ve Xanthium gibi cinslere ait taksonlar içermektedir.

Dere Vejetasyonu (Riparian)

Araştırma alanı ve yakın çevresindeki nemli alanlar, su birikintileri, gölcükler ile kuru ve sulu dere yataklarında ve çevrelerinde gözlenen bu vejetasyon tipi riparian vejetasyon olarak isimlendirilmektedir. Riparian vejetasyonun elemanları hidrofit, higrofit ve mesofit türler olarak karşımıza çıkar. Araştırma alanındaki ilkbahar ve kış aylarında sulu, yaz ve sonbahar aylarında ise kuru olan dere ve dere yatakları bu tip vejetasyonun genel olarak görüldüğü yerlerdir. Bu yaşam formlarından ağaç, çalı ve ot katında bulunan taksonlardan bazıları şunlardır; *Alnus, Agrimonia, Rubus, Lycopus, Lythrum, Epilobium, Eleocharis, Echium, Carex, Chenopodium, Geum, Juncus Medicago, Ranunculus, Rumex, Mentha, Salix, Trifolium, Tripleurospermum, Phragmites, Phylleria, Plantago ve Veronica.*

Bir bölgenin tür çeşitliliğinin oluşmasında en önemli faktörlerden birisi de alanın sahip olduğu habitat çeşitliliğidir. Zira habitat çeşitliliği beraberinde tür ve ekosistem çeşitliliğini de getirmektedir. Çalışma alanında yapılan arazi çalışmalarında bölgede genel olarak meşe ağaçlarından oluşan orman formasyonları ile herdem yeşil iğne yapraklı taksonların var olduğu görülmektedir. Bu tip orman formasyonları floristik yapı açısından incelendiğinde ise alan sınırları içerisinde yer alan bitki taksonlarının yayılışlarında kısmi bir homojenlik gösterdiği fark edilmektedir. Bu durum da çalışma alanının edafik ve topografik açıdan tekdüze bir yapıya sahip olmasıyla açıklanabilir.

Araştırma Alanındaki Vejetasyon Tiplerine Örnekler.



Şekil 3. Araştırma Alanındaki Bozuk Orman Formasyonu (*Quercus robur*-Saplı mese) ve



Şekil 4. Araştırma Alanındaki *Quercus robur* (Saplı Meşe) Populasyonu.



Şekil 5. Araştırma Alanındaki Step Formasyonuna Bir Örnek.



Şekil 6. Araştırma Alanındaki Riparian Vejetasyon ile Step Vejetasyonundan Bir



Şekil 7. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian (Sukul) Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 8. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian (Sukul) Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 9. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian (Sucul) Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 10. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian (Sucul) Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 11. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian (Sucul) Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 12. Araştırma Alanındaki Step Vejetasyonundan Bir Görüntü.



Şekil 13. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian (Sucul) Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 14. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian (Sucul) Vejetasyondan Bir



Şekil 15. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 16. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 17. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 18. Araştırma Alanındaki Step Vejetasyonundan Bir Görüntü.



Şekil 19. Araştırma Alanındaki Step Vejetasyonundan Bir Görüntü.



Şekil 20. Araştırma Alanındaki Su Birikintisi ve Riparian Vejetasyondan Bir Görüntü.



Şekil 21. Araştırma Alanındaki Step Vejetasyonundan Bir Görüntü ve *Pyrus spinosa*



Şekil 22. Araştırma Alanındaki Step Vejetasyonundan Bir Görüntü.



Şekil 23. Araştırma Alanındaki Step Vejetasyonundan Bir Görüntü ve *Juniperus*



Şekil 24. Araştırma Alanındaki Step Vejetasyonu ve Su Gölçüğünden Bir Görüntü.

Araştırma Alanındaki Floristik Bulgular

Sonuçlar ve Tartışma

Araştırma alanı ve çevresiyle ilgili olarak gerçekleştirilen ayrıntılı literatür taramalarına ve yapılan arazi çalışmalarına göre araştırma bölgemiz olan Kütahya İli Şaphane İlçesi, Kızılkoltuk ve Karakür Köyleri çevresinde, 385 bitki taksonunun doğal yayılış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1). Floristik listede verilen taksonlar araştırma alanı ve çevresinde doğal yayılış göstermektedir. Bu taksonlardan 19 tanesinin endemik olduğu ve tamamının IUCN kriterlerine göre LC (en az endişe verici-geniş yayılışlı-düşük riskli) olduğu görülmüştür [6-8].

Tablo 1. Araştırma Alanı ve Çevresinde Varlığı Belirlenen ya da Literatür Bilgilerine Göre Varlığı Olası Damarlı Bitki Florası.

FAMİLYA	TÜR	TÜRKÇE ADI	FİTOCOĞRAFİK BÖLGE	IUCN
<i>Acanthaceae</i>	<i>Acanthus hirsutus</i>	Kıllı Ayıpençesi		
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>	Tilkikuyruğu		
<i>Amaryllidaceae</i>	<i>Allium scorodoprasum</i> subsp. <i>rotundum</i>	Deli Pırasa	Avrupa-Sibirya	
<i>Amaryllidaceae</i>	<i>Allium sibthorpiatum</i>	Kümesoğanı	Akdeniz	LC
<i>Apiaceae</i>	<i>Artemisia squamata</i>	Karabek		
<i>Apiaceae</i>	<i>Astrantia maxima</i>	Yıldızca		LC
<i>Apiaceae</i>	<i>Bifora radians</i>	Gısbana		
<i>Apiaceae</i>	<i>Bupleurum rotundifolium</i>	Suluk Şeytanayağı		
<i>Apiaceae</i>	<i>Cnidium silaifolium</i> subsp. <i>orientale</i>	Galyobişotu		
<i>Apiaceae</i>	<i>Conium maculatum</i>	Baldıran		
<i>Apiaceae</i>	<i>Daucus carota</i>	Yabani Havuç		
<i>Apiaceae</i>	<i>Echinophora tournefortii</i>	Çördük	İran-Turan	
<i>Apiaceae</i>	<i>Eryngium bithyicum</i>	Çakırotu	İran-Turan	LC
<i>Apiaceae</i>	<i>Falcaria falcarioides</i>	Hasorakotu		
<i>Apiaceae</i>	<i>Ferulago sylvatica</i>	Korukışnişi	Avrupa-Sibirya	
<i>Apiaceae</i>	<i>Laser trilobum</i>	Kefe Kimyonu		
<i>Apiaceae</i>	<i>Orlaya daucoides</i>	Dilkanatan		
<i>Apiaceae</i>	<i>Scandix pecten-veneris</i>	Zühre Tarağı		
<i>Apiaceae</i>	<i>Torilis arvensis</i> subsp. <i>neglecta</i>	Şeytan Havucu		
<i>Apiaceae</i>	<i>Turgenia latifolia</i>	Karaheci		
<i>Araceae</i>	<i>Arum elongatum</i>	Yılançüçüğü		
<i>Aristolochiaceae</i>	<i>Aristolochia pallida</i>	Sarıcaotu		
<i>Asparagaceae</i>	<i>Hyacinthella lineata</i>	Dağsümbülü	Akdeniz	LC
<i>Asparagaceae</i>	<i>Muscari neglectum</i>	Arapüzümü	Akdeniz	
<i>Asparagaceae</i>	<i>Ornithogalum armeniacum</i>	Soryaz	Akdeniz	
<i>Asparagaceae</i>	<i>Ornithogalum nutans</i>	Tükrükotu	Akdeniz	
<i>Asparagaceae</i>	<i>Polygonatum orientale</i>	Boğumluca		

<i>Asteraceae</i>	<i>Achillea santolinoides</i>	Kardaşkınası		
<i>Asteraceae</i>	<i>Anthemis chia</i>	Gargaçiçeği	Akdeniz	
<i>Asteraceae</i>	<i>Anthemis cretica</i>	Dağpapatyası		
<i>Asteraceae</i>	<i>Bellis perennis</i>	Koyungözü	Avrupa-Sibirya	
<i>Asteraceae</i>	<i>Carduus nutans</i> subsp. <i>nutans</i>	Eşekdikeni		
<i>Asteraceae</i>	<i>Carlina oligocephala</i>	Domuzdikeni		
<i>Asteraceae</i>	<i>Carthamus lanatus</i>	Sarıdiken		
<i>Asteraceae</i>	<i>Centaurea iberica</i>	Deligözdikeni		LC
<i>Asteraceae</i>	<i>Centaurea patula</i>	Salkımdüğme	İran-Turan	
<i>Asteraceae</i>	<i>Centaurea solstitialis</i> subsp. <i>solstitialis</i>	Çakırdikeni		
<i>Asteraceae</i>	<i>Centaurea thracica</i>	Sarıbaşdikeni		
<i>Asteraceae</i>	<i>Centaurea urvillei</i>	Ala Kötürüm	Akdeniz	
<i>Asteraceae</i>	<i>Chondrilla juncea</i>	Karakavuk		
<i>Asteraceae</i>	<i>Cichorium intybus</i>	Hindiba		
<i>Asteraceae</i>	<i>Cirsium arvense</i>	Köygöçüren		
<i>Asteraceae</i>	<i>Cirsium vulgare</i>	Yaygınkangal		
<i>Asteraceae</i>	<i>Cnicus benedictus</i>	Topdiken		
<i>Asteraceae</i>	<i>Conyza canadensis</i>	Selviotu		
<i>Asteraceae</i>	<i>Cota tinctoria</i>	Boyacı Papatyası		
<i>Asteraceae</i>	<i>Crepis sancta</i>	Yaban Kısıksı		
<i>Asteraceae</i>	<i>Crupina crupinastrum</i>	Gelindöndüren		
<i>Asteraceae</i>	<i>Cyanus depressus</i>	Gökbaş		
<i>Asteraceae</i>	<i>Doronicum orientale</i>	Kaplanotu		
<i>Asteraceae</i>	<i>Echinops microcephalus</i>	Kaplanotu		
<i>Asteraceae</i>	<i>Filago arvensis</i>	Keçeoçu		
<i>Asteraceae</i>	<i>Helichrysum plicatum</i>	Mantuvar		
<i>Asteraceae</i>	<i>Inula germanica</i>	Ekinandızı	Avrupa-Sibirya	
<i>Asteraceae</i>	<i>Jurinea pontica</i>	Kavotu	İran-Turan	LC
<i>Asteraceae</i>	<i>Lactuca serriola</i>	Eşekhelvası		
<i>Asteraceae</i>	<i>Leontodon asperimus</i>	Aşyemliği	İran-Turan	
<i>Asteraceae</i>	<i>Onopordum bracteatum</i>	Sıyırma		
<i>Asteraceae</i>	<i>Picnomon acarna</i>	Kılçıkdikeni	Akdeniz	
<i>Asteraceae</i>	<i>Picris strigosa</i>	Acışiro		
<i>Asteraceae</i>	<i>Rhaponticum repens</i>	Kekredikeni	İran-Turan	
<i>Asteraceae</i>	<i>Scolymus hispanicus</i>	Şevketibostan	Akdeniz	
<i>Asteraceae</i>	<i>Scorzonera cana</i>	Tekesakalı		
<i>Asteraceae</i>	<i>Senecio vernalis</i>	Kanaryaotu		

<i>Asteraceae</i>	<i>Solidago virgaurea</i> subsp. <i>virgaurea</i>	Altınbaşakçiçeği		
<i>Asteraceae</i>	<i>Sonchus asper</i> subsp. <i>glaucescens</i>	Gevirtlek		
<i>Asteraceae</i>	<i>Taraxacum farinosum</i>	Cırtlık	İran-Turan	LC
<i>Asteraceae</i>	<i>Tragopogon buphthalmoides</i>	Tarlayemliği		
<i>Asteraceae</i>	<i>Tragopogon dubius</i>	Atyemliği		
<i>Asteraceae</i>	<i>Tripleurospermum disciforme</i>	Kel Beybunik	İran-Turan	
<i>Asteraceae</i>	<i>Tussilago farfara</i>	Öksürükotu		
<i>Asteraceae</i>	<i>Xanthium spinosum</i>	Pıtrak		
<i>Asteraceae</i>	<i>Xanthium strumarium</i>	Koca Pıtrak		
<i>Asteraceae</i>	<i>Xeranthemum annuum</i>	Ğıtçiçeği		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Alkanna orientalis</i>	Sarısormuk		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Anchusa officinalis</i>	Ballağan		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Buglossoides incrassata</i>	Toktaşkesen		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Cerinthe minor</i> subsp. <i>auriculata</i>	Livarotu		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Cynoglossum montanum</i>	Dağ Köpek dili		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Cynoglossum officinale</i>	Gözpıtrağı		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Echium italicum</i>	Kurtkuyruğu	Akdeniz	
<i>Boraginaceae</i>	<i>Heliotropium europaeum</i>	Akrepotu	İran-Turan	
<i>Boraginaceae</i>	<i>Lappula barbata</i>	Gürke	İran-Turan	
<i>Boraginaceae</i>	<i>Myosotis arvensis</i>	Kardeşboncuğu		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Myosotis sicula</i>	İnciboncuk		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Onosma isaurica</i>	Kül Emcek	İran-Turan	LC
<i>Boraginaceae</i>	<i>Onosma taurica</i>	Emzikotu		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Paracaryum lithospermifolium</i>	Bozkırçarşağı		
<i>Boraginaceae</i>	<i>Symphytum orientale</i>	Eşekkaşesotu	Avrupa-Sibirya	
<i>Brassicaceae</i>	<i>Aethionema cordatum</i>	Kalpçantası		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Alliaria petiolata</i>	Sarmısakhardalı		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Alyssum desertorum</i>	Dumanotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Alyssum minutum</i>	Gıllik Kuduzotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Alyssum murale</i>	Sekikuduzotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Alyssum sibiricum</i>	Kedidili		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Alyssum strigosum</i>	Dökükuduzotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Arabis nova</i>	Tıfil Kazteresi		

<i>Brassicaceae</i>	<i>Aubrieta libanotica</i>	Sülünobrizya		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Boreava orientalis</i>	Sarıot		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Brassica nigra</i>	Karaharda		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	Çobançantası		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Clypeola jonthlaspi</i>	Akçeotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Conringia perfoliata</i>	Koca Telkari		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Crambe tataria</i> var. <i>tataria</i>	Tatarlahanası		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Descurainia sophia</i>	Sadırotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	Türpenk		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Draba muralis</i>	Akdolama		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Eruca vesicaria</i>	Roka		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Erysimum crassipes</i>	Zarifeyotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Fibigia clypeata</i>	Sikkeotu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Iberis carnosa</i>	Mor Beğendiotu	Akdeniz	
<i>Brassicaceae</i>	<i>Isatis glauca</i>	Soğukot	İran-Turan	
<i>Brassicaceae</i>	<i>Lepidium draba</i>	Diğnik		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Matthiola longipetala</i>	Gecegündüzçiçeği		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Nasturtium officinale</i>	Suteresi		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Raphanus sativus</i>	Turp		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Rapistrum rugosum</i>	Kediturpu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Rorippa sylvestris</i>	Çakandura		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Sinapis arvensis</i>	Hardal		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Sisymbrium altissimum</i>	Ergelen Otu		
<i>Brassicaceae</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i>	Bülbülotu		
<i>Campanulaceae</i>	<i>Asyneuma linifolium</i>	Ketendeğneği		
<i>Campanulaceae</i>	<i>Campanula lyrata</i>	Memek		LC
<i>Campanulaceae</i>	<i>Legousia pentagonia</i>	Kadınaynası	Akdeniz	
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Centranthus longiflorus</i>	Mahmuzçiçeği	İran-Turan	
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Cephalaria syriaca</i>	Pelemir		
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Dipsacus laciniatus</i>	Esçitarağı		
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Knautia integrifolia</i>	Götürotu		
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Morina persica</i>	Merdiven Çiçeği	İran-Turan	
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Scabiosa columbaria</i> subsp. <i>columbaria</i>	Uyuzotu		

<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Valerianella carinata</i>	Sandalkuzugevreği		
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Valerianella coronata</i>	Taçlı Kuzugevreği		
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Valerianella pumila</i>	Bağkuzugevreği		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Agrostemma githago</i>	Buğdaykaramuğu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Arenaria serpyllifolia subsp. leptoclado</i>	Kurukumotu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Bolanthus spergulifolius</i>	Yozhavalotu		LC
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Cerastium dichotomum</i>	Çatalboynuzotu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Cerastium banaticum</i>	Hasır Boynuzotu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Dianthus giganteus</i>	Devekaranfili	Avrupa-Sibirya	
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Dianthus zonatus var. zonatus</i>	Karanfil		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Herniaria incana</i>	Kabayaran		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Holosteum umbellatum var. umbellatum</i>	Şeytanküpesi		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Minuartia anatolica</i>	Tıstıotu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Minuartia juniperina</i>	Hanımşiltesi		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Moenchia mantica</i>	Dördüzotu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Paronychia argentea</i>	Gümüştayaran		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Saponaria glutinosa</i>	Kargasabunu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Scleranthus annuus</i>	Kınavel		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Silene conoidea</i>	Şıvananotu		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Silene italica</i>	Yuğşüreği		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Silene vulgaris</i>	Ecibücü		
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Vaccaria hispanica</i>	Ekinebesi		
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Atriplex rosea</i>	Gülunluca		
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium album</i>	Aksirken		
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium botrys</i>	Kızılbaşak		
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Convolvulus arvensis</i>	Tarlasarmaşığı	İran-Turan	
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Convolvulus galaticus</i>	Boz Sarmaşık		
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Cuscuta balansae</i>	Cazısaçı		
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Cuscuta campestris</i>	Kâfırsaçı		

<i>Crassulaceae</i>	<i>Sedum album</i>	Çobankavurgası		
<i>Cupressaceae</i>	<i>Juniperus communis</i> var. <i>communis</i>	Ardıç		
<i>Cupressaceae</i>	<i>Juniperus excelsa</i>	Bozardıç		
<i>Cupressaceae</i>	<i>Juniperus oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i>	Katran Ardıcı		
<i>Cyperaceae</i>	<i>Carex caryophylla</i> var. <i>caryophylla</i>	Baharsazı		
<i>Cyperaceae</i>	<i>Carex cilicica</i>	Sarkıksaz		LC
<i>Cyperaceae</i>	<i>Carex divisa</i>	Zevzirçimeni		
<i>Cyperaceae</i>	<i>Carex panicea</i>	Darıyakotu	Avrupa-Sibirya	
<i>Cyperaceae</i>	<i>Eleocharis palustris</i>	Delisaz		
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Chrozophora tinctoria</i>	Siğilotu		
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbia anacampseros</i>	Sütlüağu		LC
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbia apios</i>	Fıçiotu		
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbia falcata</i>	Eğri Sütleğen		
<i>Fabaceae</i>	<i>Astragalus angustifolius</i>	Keçi Geveni		
<i>Fabaceae</i>	<i>Astragalus condensatus</i>	Sıkgeven	İran-Turan	LC
<i>Fabaceae</i>	<i>Astragalus oxytropifolius</i>	Martgeveni	İran-Turan	
<i>Fabaceae</i>	<i>Cicer anatolicum</i>	Nakaçe	İran-Turan	
<i>Fabaceae</i>	<i>Cytisus hirsutus</i>	Keçitirfilı		
<i>Fabaceae</i>	<i>Dorycnium hirsutum</i>	Kıllıkaplanotu		
<i>Fabaceae</i>	<i>Genista lydia</i>	Borçak	Akdeniz	
<i>Fabaceae</i>	<i>Glycyrrhiza echinata</i>	Pıtrakmeyan		
<i>Fabaceae</i>	<i>Lathyrus cicera</i>	Colban	Akdeniz	
<i>Fabaceae</i>	<i>Medicago falcata</i>	Kabayonca		
<i>Fabaceae</i>	<i>Melilotus indicus</i>	Otuzluyonca		
<i>Fabaceae</i>	<i>Onobrychis cornuta</i>	Dişlekkorunga	İran-Turan	
<i>Fabaceae</i>	<i>Ononis spinosa</i>	Kayışkıran		
<i>Fabaceae</i>	<i>Securigera varia</i>	Körigen		
<i>Fabaceae</i>	<i>Spartium junceum</i>	Katırtırnağı	Akdeniz	
<i>Fabaceae</i>	<i>Trifolium angustifolium</i>	Nefel		
<i>Fabaceae</i>	<i>Trifolium campestre</i>	Üçgül		
<i>Fabaceae</i>	<i>Trifolium pratense</i>	Çayırüçgülü		
<i>Fabaceae</i>	<i>Trifolium repens</i> var. <i>repens</i>	Aküçgül		
<i>Fabaceae</i>	<i>Trigonella monspeliaca</i>	Somçemenotu		

<i>Fabaceae</i>	<i>Vicia cracca</i> subsp. <i>cracca</i>	Kuşığı		
<i>Fabaceae</i>	<i>Vicia sativa</i>	Fiğ		
<i>Fagaceae</i>	<i>Quercus robur</i>	Saplı meşe	Akdeniz	
<i>Fagaceae</i>	<i>Quercus pubescens</i>	Tüylü Meşe		
<i>Geraniaceae</i>	<i>Erodium ciconium</i>	Kocakarığnesi		
<i>Geraniaceae</i>	<i>Geranium macrostylum</i>	Turnagagası	Akdeniz	
<i>Geraniaceae</i>	<i>Geranium rotundifolium</i>	Helilok		
<i>Hypericaceae</i>	<i>Hypericum aviculariifolium</i>	Mideotu	Akdeniz	LC
<i>Hypericaceae</i>	<i>Hypericum perforatum</i> subsp. <i>perforatum</i>	Kantaron		
<i>Illecebraceae</i>	<i>Herniaria incana</i>	Kabayaran		
<i>Iridaceae</i>	<i>Crocus cancellatus</i>	Gözenek		
<i>Iridaceae</i>	<i>Iris kerneriana</i>	Çalı süseni		LC
<i>Juncaceae</i>	<i>Juncus heldreichianus</i>	Cücekofa		
<i>Juncaceae</i>	<i>Luzula forsteri</i> subsp. <i>caspica</i>	Gevşeklüzül		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Ajuga chamaepitys</i> subsp. <i>chia</i> var. <i>chia</i>	Acıgıcı		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Ballota nigra</i> subsp. <i>anatolica</i>	Grip Otu	İran-Turan	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Clinopodium vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	Yabani Fesleğen	Avrupa-Sibirya	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Lamium garganicum</i> subsp. <i>garganicum</i>	Bolbalıçak		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Lamium orientale</i>	Güzelce	İran-Turan	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Lycopus europaeus</i>	Kurtayağı	Avrupa-Sibirya	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Marrubium vulgare</i>	Karaderme	Akdeniz	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Mentha longifolia</i> subsp. <i>typhoides</i>	Derenanesi		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Mentha pulegium</i>	Yarpuz		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Micromeria juliana</i>	Topukçayı	Akdeniz	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Nepeta nuda</i>	Morküncü		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Origanum sipyleum</i>	Mormercan	Akdeniz	LC
<i>Lamiaceae</i>	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>	Karakınık		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Phlomis pungens</i>	Silvanok		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Prunella vulgaris</i>	Gelinciklemeotu	Avrupa-Sibirya	

<i>Lamiaceae</i>	<i>Salvia candidissima</i> subsp. <i>occidentalis</i>	Akgalabor		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Salvia sclarea</i>	Paskulak		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Scutellaria albida</i> subsp. <i>albida</i>	Akkaside		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i>	Morkaraçay	Akdeniz	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Stachys byzantina</i>	Bozkarabaş		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Stachys cretica</i>	Delibaçay		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Teucrium polium</i>	Acıyavşan		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>chaubardii</i>	Dağkekiği	Akdeniz	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Thymus sipyleus</i>	Sipilkekiği		
<i>Lamiaceae</i>	<i>Vitex agnus-castus</i>	Hayıt	Avrupa-Sibirya	
<i>Lamiaceae</i>	<i>Ziziphora capitata</i>	Anuk		
<i>Liliaceae</i>	<i>Gagea villosa</i>	Sarıyıldız		
<i>Linaceae</i>	<i>Linum hirsutum</i>	Saçlıketen		
<i>Linaceae</i>	<i>Linum tenuifolium</i>	Narinketen		
<i>Lythraceae</i>	<i>Lythrum salicaria</i>	Hevhulma		
<i>Malvaceae</i>	<i>Alcea biennis</i>	Fatmaanagülü		
<i>Malvaceae</i>	<i>Malva neglecta</i>	Çobançöreği		
<i>Oleaceae</i>	<i>Phillyrea latifolia</i>	Akçakesme	Akdeniz	
<i>Onagraceae</i>	<i>Epilobium hirsutum</i>	Hasanhüseyinçiçeği		
<i>Orchidaceae</i>	<i>Cephalanthera rubra</i>	Çamçiçeği	Avrupa-Sibirya	
<i>Orchidaceae</i>	<i>Limodorum abortivum</i>	Saçuzatan		
<i>Orchidaceae</i>	<i>Dactylorhiza iberica</i>	Kırım Salebi	Akdeniz	
<i>Orchidaceae</i>	<i>Orchis purpurea</i>	Hasancık		
<i>Orchidaceae</i>	<i>Platanthera bifolia</i>	Guguksalebi		
<i>Orobanchaceae</i>	<i>Euphrasia pectinata</i>	Gözotu		
<i>Orobanchaceae</i>	<i>Odontites vulgaris</i>	Davun Otu		
<i>Orobanchaceae</i>	<i>Orobanche caryophyllacea</i>	Kokulu Süpürgeotu		
<i>Orobanchaceae</i>	<i>Orobanche nana</i>	Veremotu		
<i>Papaveraceae</i>	<i>Chelidonium majus</i>	Kırlangıç Otu	Avrupa-Sibirya	
<i>Papaveraceae</i>	<i>Fumaria officinalis</i>	Şahtere		
<i>Papaveraceae</i>	<i>Glaucium corniculatum</i> var. <i>corniculatum</i>	Çömlekçatlatan		
<i>Papaveraceae</i>	<i>Hypocoum imberbe</i>	Katır Tırnağı		
<i>Papaveraceae</i>	<i>Papaver dubium</i>	Köpekyağı		
<i>Papaveraceae</i>	<i>Papaver rhoeas</i>	Gelincik		
<i>Papaveraceae</i>	<i>Roemeria hybrida</i>	Pıtıptotu		

<i>Phyllanthaceae</i>	<i>Andrachne telephoides</i>	Kayanohutu		
<i>Pinaceae</i>	<i>Pinus nigra</i>	Karaçam		
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Digitalis ferruginea</i> subsp. <i>ferruginea</i>	Arıkovanı		
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Globularia trichosantha</i>	Köseyayılımı		
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Kickxia elatine</i>	Fukaraotu		
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Linaria corifolia</i>	Tarlanevruzotu	İran-Turan	LC
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantago lanceolata</i>	Damarlıca		
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Veronica chamaedrys</i>	Cancan		
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Veronica multifida</i>	Devesabunu		
<i>Platanaceae</i>	<i>Platanus orientalis</i>	Çınar		
<i>Plumbaginaceae</i>	<i>Acantholimon acerosum</i>	Pişikkeveni	İran-Turan	
<i>Plumbaginaceae</i>	<i>Plumbago europae</i>	Karakına		
<i>Poaceae</i>	<i>Aegilops cylindrica</i>	Kirpikliot	İran-Turan	
<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis capillaris</i>	Karahasanotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Alopecurus vaginatus</i>	Benekli tilikuyruğu		
<i>Poaceae</i>	<i>Avena sterilis</i>	Horazotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Brachypodium distachyon</i>	Tekkılcan	Akdeniz	
<i>Poaceae</i>	<i>Brachypodium sylvaticum</i>	Orman Kılcanı	Avrupa-Sibirya	
<i>Poaceae</i>	<i>Briza maxima</i>	Tavşanküpesi		
<i>Poaceae</i>	<i>Briza media</i>	Zembilotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Bromus intermedius</i>	Damiyeotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Bromus sterilis</i>	Sağırılcan		
<i>Poaceae</i>	<i>Bromus tectorum</i>	Kırbromu		
<i>Poaceae</i>	<i>Cynosurus echinatus</i>	Toptarakotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Dactylis glomerata</i> subsp. <i>glomerata</i>	Kıllı Domuzayrığı	Avrupa-Sibirya	
<i>Poaceae</i>	<i>Echinaria capitata</i>	Dikenbaşotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Eragrostis minor</i>	Boduryulaf		
<i>Poaceae</i>	<i>Festuca valesiaca</i>	Meşeyumağı		
<i>Poaceae</i>	<i>Hordeum murinum</i>	Pisipisotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	Arpa		
<i>Poaceae</i>	<i>Lolium perenne</i>	Çim		
<i>Poaceae</i>	<i>Melica ciliata</i> subsp. <i>ciliata</i>	Kirpikliinci		
<i>Poaceae</i>	<i>Melica uniflora</i>	Seyrekinciotu		

<i>Poaceae</i>	<i>Oryzopsis miliacea</i>	Yiğitpirinçotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Phalaris arundinacea</i>	Kanyaş		
<i>Poaceae</i>	<i>Phleum bertolonii</i>	Kanyaş		
<i>Poaceae</i>	<i>Phleum subulatum</i>	Telitkuyruğu		
<i>Poaceae</i>	<i>Phragmites australis</i>	Kamış		
<i>Poaceae</i>	<i>Poa alpina</i>	Yaylasalkimotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Poa annua</i>	Sulusalkimotu	Avrupa-Sibirya	
<i>Poaceae</i>	<i>Poa pratensis</i>	Çayır Salkimotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Rostraria cristata</i> var. <i>cristata</i>	Gagaotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Sclerochloa dura</i>	Mıcırotu		
<i>Poaceae</i>	<i>Setaria viridis</i>	Yeşilsıçansaçı		
<i>Poaceae</i>	<i>Triticum aestivum</i>	Buğday		
<i>Poaceae</i>	<i>Triticum baeoticum</i>	Yabanisiyez		
<i>Poaceae</i>	<i>Vulpia ciliata</i>	Kirpikliçim		
<i>Polygalaceae</i>	<i>Polygala anatolica</i>	Yılanyoncasi		
<i>Polygalaceae</i>	<i>Polygala supina</i>	Gihaye Sipirge		
<i>Polygonaceae</i>	<i>Polygonum cognatum</i>	Madımak		
<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex acetosella</i>	Kuzukulağı		
<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex conglomeratus</i>	Ekşikulak		
<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex crispus</i>	Labada		
<i>Primulaceae</i>	<i>Anagallis arvensis</i>	Farekulağı		
<i>Primulaceae</i>	<i>Androsace maxima</i>	Tavukkursağı		
<i>Primulaceae</i>	<i>Lysimachia atropurpurea</i>	Morkargaotu	Akdeniz	
<i>Primulaceae</i>	<i>Primula acaulis</i> subsp. <i>acaulis</i>	Çuhaçiçeği		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Adonis annua</i>	Kanavcırotu	Akdeniz	
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Adonis flammea</i>	Taç Çiçeği		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ceratocephala falcata</i>	Yelotu		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Consolida orientalis</i>	Mor Çiçek		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Consolida raveyi</i>	Topalmahmuz	İran-Turan	LC
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Delphinium peregrinum</i>	Telhezaren	Akdeniz	
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Nigella arvensis</i> var. <i>involuta</i>	Tarla Çörekotu		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Nigella glauca</i>	Çörekotu		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculus ficaria</i>	Sevdaçiçeği		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculus gracilis</i>	Narinyağçiçeği		
<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculus trichophyllus</i>	Suluçanak		

<i>Ranunculaceae</i>	<i>Thalictrum flavum</i>	Yalanravend		
<i>Resedaceae</i>	<i>Reseda lutea</i>	Muhabbet Çiçeği		
<i>Rhamnaceae</i>	<i>Paliurus spinachirsti</i>	Karaçalı		
<i>Rosaceae</i>	<i>Agrimonia repens</i>	Yerfıtkotu		
<i>Rosaceae</i>	<i>Alchemilla mollis</i>	Sukeltatı		
<i>Rosaceae</i>	<i>Crataegus monogyna</i> var. <i>monogyna</i>	Yemişen		
<i>Rosaceae</i>	<i>Filipendula vulgaris</i>	Çayır Melikesi		
<i>Rosaceae</i>	<i>Fragaria vesca</i>	Dağçileği		
<i>Rosaceae</i>	<i>Geum urbanum</i>	Meryemotu	Avrupa-Sibirya	
<i>Rosaceae</i>	<i>Laurocerasus officinalis</i>	Karayemiş	İran-Turan	
<i>Rosaceae</i>	<i>Mespilus germanica</i>	Muşmula		
<i>Rosaceae</i>	<i>Potentilla reptans</i>	Reşatinotu		
<i>Rosaceae</i>	<i>Prunus divaricata</i>	Yaban Eriği		
<i>Rosaceae</i>	<i>Prunus spinosa</i>	Çakal Eriği		
<i>Rosaceae</i>	<i>Pyrus elaeagnifolia</i> subsp. <i>elaeagnifolia</i>	Ahlat		
<i>Rosaceae</i>	<i>Rosa canina</i>	Kuşburnu		
<i>Rosaceae</i>	<i>Rubus canescens</i>	Çobankösteği	Avrupa-Sibirya	
<i>Rosaceae</i>	<i>Rubus sanctus</i>	Böğürtlen		
<i>Rosaceae</i>	<i>Sanguisorba verrucosa</i>	Sincanotu		
<i>Rosaceae</i>	<i>Sorbus umbellata</i>	Geyikeması		
<i>Rubiaceae</i>	<i>Asperula arvensis</i>	Tarlabelumotu		
<i>Rubiaceae</i>	<i>Asperula involucrata</i>	Akçabelumotu	Avrupa-Sibirya	
<i>Rubiaceae</i>	<i>Crucianella bithynica</i>	Çayırhaçotu	Akdeniz	
<i>Rubiaceae</i>	<i>Cruciata taurica</i>	Kırımğüzeli	İran-Turan	
<i>Rubiaceae</i>	<i>Galium aparine</i>	Çobansüzgeci		
<i>Rubiaceae</i>	<i>Galium spurium</i>	Arsızıplikçik	Akdeniz	
<i>Rubiaceae</i>	<i>Galium verum</i>	Boyalık		
<i>Rubiaceae</i>	<i>Rubia tinctorum</i>	Kökboyası	İran-Turan	
<i>Salicaceae</i>	<i>Populus alba</i>	Akkavak		
<i>Salicaceae</i>	<i>Populus nigra</i> subsp. <i>nigra</i>	Karakavak		
<i>Salicaceae</i>	<i>Salix alba</i>	Ak Söğüt		
<i>Salicaceae</i>	<i>Salix viminalis</i>	Sepetçisöğüdü	Avrupa-Sibirya	
<i>Santalaceae</i>	<i>Thesium procumbens</i>	Yer Güveleği		
<i>Santalaceae</i>	<i>Viscum album</i> subsp. <i>album</i>	Ökseotu		
<i>Saxifragaceae</i>	<i>Saxifraga sibirica</i>	Yaylataşkıranı		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Digitalis ferruginea</i> subsp. <i>ferruginea</i>	Arnkovanı	Avrupa-Sibirya	

<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Linaria genistifolia</i> subsp. <i>genistifolia</i>	Somnevruzotu		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Odontites vulgaris</i>	Davunotu		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Parantucella latifolia</i>	Üçdilotu		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Scrophularia scopolii</i>	El Köpürten		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Verbascum cheiranthifolium</i>	Bozkulak		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Verbascum lasianthum</i>	Yünlüsüğirkuyruğu	Avrupa-Sibirya	
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Verbascum splendidum</i>	Ranasığirkuyruğu	Akdeniz	LC
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Verbascum vulcanicum</i>	Sarıyılan		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Veronica anagallis-aquatica</i>	Sugedemesi		
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Veronica multifida</i>	Devesabunu	İran-Turan	
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Veronica polita</i>	Mavişot		
<i>Solanaceae</i>	<i>Datura stramonium</i>	Elköpürten		
<i>Solanaceae</i>	<i>Physalis alkekengi</i>	Güveyfeneri		
<i>Solanaceae</i>	<i>Hyoscyamus niger</i>	Banotu		
<i>Solanaceae</i>	<i>Solanum dulcamara</i>	Sofur		
<i>Tamaricaceae</i>	<i>Tamarix smyrnensis</i>	Delilgin	Akdeniz	
<i>Urticaceae</i>	<i>Parietaria judaica</i>	Duvarfesleğeni		
<i>Urticaceae</i>	<i>Urtica dioica</i>	Isırgan	Avrupa-Sibirya	
<i>Verbanaceae</i>	<i>Verbena officinalis</i> var. <i>officinalis</i>	Mineçiçeği		
<i>Violaceae</i>	<i>Viola occulta</i>	Saklı Menekşe		
<i>Violaceae</i>	<i>Viola odorata</i>	Kokulumenekşe		

Araştırma Alanındaki Floristik Yapı ve Analizi

Türkiye florasında kullanılan kareleme sistemine göre araştırma alanı B2 karesi içinde yer almaktadır. Bölgenin floristik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla ilkbahar, yaz ve sonbahar vejetasyon dönemlerine denk gelecek şekilde arazi çalışmaları gerçekleştirilerek araştırma bölgesi ve çevresinin floristik yapısı tam anlamı ile belirlenmeye çalışılmıştır. Gerçekleştirilen arazi çalışmaları sonucunda toplanan bitki örneklerinin teşhisi ve literatür taramaları neticesinde Kütahya İli Şaphane İlçesi, Kızılkoltuk ve Karakür Köyleri ve çevresinde 385 tür ve türaltı takson tespit edilmiştir. Tespit edilen bitki taksonlarının 19'u endemik olup bölgenin endemizm oranı yaklaşık % 4,93' dür.

Araştırma alanındaki bitki taksonlarının büyük taksonomik gruplara göre dağılımı ise şöyledir; 2 açık tohumlu familyasında 3 cinse ait 4 takson, 56 kapalı

tohumlu familyasında 292 cinsten 381 takson bunlardan 344'ü dikotil ve 37 si monokotildir, (Tablo 2).

Türlerin floristik bölgelere göre dağılımı ise şöyledir; 32 takson Akdeniz (% 8,31), 30 takson İran-Turan (% 7,79) ve 23 takson Avrupa Sibiriya (% 5,97)'dir. Geriye kalan 300 takson (% 77,93) ise birden fazla fitocoğrafik bölgede bulunabilen veya fitocoğrafik bölgesi belirli olmayan bitkilerdir (Tablo 3). Bu çalışmadaki floristik liste hazırlanırken sadece araştırma alanı değil, alanın çevresindeki bazı flora elemanları da listeye dahil edilmiştir.

Tablo 2. Araştırma Alanında Belirlenen Floristik Yapının Büyük Bitki Gruplarına Göre Dağılımları

	Familya	Cins	Takson
Gymnospermae	2	2	4
Angiospermae	Dicotyledonae	48	256
	Monocotyledonae	8	36
Toplam	58	294	385

Tablo 3. Belirlenen Floristik Yapının Fitocoğrafik Bölgelere Göre Dağılımı

Fitocoğrafik Bölge	Takson Sayısı	%
Akdeniz	32	8,31
İran-Turan	30	7,79
Avrupa-Sibiriya	23	5,97
Bilinmeyen	300	77,93
Toplam	385	100

Araştırma Alanında ve Çevresindeki Nadir Endemik Taksonlar ve IUCN Göre Tehlike Kategorileri.

Gerek literatür verileri gerekse de arazi çalışmalarından elde edilen verilere göre Araştırma faaliyet alanında ve çevresinde endemik ve nadir 19 damarlı bitki taksonun varlığı belirlenmiştir. Bu taksonlarda tamamı LC (Low Concern- Düşük Riskli) kategorisindedir (Tablo 4).

Tablo 4. Araştırma Alanı ve Çevresinde LC (Low Concern- Düşük Riskli) Kategorisindeki taksonlar

No	Takson	IUCN Kategorisi
1	<i>Allium sibthorpiatum</i>	LC
2	<i>Astrantia maxima</i>	LC
3	<i>Eryngium bithynicum</i>	LC
4	<i>Hyacinthella lineata</i>	LC
5	<i>Centaurea iberica</i>	LC
6	<i>Jurinea pontica</i>	LC
7	<i>Taraxacum farinosum</i>	LC
8	<i>Onosma isaurica</i>	LC
9	<i>Campanula lyrata</i>	LC
10	<i>Bolanthus spergulifolius</i>	LC
11	<i>Carex cilicica</i>	LC
12	<i>Euphorbia anacampseros</i>	LC
13	<i>Astragalus condensatus</i>	LC
14	<i>Hypericum aviculariifolium</i>	LC
15	<i>Iris kerneriana</i>	LC
16	<i>Origanum sipyleum</i>	LC
17	<i>Linaria corifolia</i>	LC
18	<i>Consolida raveyi</i>	LC
19	<i>Verbascum splendidum</i>	LC

Sadece sınırları belirli bir bölgede kısıtlı bir yayılış alanına sahip olan taksonlara endemik canlılar denir. Endemiklik durumu bir bölge, bir il, bir ülke veya bir kıta için söz konusu olabilir. Yalnızca sınırlı bir alanda yayılışa sahip olan bu endemik taksonların ortak özelliği ise habitatlarında doğrudan veya dolaylı olarak meydana gelebilecek olumsuz etkilere ve değişimlere karşı hassas ve kırılgan olmalıdır. Yani endemik canlıların olumsuz çevre etkilerinden çok daha çabuk etkilendikleri, yaşamlarını sürdürme bakımından sıkıntıya girdikleri bilinir. Bu durum da onların yaşamlarını sağlıklı bir şekilde devam ettirmelerine engel olur, eğer bu türden olumsuzluklar devam ederse türlerin nesli tehlikeye girer ve yok olma ile karşı karşıya kalırlar ya da yok olurlar [5-8].

Endemik bitki taksonlarının yok olma risklerini ortaya koymak amacıyla günümüzde “Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği, IUCN” tarafından belirlenen endemizm risk kategorileri kullanılmaktadır. Bu risk kategorileri sayesinde endemik bir bitki taksonun doğadaki varlığının ne derece tehlike altında olduğu konusunda bir fikir ortaya konabilmektedir. Endemik bir bitki taksonunun neslini devam ettirme bakımından tehdit altında kabul edilebilmesi için IUCN tarafından belirlenen kurallar çerçevesinde; Kritik (CR), Tehlikede (EN) veya Duyarlı (VU) kategorilerinden herhangi birine dahil olması gerekir (Şekil 5). Türkiye Florasında yer alan endemik taksonlara ait endemizm

Genel bir ifade ile habitat bir türün doğadaki adresi olarak tanımlanır. Diğer bir deyişle bitki taksonları ekolojik isteklerine göre belirli habitatlarda yayılış gösterirler ve bu habitatların karakteristik elemanları olarak bilinirler, yani bitkilerin nerede yaşayacağına çevre faktörleri karar verir. Alanda çok sayıda su birikintisi, gölcük ve küçük derelerin (su akıntıları) de olduğu yapılan arazi çalışmalarında tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen çalışmalarda alandaki sucul vejetasyon elemanları ise genel olarak tehdit altında olmayan geniş ekolojik tolerans aralığı olan ve kozmopolit özelliğe sahip taksonlardır. Dolayısı ile Araştırma alanı ve çevresi genel olarak bakıldığında *Quercus robur* (Saplı meşe) ve bozuk orman habitatı olarak değerlendirilebilir. Araştırma alanı gerek tür kompozisyonu gerekse de habitat çeşitliliği bakımından değerlendirildiğinde ise tek düze bir yapının varlığından söz edilebilir. Ayrıca alanının çevresinde benzer habitat tiplerinin ve flora elemanlarının geniş yayılış alanına sahip olduğu, varlık gösterdiği bilinmektedir.

Yapılan literatür taramalarına göre araştırma alanında salt bir flora çalışmasının daha önceden yapılmadığı anlaşılmaktadır [9-25]. Bu çalışma ile araştırma alanının florasına ilişkin ön bir veri elde edilmiştir. Ancak alanda daha uzun süreli ve daha detaylı floristik araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışma ile öncelikle araştırma alanının bitki çeşitliliğinin belirlenmesine, tanınmasına, korunmasına ve sürdürülebilir bir ekosistem sürecine katkı sunulmuştur. Böylece ülkemizin biyolojik çeşitliliği ilgili tüm disiplinlere veri oluşturulmuştur.

Kaynakça

- [1] Şeker S ve Hacıeminoğlu E (2021). Sürdürülebilir Kalkınma ve İklim Değişikliği, İksad Yayınları, 116 s.
- [2] Demir A. (2009). Küresel İklim Değişikliğinin Biyolojik Çeşitlilik ve Ekosistem Kaynakları Üzerine Etkisi, Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi, 1(2): 37-59.
- [3] Çiçekalan B, Özgün H ve Öztürk İ. (2022). Ekosistem Hizmetlerinin Sağladığı Doğal Sermaye, Çevre, İklim ve Sürdürülebilirlik, 24(1), 7-16.
- [4] Davis PH (1964-1988). Flora of Turkey and Aegean Islands, Vol. 1-10, Edinburgh University Press, Edinburgh, UK.
- [5] Ekim T, Koyuncu M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N (2000). Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayını, Yayın No: 18, Ankara
- [6] IUCN (2001). IUCN Red List Categories, Verison 3.1., IUCN Species Survival Commision, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- [7] <https://www.bizimbitkiler.org.tr/list.html>

- [8] Şenkul Ç ve Kaya S (2017). Türkiye Endemik Bitkilerinin Coğrafi Dağılışı, Türk Coğrafya Dergisi 69, 109-120.
- [9] Akan H (1995). Gümüş ve Yellice Dağları (Kütahya) Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- [10] Akçiçek E (2002) Demirlik ve Kulaksız Dağları (Kütahya) Florası. Ot Sistematik Botanik Dergisi, 9, 2, 19-46.
- [11] Çırpıcı A (1988) Murat Dağı (Kütahya-Uşak)'nın Florası, Doğa Türk Botanik Dergisi 13, 2, 157-222.
- [12] Emre S (2001). Dumlupınar Üniversitesi Merkez Kampüsü (Kütahya) Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 61 s.
- [13] Erdem M (2004). Cin Dağı (Kütahya)'nın Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 89 s.
- [14] Erken K, Parlak S ve Yılmaz M (2022). Endemik Taksonların Korunması ve Tür Koruma Eylem Planları, Ağaç ve Orman, 3(1), 33-46.
- [15] Erzincanlıoğlu A. (2001). Porsuk Vadisi (Kütahya) Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 94 s.
- [16] Görk G (1982). Eğrigöz Dağı (Emet) Flora ve Vejetasyonu, E.Ü. Fen fak. Doktora Tezi, 119 s. İzmir
- [17] Güler B, Kesim İ, Uğurlu E. (2013). Flora of Dervişli (Eşme, Uşak Turkey) and its surroundings, Biological Diversity and Conservation, 6/1 169-177.
- [18] Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer, K. H. C. (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Island (Supplement 2) Vol. 11. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- [19] Koçan N. (2011) Murat Dağı'nın Ekoturizm Potansiyelinin Belirlenmesi, İğdir Univ. J. Inst. Sci. & Tech. 1(3): 69-75.
- [208] Koyuncu O ve Sezer O (2019). Altıntaş (Kütahya) Turba (Torf) Ocağı ve Çevresinin Damarlı Bitkiler Florası, Uluslararası Uygulamalı Biyoloji ve Çevre Bilimleri Dergisi, 1(1): 6-21.
- [21] Madenci H. (2004) Elmalı Dağı (Kütahya) Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 80 s.
- [22] Memiş R (1999) Budabağ Dağı (Kütahya) Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 103 s.
- [23] Tel A Z (1995) Şaphane Dağı (Kütahya) Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 119 s.
- [24] Yakut E (1995). Okluk Dağı Florası, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi.
- [25] Yayıntaş A (1985). Simav Dağı Florası, Doğa Bilim Dergisi 9. 2, 388-418.

BÖLÜM 33

BİYOAKTİF PEPTİDLERDE IN SILICO ANALİZLER

*Öğr. Gör. Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ¹
Dr. Öğr. Üyesi Şeyda BERK²*

¹ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Orcid: 0000-0001-5621-2844

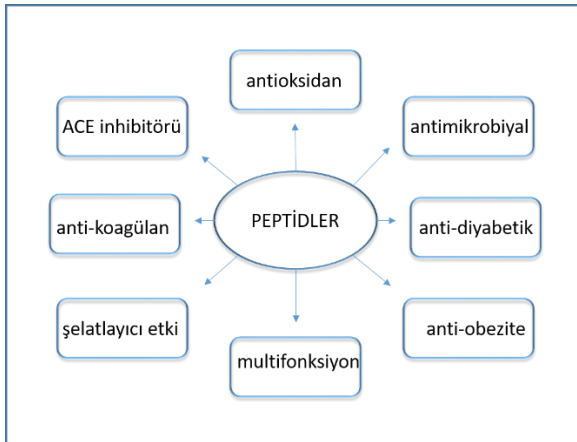
² Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Orcid: 0000-0003-4687-0223

1 GİRİŞ

Biyolojik olarak aktif peptidler (biyoaktif peptidler), peptid bağlarıyla birleştirilmiş 2-20 amino asit rezidüsü içeren ve pozitif biyolojik etkiler sergileyen protein fragmanlarıdır. Gıda proteinleri, biyoaktif peptidler için sürdürülebilir bir kaynaktır (Du, Comer, & Li, 2023; Du & Li, 2022; Jakubczyk, Karaś, Rybczyńska-Tkaczyk, Zielińska, & Zieliński, 2020). Geçtiğimiz 10 yılda, biyoaktif peptidler ile ilgili araştırma yayınları üç katına çıkmıştır ve şu anda BIOPEP-UWM veri tabanında antioksidan, antihipertansif, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve diğer biyoaktif aktiviteleri sergileyen 4400'den fazla farklı bioaktif peptid bulunmaktadır (Minkiewicz, Iwaniak, & Darewicz, 2019).

Biyolojik olarak aktif peptidler, öncü molekülde aktif olmayan ancak serbest bırakıldıktan sonra aktif olan veya aktif bölgeye taşınan doğal gıda bileşikleri veya protein parçası olabilir. Genel olarak peptidler, gastrointestinal sistemdeki proteinin enzimatik hidrolizinin bir sonucudur. Fermantasyon sürecinde mikroorganizmalar tarafından da üretilirler. Spesifik aktiviteye sahip biyoaktif peptidler elde etmek amacıyla, proteoliz için geniş etki spesifikliğine sahip proteazlar kullanılır. Bitkisel dokulardan, hayvan dokularından ve mikrobiyal hücrelerden ekstrakte edilirler (Jakubczyk et al., 2020; Karaś, 2019; Mazorra-Manzano, Ramírez-Suarez, & Yada, 2018).

Peptidlerin hormonlara benzer şekilde birçok önemli vücut fonksiyonunu düzenleyebildikleri bilinmektedir. Antihipertansif, antioksidan, antimikrobiyal, antikoagülan ve şelatlayıcı etkiler dahil olmak üzere birçok karakterleri vardır (Şekil 1). Ayrıca yiyeceklerin tadından veya hastalıkların gelişiminde rol oynayan enzimlerin inhibisyonundan da sorumludurlar (Jakubczyk et al., 2020).



Şekil 1. Biyoaktif peptidlerin özellikleri (Jakubczyk et al., 2020).

Biyoaktif peptidlerin yapısal mimarisi farklı olabilir. Proteinlerin kaynağı, protein substratının ön işlemi, peptidazların türü ve hidroliz koşulları gibi çeşitli faktörler, protein hidrolizatlarının yapısını ve etkinliğini ve üretilen peptid türlerini değiştirebilir (Karami & Akbari-Adergani, 2019).

Ancak sınıflandırma konusunda bu peptidler iki ana tipe ayrılır: endojen ve eksojen peptidler. Endojen peptidler, sinir hücreleri (analjezik/opioid uygulaması) veya bağışıklık hücreleri (iltihap ve antimikrobiyal rol) gibi farklı hücre türlerinde veya hipofiz ve adrenal bezler gibi vücuttaki çeşitli bezlerde üretilir. Eksojen peptidler vücuda gıdalar, diyet takviyeleri ve ilaçlar gibi çeşitli kaynaklardan girer (Akbarian, Khani, Eghbalpour, & Uversky, 2022; Lorenzo et al., 2018).

Biyoaktif peptidlerin türüne, sayısına, amino asit dizilişine ve bu amino asitlerin kendine has özelliklerine bağlı olarak farklı fizyolojik aktivite türleri bulunmaktadır (Daliri, Oh, & Lee, 2017). Peptidlerin bu fizyolojik olarak güçlü etkileri onları terapötik ajan üretimi için iyi bir aday haline getirmiştir. Beslenme açısından bakıldığında peptidlerin biyoyararlanımı proteinlerinkinden daha fazladır. Ek olarak, daha küçük peptidler birincil proteinlere göre daha az alerjenik etkiye sahiptir ve bunun sonucunda protein hidroliz ürünleri bebek mamalarında yaygın olarak kullanılır (Akbarian et al., 2022; Lemaire et al., 2021).

2 Biyoaktif Peptid Kaynakları

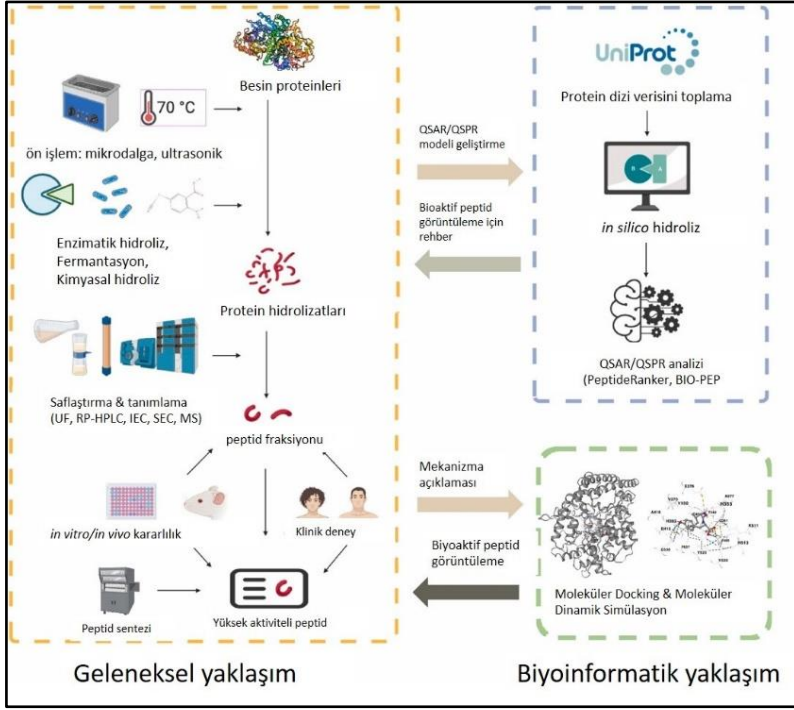
Hayvan ve bitki besin proteinleri şu anda biyoaktif peptidlerin ana kaynağıdır. Kaynak proteinler genellikle yeterince kullanılmayan proteinlerin veya protein açısından zengin gıda endüstrisi yan ürünlerinin katma değerli kullanımı için seçilir veya farmakolojik açıdan önemli olan spesifik peptid dizileri için seçilir (Du & Li, 2022).

Hayvansal proteinler, besin dengesi açısından daha iyi proteinler olarak kabul edilirdi. Çoğunlukla süt proteinleri (kazein ve peynir altı suyu), yumurta proteinleri ve besi ve deniz hayvanlarından elde edilen et kas proteinleri olmak üzere hayvansal proteinler üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Yaygın bitki proteinleri arasında ise soya fasulyesi, baklagiller, buğday, mısır, sorgum ve kanola yer alır ve çoğu çalışma, bitki proteinlerinin ana kısmı olan depolama proteinlerine odaklanmıştır (Du & Li, 2022).

Solid faz peptid sentezi (SPPS) yoluyla kimyasal sentez, biyoaktif peptidleri elde etmenin başka bir yoludur. Ancak saflaştırma işleminin zor olması ve elde edilen ürün miktarının çok az düzeyde olması nedeniyle biyoaktivite

araştırmalarında kullanılmaları zordur (Mueller, Baumruck, Zhdanova, & Tietze, 2020).

Biyoaktif peptidleri hazırlama, saflaştırma, dizi tanımlama ve biyoaktivite tespiti yapma işlemleri geleneksel veya biyoinformatik bir yaklaşımla yapılabilir (Şekil 2). Her iki yöntemin aşamaları birbirini destekleyecek şekilde takip eder.



Şekil 2. Biyoaktif peptidlerin tespitine yönelik geleneksel ve biyoinformatik yaklaşımlar (Du & Li, 2022).

In silico Biyoloji

In silico biyoloji, biyolojik fonksiyonları moleküler düzeyde modellemek, tahmin etmek ve açıklamak için hesaplamalı metodolojilerin teorisini, programlamasını ve uygulamasını kapsayan bir bilim alanıdır. *In silico* metodolojileri, gen ve sekans tanımlama, genom, transkriptom, proteom ve metagenom birleşimi ve de novo ilaç tasarımı gibi spesifik hedefleri olan faydalı araçlar olarak kullanılmaktadır (Vidal-Limon, Aguilar-Toalá, & Liceaga, 2022).

Uygulama açısından *in silico* metodolojileri iki gruba ayrılır. Biyoinformatik olarak adlandırılan ilk grup, bilgiye erişim için verilerin düzenlenmesini, analizi istatistiksel olarak sağlam hale getiren araçların geliştirilmesini, verilerin evrimsel yorumlanması ve formüle edilmesi için veri ve analizlerin kullanılmasını içerir. Biyomoleküler simülasyonlar olarak adlandırılan ikinci

grup ise biyomoleküler yapı metodolojileri, proteinler ve peptidler gibi biyomoleküllerin nasıl hareket ettiği ve fiziksel olarak nasıl etkileşime girdiğine dikkat çekerek parçacıkların (atomlar ve moleküller) temel fizikokimyasal tanımına dayanır (Agyei, Tsopmo, & Udenigwe, 2018; Vidal-Limon et al., 2022).

Yaygın Olarak Kullanılan *in silico* Yöntemler

Biyoaktif bileşiklerin potansiyel kullanımını tanımlamak için farklı *in silico* metodolojileri kullanılabilir. Eğer asıl amaç biyoaktif moleküller ve bunların potansiyel hedefleri arasındaki yapı/aktivite ilişkilerini açıklamaksa, hem biyoinformatik hem de biyomoleküler simülasyonlar diğer metodolojilerle desteklenebilir. Örneğin kemoinformatik metodolojiler, ikincil metabolitler, peptidler ve lipitler gibi biyomoleküller hakkındaki yapısal bilgilerden elde edilen kimyasal bilgilerin analizini içerir (Martinez-Mayorga & Medina-Franco, 2009). Bu metodolojilerden bazıları, proteinlerin birincil yapısındaki varsayılan biyoaktif peptidlerin sıklığını belirlemek için veri tabanlarında depolanan bilgilerden de yararlanır (Aguilera-Mendoza et al., 2019; Minkiewicz et al., 2019). Ayrıca, biyoaktif moleküllerden oluşan geniş veri tabanları, iyi bilinen ilaçlar arasındaki kimyasal benzerlikleri incelemek için kullanılabilir.

Bununla birlikte, hedef biyoaktif bileşiklerin yapısı bilinmiyorsa, moleküler bir referansa (yani ligandlar ve substratlar) dayalı olarak farklı modeller oluşturulabilir. Bu tür metodolojiler aynı zamanda ligand bazlı yöntemler olarak da bilinir; en çok uygulanan hesaplama yöntemleri niceliksel yapı-aktivite ilişkisi (QSAR), niceliksel yapı-özellik ilişkisi (QSPR) analizi ve farmakofor modellemedir (Dukka, 2013).

Ek olarak *in silico* tarama yöntemleri, gıdalardaki toksinleri, gıda kaynaklı patojenleri ve tripsin inhibitörlerini moleküler düzeyde incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Aguilar-Toalá, Deering, & Liceaga, 2020; Chaves, Padilha, Araujo, & Rocha, 2018).

Sağlık araştırmalarında, proteinler ve biyoaktif peptidler üzerinde, spesifik olarak hedeflerine bağlanma afiniteleri, biyoaktif olma olasılıkları, bağırsak stabilite ve dolaşım sisteminde tutulma yetenekleri gibi farklı parametreleri belirlemek için *in silico* yöntemler kullanılır. .

Tablo 1'de biyoaktif peptidlerin *in silico* analizi için yaygın olarak kullanılan araçlar listelenmektedir. Tanımlanan pek çok *in silico* yöntemden moleküler yerleştirme (docking) analizi, doğal kaynaklardan türetilen yeni aktif molekülleri bulmak için ilaç tasarımı araştırmalarında ve sanal tarama çalışmalarında en yaygın kullanılan araçlardan biridir. Bu tür biyomoleküler simülasyon; bağlanma

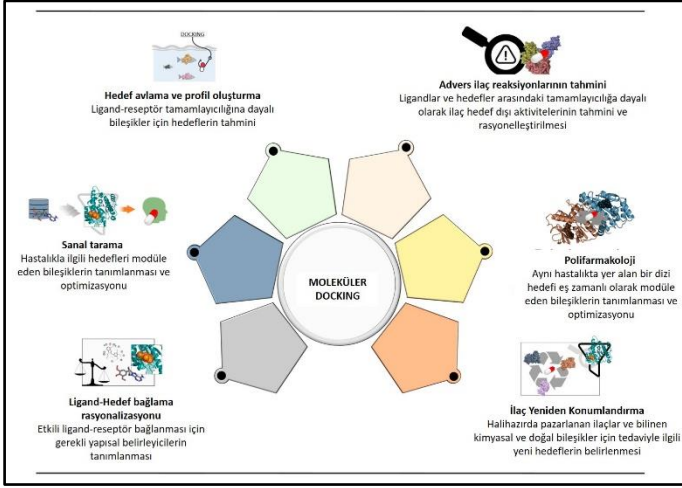
bölgelerini tahmin etmek, biyomoleküllerin kendiliğinden bağlanma sürecini simüle ederek moleküler tanıma mekanizmasını aydınlatmak ve moleküller arası etkileşimlerini açıklamak için kullanılır (Tao et al., 2020; Vidal-Limon et al., 2022).

Tablo 1. Biyoaktif peptidlerin in silico analizinde kullanılan araçlar (Vidal-Limon et al., 2022).

Çevrimiçi in silico araçları	Tarama fonksiyonu	Web adresi
Peptide Ranker	biyoaktivite potansiyeli puanlaması	http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker
PreAIP	antiinflamatuvar peptid taraması	http://kurata14.bio.kyutech.ac.jp/PreAIP/
iDPPIV-SCM	dipeptidil peptidaz-IV(DPP-IV) inhibitör peptidi	https://camt.pythonanywhere.com/iDPPIV-SCM
AntiAngioPred	anti-anjiyogenik peptid	http://crdd.osdd.net/raghava/antiangiopred/
AHTPIN	antihipertansif peptid	http://crdd.osdd.net/raghava/ahtpin/
HLP	bağırsak stabilitesi	http://crdd.osdd.net/raghava/hlp/
PlifePred	plazma stabilitesi	https://webs.iiitd.edu.in/raghava/plifepred/
ToxinPred	toksosite taraması	https://webs.iiitd.edu.in/raghava/toxinpred

Biyoaktif Peptidlerde Moleküler Yerleştirme (Docking) Analizleri

1970'lerin ortasındaki ilk ortaya çıkışından bu yana, yerleştirme analizi, kimyasal bileşiklerin moleküler hedefleriyle nasıl etkileşime girdiğini anlamada ve ilaç keşfi ve geliştirilmesine yardımcı olmada önemli bir araç olmuştur. Ancak docking analizinin ilk ortaya çıkışından bu yana kullanım ve uygulamaları da değişmiştir (Şekil 3). Aslında, ilk olarak büyük ve küçük moleküller arasındaki moleküler tanımayı araştırmak için geliştirilmiş olmasına rağmen, artık ilaç keşif programlarının isabet tanımlama ve optimizasyonu, ilacın yeniden konumlandırılması, hedef ligand tasarımı ve yeniden konumlandırılması, a posteriori hedef tanımlama (ters tanımlama), çoklu hedef tanımlama gibi farklı görevlerine yardımcı olmak için de yaygın olarak kullanılmaktadır (Pinzi & Rastelli, 2019).



Şekil 3. Moleküler docking analizlerinin ana uygulamaları (Pinzi & Rastelli, 2019).

Biyoaktif peptidlerle çalışmada, moleküler docking, hedef proteinlerin bağlanma bölgesindeki peptidlerin davranışının karakterizasyonunu yapmayı sağlar (Vidal-Limon et al., 2022). Bu analiz yapı bazlı bir yöntem olduğundan, peptidlerin yapı-aktivite ilişkisinin tespit edilmesini sağlar. Tanım olarak moleküler docking süreci, bir reseptör içindeki bir ligandın moleküler yöneliminin tahmin edilmesini ve ardından bir puanlama fonksiyonu kullanılarak tamamlayıcılık etkileşimlerinin hesaplanmasını içerir (Meng, Zhang, Mezei, & Cui, 2011).

Bir biyoaktif peptid çalışmasında aşamalar şu şekildedir (Vidal-Limon et al., 2022);

I. Biyoaktif peptidler başarıyla parçalanıp tanımlandıktan ve biyoaktiviteleri *in vitro* veya *in vivo* analizlerle belirlendikten sonra, docking için yapısal hazırlığa tabi tutulurlar.

II. Daha sonra ligand, docking simülasyonu kullanılarak belirlenen hedef reseptör-ligand kompleksi yapıları için hazırlanır.

III. Son olarak, verilerin analizi, hedef reseptörlerin bağlanma bölgeleri içindeki küçük bir molekülün (yani biyoaktif peptidin) bağlanma modları ve afiniteleri (yani skorlama fonksiyonları) tahmin edilerek gerçekleştirilir.

Proteinlerin ve peptidlerin yapı-aktivite ilişkisinin araştırılmasında moleküler docking çok faydalı olsa da, yapı tahmininde hem ligand hem de reseptör konformasyonlarının sınırlı örneklemesi ve yaklaşık puanlama fonksiyonlarının kullanımı, deneysel bağlanma afiniteleri ile korelasyon göstermeyen sonuçlar

üretebilir (Pinzi & Rastelli, 2019). Dolayısıyla bu durum yöntemin bir sınırlaması olarak kabul edilir. Sonuçta moleküler docking, protein yapısının statik bir reseptör olduğu, ligand bozukluklarına, dış moleküllere (örneğin iyonlar ve çözücüler) ve ortamlara (örneğin pH ve elektrik alanı) yanıt veremeyen katı bir örnekleme yöntemidir (Trott & Olson, 2010). Bu analizde protein katı bir biçimde işlenir; ancak benzer enerjilere sahip farklı konformasyonel durumlar arasındaki sürekli hareket nedeniyle bağlandığı liganda bağlı olarak birçok farklı konformasyonu benimseyebilir. Çözünme etkileri ve entropi değişiklikleri dahil olmak üzere bazı moleküller arası etkileşimler doğru bir şekilde tahmin edilememe riski taşır (Huang & Zou, 2010).

Biyoaktif Peptidlerde Moleküler Dinamik (MD) Simülasyon Analizleri

Moleküler dinamik (MD) simülasyonu, proteinlerin konformasyonel değişikliklerini ve dinamik mekanizmalarını anlamada kritik öneme sahiptir ve ilaç tasarımında sıklıkla kullanılır (Decherchi & Cavalli, 2020).

MD simülasyonu, moleküllerin zaman içindeki hareketini analiz etmek için kullanılan bir bilgisayar teknolojisidir (Hu et al., 2023). Konformasyonel integrali hesaplamak için farklı durumlardan oluşan bir sistemden örnekler alınır (Rapaport, 1999). Konformasyon fraksiyonu verileri sistemin termodinamiğini ve diğer makroskopik parametrelerini belirlemek için kullanılır. Kuvvet alanı, sistemin potansiyel enerjisinin işlevsel biçimi ve parametre ayarları da dahil olmak üzere parçacıkların etkileşimini tanımlar (Hu et al., 2023). Çeşitli MD simülasyon yazılım programları, atomları klasik parçacıklar olarak ele almak ve Newton'un integral hareket denklemlerini çözmek olarak anlaşılabilir farklı algoritmalara dayanmaktadır (Padhi, Janežič, & Zhang, 2022).

Gıda proteinleri ve biyoaktif peptidlerin etkileşimlerinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan ücretsiz yazılım programları arasında GRONINGEN MACHiNE FOR CHEMICAL SIMÜLASYONLAR (GROMACS), NOT JUST ANOTHER MOLECULAR DYNAMICS (NAMD), LARGE-SCALE ATOMIC/MOLECULAR MASSIVELY PARALLEL SIMULATOR (LAMMPS) ve AZALTILMIŞ MOLEKÜLER DİNAMİKLER (RedMD) yer alır. Esas olarak MD simülasyonu için kullanılan bilgisayar yazılım programları Tablo 2'de verilmiştir. GROMACS, NAMD ve LAMMPS popüler açık kaynaklı yazılımlardır; açık erişime sahiptirler ve kullanımları ücretsizdir ve kullanıcılar kaynak kodunu kendi ihtiyaçlarına göre değiştirebilirler (Hu et al., 2023).

GROMACS temel olarak karmaşık bağlanma etkileşimlerine sahip proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi birçok biyokimyasal molekülü simüle etmek için kullanılır. Milyonlarca parçacık sisteminin MD'sini simüle edebilir ve neredeyse

tüm algoritmaları destekleyebilir; simülasyon hızı diğer benzer yazılımlardan bir ila iki kat daha hızlıdır (Malhotra & Goyal, 2021).

Tablo 2. MD simülasyonu için yazılımları (Hu et al., 2023).

Yazılım	Kuvvet alanı	Uygulanabilir sistem	Lisans
GROMACS (Junghans, Phillips, & Wall, 2014)	CHARMM/G43a1/ GROMOS/ AMBER/OPLS	Biyolojik moleküllere uygulanabilir	Ücretsiz
AMBER (Cornell et al., 1995)	AMBER/Glycam	Protein, DNA, RNA, karbonhidratlar, lipitler, organik moleküller (genellikle ligandlar) dahil olmak üzere biyolojik sistemlere uygulanabilir	Ücretsiz değil
CHARMM (Bjelkmar, Larsson, Cuendet, Hess, & Lindahl, 2010)	CHARMM	Çözelti, kristal ve membran ortamlarında meydana geldikleri için peptitler, proteinler, protez gruplar, küçük molekül ligandları, nükleik asitler, lipitler ve karbonhidratlar dahil olmak üzere biyo-lojik sistemlere uygulanabilir	Ücretsiz değil
GROMOS (Schmid, Christ, Christen, Eichenberger, & van Gunsteren, 2012)	AMBER/ CHARMM/ GROMOS/OPLS-AA	Alkanlara, proteinlere ve nükleik asitlere uygulanabilir	Ücretsiz değil
RedMD (Górecki, Szypowski,	DL_POLY/ NAMD/AMBER/	Proteinlere, nükleik asitlere ve komplekslere uygulanabilir	GPL lisansında ücretsiz

Długosz, & Trylska, 2009)	CHARMM		
YASARA (Duan et al., 2020)	AMBER/ YAMBER/NOVA	Proteinlere, nükleik asitlere ve diğer biyolojik makromoleküllere uygulanabilir	Ücretsiz değil
NAMD (Padua, 2011)	AMBER/ CHARMM/ Dreiding	Biyomoleküler sistemlere uygulanabilir	Ücretsiz
LAMMPS (Thompson et al., 2022)	LAMMPS	Sıvı, katı ve gaz sistemlerine uygulanabilir	Ücretsiz
GAUSSIAN (Chong et al., 2022)	AMBER	İnorganik, organik, biyolojik moleküller ve kristallere uygulanabilir	Ücretsiz değil

Kuvvet alanı MD simülasyonunun temelidir ve sistem enerjisini atomik konumlardan hesaplar. Kuantum mekaniksel yönteme göre hesaplama süresi daha azdır ve onbinlerce parçacık içeren bir sistemin hesaplanmasında kullanılabilir (Faheem, Kim, Bae, & Lee, 2021). Kuvvet alanları tipik olarak, deneysel sonuçları yorumlamak ve deneysel yaklaşımlarla her zaman sağlanamayan bilgilere erişim sağlamak amacıyla biyolojik makromoleküllerin atom yapısını ve özelliklerini araştırmak için kullanılır (Hu et al., 2023).

MD simülasyonu, ilaç tasarımında, biyomoleküller arasındaki karmaşık hareketlerin fiziksel ve kimyasal karakterizasyonunda ve biyoelektrotlar ve biyosensörler gibi ileri malzemelerin moleküler tasarımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Vidal-Limon et al., 2022). Bir çalışmada MD simülasyon yöntemi kullanarak insan papilloma virüsü (HPV E6) proteininin ubiquitin ligazının inhibitörleri olarak kullanımları için luteolin, ursolik asit ve karragenanlar gibi doğal bileşikler önerilmiştir (Ricci-López et al., 2019).

3 SONUÇ

Biyoaktif peptidler, antioksidan, antihipertansif, antidiyabetik, antikanser, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve yaşlanma karşıtı işlevler gibi çok geniş alanda faydaları vardır (Du et al., 2023). Biyoaktif peptidlerin üretimleri, biyoaktiviteleri, biyoerişilebilirlikleri, ticari hale getirilebilmeleri ve yapısal biyoinformatikteki en son çalışmalar da dahil olmak üzere bu peptidler hakkındaki bilgilerimizin artması önemlidir. Sonuç olarak geleneksel yöntemlerin peptid sentezinde ve peptid araştırmalarında zahmet alıcı ve maliyetli olduğu düşünülürse bilgisayar sistemli (*in silico*) analizlerin *in vitro/in vivo* yöntemlere entegre edilmesi çok önemlidir. Özellikle moleküler dinamik simülasyonlarının biyoaktif peptidlerin keşfinde yeni bir çağ açtığı düşünülebilir.

KAYNAKÇA

- Aguilar-Toalá, J., Deering, A., & Liceaga, A. (2020). New insights into the antimicrobial properties of hydrolysates and peptide fractions derived from chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12, 1571-1581.
- Aguilera-Mendoza, L., Marrero-Ponce, Y., Beltran, J. A., Tellez Ibarra, R., Guillen-Ramirez, H. A., & Brizuela, C. A. (2019). Graph-based data integration from bioactive peptide databases of pharmaceutical interest: toward an organized collection enabling visual network analysis. *Bioinformatics*, 35(22), 4739-4747.
- Agyei, D., Tsopmo, A., & Udenigwe, C. C. (2018). Bioinformatics and peptidomics approaches to the discovery and analysis of food-derived bioactive peptides. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 3463-3472.
- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., & Uversky, V. N. (2022). Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1445. Retrieved from <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/3/1445>
- Bjelkmar, P., Larsson, P., Cuendet, M. A., Hess, B., & Lindahl, E. (2010). Implementation of the CHARMM force field in GROMACS: analysis of protein stability effects from correction maps, virtual interaction sites, and water models. *Journal of chemical theory and computation*, 6(2), 459-466.
- Chaves, E. J., Padilha, I. Q., Araujo, D. A., & Rocha, G. B. (2018). Determining the relative binding affinity of ricin toxin A inhibitors by using molecular docking and nonequilibrium work. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 58(6), 1205-1213.
- Chong, W. L., Vao-soongnern, V., Nimmanpipug, P., Tayapiwatana, C., Lin, J.-H., Lin, Y.-L., . . . Lee, V. S. (2022). Molecular dynamics simulations and

- Gaussian network model for designing antibody mimicking protein towards dengue envelope protein. *Journal of Molecular Liquids*, 346, 118086.
- Cornell, W. D., Cieplak, P., Bayly, C. I., Gould, I. R., Merz, K. M., Ferguson, D. M., . . . Kollman, P. A. (1995). A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 117(19), 5179-5197.
- Daliri, E. B., Oh, D. H., & Lee, B. H. (2017). Bioactive Peptides. *Foods*, 6(5). doi:10.3390/foods6050032
- Decherchi, S., & Cavalli, A. (2020). Thermodynamics and kinetics of drug-target binding by molecular simulation. *Chemical Reviews*, 120(23), 12788-12833.
- Du, Z., Comer, J., & Li, Y. (2023). Bioinformatics approaches to discovering food-derived bioactive peptides: Reviews and perspectives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 162, 117051. doi:<https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117051>
- Du, Z., & Li, Y. (2022). Review and perspective on bioactive peptides: A roadmap for research, development, and future opportunities. *Journal of Agriculture and Food Research*, 9, 100353. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100353>
- Duan, R., Wu, D., Tang, L., Hu, X., Cheng, L., Yang, H., . . . Geng, F. (2020). Interactions of the cis and trans states of an azobenzene photoswitch with lysozyme induced by red and blue light. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 229, 117965.
- Dukka, B. K. (2013). Structure-based methods for computational protein functional site prediction. *Computational and structural biotechnology journal*, 8(11), e201308005.
- Faheem, A. B., Kim, J.-Y., Bae, S.-E., & Lee, K.-K. (2021). Efficient parameterization of intermolecular force fields for molecular dynamics simulations via genetic algorithms. *Journal of Molecular Liquids*, 337, 116579.
- Górecki, A., Szypowski, M., Długosz, M., & Trylska, J. (2009). RedMD—reduced molecular dynamics package. *Journal of computational chemistry*, 30(14), 2364-2373.
- Hu, X., Zeng, Z., Zhang, J., Wu, D., Li, H., & Geng, F. (2023). Molecular dynamics simulation of the interaction of food proteins with small molecules. *Food Chemistry*, 405, 134824. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134824>
- Huang, S.-Y., & Zou, X. (2010). Advances and challenges in protein-ligand docking. *International journal of molecular sciences*, 11(8), 3016-3034.

- Jakubczyk, A., Karaś, M., Rybczyńska-Tkaczyk, K., Zielińska, E., & Zieliński, D. (2020). Current trends of bioactive peptides—New sources and therapeutic effect. *Foods*, 9(7), 846.
- Junghans, C., Phillips, J. L., & Wall, M. E. (2014). *Gromacs IC Tutorial*. Retrieved from
- Karami, Z., & Akbari-Adergani, B. (2019). Bioactive food derived peptides: a review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties. *J Food Sci Technol*, 56(2), 535-547. doi:10.1007/s13197-018-3549-4
- Karaś, M. (2019). Influence of physiological and chemical factors on the absorption of bioactive peptides. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(5), 1486-1496. doi:<https://doi.org/10.1111/ijfs.14054>
- Lemaire, M., Ménard, O., Cahu, A., Nogret, I., Briard-Bion, V., Cudennec, B., . . . Dupont, D. (2021). Addition of dairy lipids and probiotic lactobacillus fermentum in infant formulas modulates proteolysis and lipolysis with moderate consequences on gut physiology and metabolism in yucatan piglets. *Frontiers in nutrition*, 8, 615248.
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C., & Toldrá, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products—A review. *Trends in food science & technology*, 79, 136-147.
- Malhotra, M., & Goyal, C. (2021). WITHDRAWN: The untapped roles of information science with biology and discovery of bioactive compounds. In: Elsevier.
- Martinez-Mayorga, K., & Medina-Franco, J. L. (2009). Chapter 2 Chemoinformatics—Applications in Food Chemistry. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 58, pp. 33-56): Academic Press.
- Mazorra-Manzano, M., Ramírez-Suarez, J., & Yada, R. (2018). Plant proteases for bioactive peptides release: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(13), 2147-2163.
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.
- Minkiewicz, P., Iwaniak, A., & Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 5978.

- Mueller, L. K., Baumruck, A. C., Zhdanova, H., & Tietze, A. A. (2020). Challenges and perspectives in chemical synthesis of highly hydrophobic peptides. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 162.
- Padhi, A. K., Janežič, M., & Zhang, K. Y. (2022). Molecular dynamics simulations: Principles, methods, and applications in protein conformational dynamics. In *Advances in Protein Molecular and Structural Biology Methods* (pp. 439-454): Elsevier.
- Padua, D. (2011). *Encyclopedia of parallel computing*: Springer Science & Business Media.
- Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4331. Retrieved from <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4331>
- Rapaport, D. (1999). Molecular dynamics simulation. *Computing in Science & Engineering*, 1(1), 70-71.
- Ricci-López, J., Vidal-Limon, A., Zunñiga, M., Jiménez, V. A., Alderete, J. B., Brizuela, C. A., & Aguila, S. (2019). Molecular modeling simulation studies reveal new potential inhibitors against HPV E6 protein. *PLoS One*, 14(3), e0213028.
- Schmid, N., Christ, C. D., Christen, M., Eichenberger, A. P., & van Gunsteren, W. F. (2012). Architecture, implementation and parallelisation of the GROMOS software for biomolecular simulation. *Computer Physics Communications*, 183(4), 890-903.
- Tao, X., Huang, Y., Wang, C., Chen, F., Yang, L., Ling, L., . . . Chen, X. (2020). Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 33-45.
- Thompson, A. P., Aktulga, H. M., Berger, R., Bolintineanu, D. S., Brown, W. M., Crozier, P. S., . . . Nguyen, T. D. (2022). LAMMPS-a flexible simulation tool for particle-based materials modeling at the atomic, meso, and continuum scales. *Computer Physics Communications*, 271, 108171.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Vidal-Limon, A., Aguilar-Toalá, J. E., & Liceaga, A. M. (2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(4), 934-943. doi:10.1021/acs.jafc.1c06110

BÖLÜM 34

EPIGENETİK VE KANSER

*Dr. Öğr. Üyesi Şeyda BERK¹
Öğr. Gör. Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ²*

¹ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Orcid: 0000-0003-4687-0223

² Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Orcid: 0000-0001-5621-2844

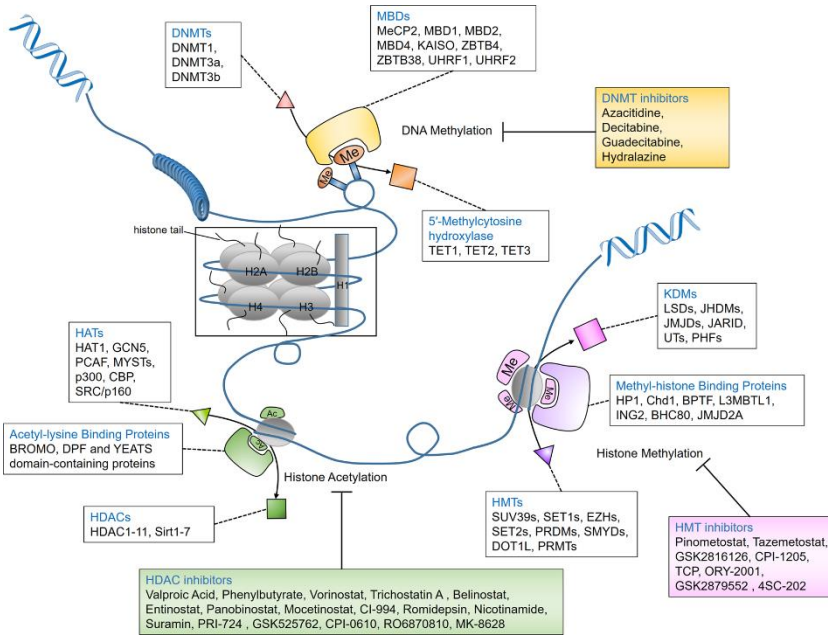
GİRİŞ

Epigenetik terimi ilk kez 1942'de Conrad Waddington'un genotip ile fenotip arasındaki bağlantıyı yorumlamaya çalışmasıyla önerilmiş ve "genler ve ürünleri arasındaki nedensel etkileşimleri inceleyen ve fenotipi ortaya çıkaran biyoloji dalı" olarak ele alınmıştır (Waddington, 2012). Sonrasında, epigenetiğin etkileri, zaman içinde çok çeşitli biyolojik süreçleri kapsayacak şekilde genişletildi; genomdaki kalıtsal değişikliklerin, farklılaşma durumlarına bakılmaksızın somatik hücrelerdeki değişikliklerden bağımsız olarak meydana geldiği ileri sürülmüştür (Bird, 2007). Bugün ise epigenetik "mitotik ve/veya mayotik olarak kalıtsal olan ve DNA dizisinde bir değişiklik gerektirmeyen gen fonksiyonundaki değişikliklerin incelenmesi" olarak tanımlanmaktadır (Pathak, Tomar, & Pathak, 2023). Bu fenomen, hücre büyümesi, farklılaşması ve hastalık gelişimi gibi geniş bir yelpazedeki hücresel aktiviteleri kapsar ve kalıtsaldır (Cheng ve ark., 2019). Epigenetik mekanizmalar genellikle DNA metilasyonu, histon veya kromatin transkripsiyon sonrası modifikasyonları ve kodlamayan RNA düzenlemeleri içermektedir ve toplu olarak epigenom olarak adlandırılmaktadır. Bu mekanizmaların sürdürülmesindeki başarısızlık, bazı önemli genlerin uygunsuz aktivasyonuna veya inhibisyonuna neden olabilir ve bu da başta kanser olmak üzere hastalıklara yol açabilir (Hanahan, 2022; Pathak ve ark., 2023).

İnsanlarda en çok çalışılan epigenetik modifikasyon DNA metilasyonudur. Anormal DNA metilasyonunun ilk kez 40 yıl önce birincil insan tümörlerinde tanımlanmasından bu yana (Feinberg & Vogelstein, 1983), kapsamlı çalışmalar, DNA metilasyon modellerindeki değişimlerin tümörün ilerlemesini ve metastazını düzenlediğini güçlü bir şekilde ortaya koymuştur (Berdasco & Esteller, 2019). DNA metilasyonu, sitozin nükleotidlerinde, neredeyse yalnızca guanin sonrası sitozinlerde (CpG bölgelerinde) meydana gelen kovalent bir modifikasyondur. Metilasyon modelleri, de novo metilasyon (DNA metiltransferazlar [DNMT'ler] DNMT3A ve DNMT3B), metil grubunun çıkarılması (on-onbir translokasyon enzimi TET1, TET2 ve TET3) veya DNA replikasyonu sırasında metilasyon modellerinin tam kopyalanması ve korunması yoluyla modifikasyonu sağlayan bir dizi enzim tarafından kesin olarak düzenlenir (DNMT1; Şekil 1) (Veronica Davalos & Esteller, 2023). DNA metilasyonu, DNA metilasyonunun sürdürülmesinin yokluğunda sıralı hücre bölünmeleri yoluyla pasif olarak da uzaklaştırılabilir. CpG bölgeleri genomda rastgele dağılmamıştır; bunun yerine, esasen tüm insan genlerinin yarısından fazlasının düzenleyici bölgelerinde yer alan, CpG adaları olarak bilinen, CpG açısından zengin bölgeler vardır (Mattei, Bailly, & Meissner, 2022). CpG adalarının metilasyonu, transkripsiyonel baskının epigenetik bir mekanizmasıdır.

Epigenetik mekanizmalar normal memeli büyümesi, gelişimi ve gen ifadesinin sürdürülmesi için gereklidir.

Epigenetik işaretler sıkı ve birbirine bağlıdır ve yetişkin organizmalarda normal gelişim ve hücrel homeostazinin ve fonksiyonların sürdürülmesi için özellikle kadınlarda X kromozomunun inaktivasyonu, genomik damgalama, tekrarlayan DNA elemanlarının susturulması, kromatin yapısının düzenlenmesi ve genetik bilginin uygun şekilde ifade edilmesi için gereklidir (Ilango, Paital, Jayachandran, Padma, & Nirmaladevi, 2020). Bununla birlikte, ilk kez tümör baskılayıcı genlerin susturma mekanizması olarak tanımlanan promoterle ilişkili CpG adası hipermetilasyonu, kanser hücrelerinde yaygın bir özelliktir (Baylin, 2005; Esteller, 2007). Buna karşılık, gen gövdesi (intronlar ve eksonlar) metilasyonu, fizyolojik ortamlardaki aktif genlerde yaygındır, ancak kanserde, esas olarak tekrarlayan dizilerde, kromozomal kararsızlığı ve endoparazitik dizilerin (birden fazla genetik bölgede tekrarlanan bir tür transpoze edilebilir element) yeniden aktivasyonunu teşvik eden büyük bir küresel DNA metilasyonu kaybı meydana gelir (Veronica Davalos & Esteller, 2023).



Şekil 1. DNA metilasyonunun, histon asetilasyonunun ve histon metilasyonunun epigenetik düzenlenmesi (Cheng ve ark., 2019).

Değişen DNA metilasyon profillerinin yanı sıra, kanserde anormal bir histon modifikasyonları manzarası da mevcuttur (Zhao, Allis, & Wang, 2021). Sekiz histon proteininden oluşan bir çekirdek, DNA'yı çekirdekte sarmak ve yoğunlaştırmak için bir iskele sağlar ve kromatinin temel tekrarlayan alt birimi olan bir nükleozom oluşturur (Şekil 1). Histon transkripsiyon sonrası modifikasyonları, DNA metilasyonu ile birlikte kromatin konformasyonunu ve transkripsiyon faktörlerinin, ortak aktivatörlerin ve ortak baskılayıcıların erişilebilirliğini modüle edebilen çok yönlü bir epigenetik işaretler dizisidir. Histon kuyruklarında meydana gelen histon modifikasyonları, diğerlerinin yanı sıra asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubikitinasyon, SUMOilasyon ve ADP ribosilasyonunu içermektedir. Farklı işaretler arasındaki etkileşim, DNA'nın paketlenildiği kromatin yapısını belirleyen ve DNA'yı sarmak için enzim komplekslerinin düzenli alımını düzenleyebilen histon kodunu yapılandırır. Bu histon kodu, kimyasal modifikasyonların başlatılmasını katalize eden histon değiştirici enzimler (örn., histon lizin metiltransferazlar veya histon lizin asetiltransferazlar) tarafından yazılır ve işaretleri kaldıran enzimler (örn., histon lizin demetilazlar veya histon lizin demetilazlar veya histon lizin deasetilazlar) tarafından silinir. Bu kod, belirli bir histon modifikasyonu tipine veya histon modifikasyonlarının bir kombinasyonuna spesifik olarak bağlanan okuyucu veya efektör proteinler tarafından yorumlanır ve histon kodunu, ister transkripsiyonel aktivasyon, isterse susturma veya diğer hücresel yanıtlar olsun, anlamlı bir biyolojik sonuca dönüştürür (Şekil 1). Bu alım mekanizmasına ek olarak histon işaretleri, sterik veya yük etkileşimlerine dayalı olarak kromatin konformasyonunu kendi başına modüle edebilir. Örneğin, lizinlerin asetilasyonu yoluyla histonların pozitif yüklerinin nötrleştirilmesi, histon kuyruğunu zayıflatır; bu, kromatin ayrışmasına yol açan DNA etkileşimleri, DNA erişilebilirliğini kolaylaştırır (Chi, Allis, & Wang, 2010; Veronica Davalos & Esteller, 2023; Kouzarides, 2007). Histon modifikasyonlarının yanlış yazılması, yanlış yorumlanması ve yanlış silinmesi onkogeneze ile bağlantılıdır. Histon kodunun bozulması, gen ekspresyonunun düzensizleşmesine ve hücre kimliğinin bozulmasına yol açar; bu nedenle kanserin başlamasına, ilerlemesine ve metastazına önemli bir katkıda bulunur (Chi ve ark., 2010; Veronica Davalos & Esteller, 2023). Epigenetiğin hücre fonksiyonlarını etkilemedeki önemi göz önüne alındığında, hem normal hem de anormal epigenetik süreçlerin daha iyi anlaşılması, kanser de dahil olmak üzere farklı hastalık türlerinin gelişiminin ve potansiyel tedavisinin anlaşılmasına yardımcı olabilir.

Epigenetik değişikliklerin tersine çevrilebilir olması ve genomik evrimle karşılaştırıldığında daha hızlı düzenlenmesi nedeniyle tercihen kanser

hücrelerinde uygulanmaktadır (Easwaran, Tsai, & Baylin, 2014). Somatik hücrelerde meydana gelen temel değişiklikler dışında, diğer çoklu güçler kanserin mikroçevresini uyumlu bir şekilde şekillendirmektedir ve böylece ek boyutsal karmaşıklığa neden olmaktadır. Tümör mikro ortamı, destekleyici doku ve hücrelerden oluşur ve çok sayıda stromal faktörle tümör hücrelerini beslemek için bir niş oluşturur. Mevcut epigenetik modifikasyonlar yalnızca kanser hücrelerinin gelişiminin ilerlemesine değil aynı zamanda tümör hücreleri ve onların mikro çevresi ile etkileşimlerine de odaklanmaktadır (Lu ve ark., 2020).

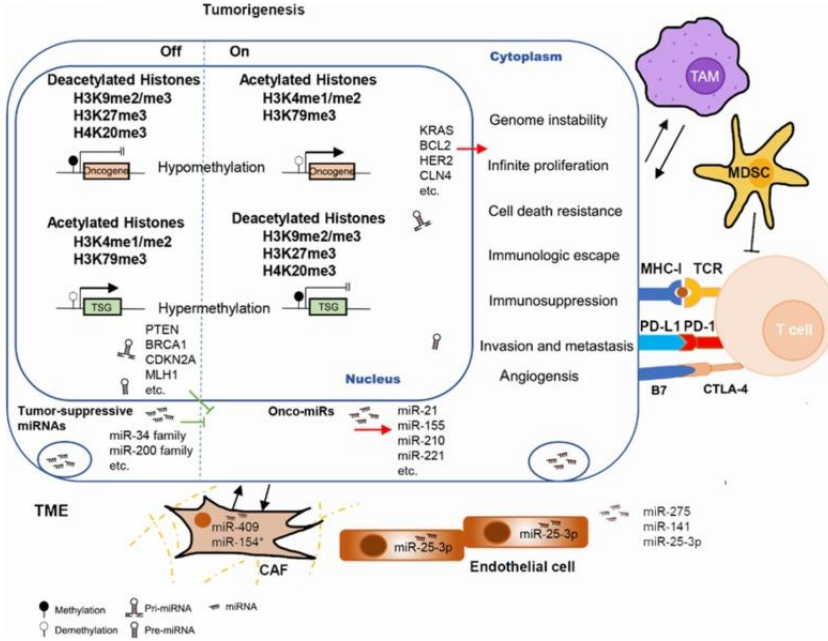
Kanser Gelişiminde Anormal Epigenetik Değişiklikler

Kanser, hem genetik hem de epigenetik değişikliklerin birikmesiyle ortaya çıkar. Geçtiğimiz yıllarda yapılan araştırmalar, epigenetik düzensizliğin insan kanserlerinin evrensel bir özelliği olduğunu göstermiştir (Shen & Laird, 2013; Weinstein ve ark., 2013). İnsan tümörlerinden oluşan büyük grupların DNA dizilimi, yazarlar, okuyucular ve siliciler de dahil olmak üzere epigenetik düzenleyicilerin ana sınıflarını kodlayan genlerin sıklıkla mutasyona uğradığını ve bu kanserlerdeki epigenomik sapmalar için moleküler bir temel sağladığını ortaya çıkarmıştır (Weinstein ve ark., 2013). DNA metilasyonu, kromatin yapısı ve düzenleyici element aktivitesindeki genom çapındaki değişiklikler de yetişkin ve pediatrik kanserlerde sıklıkla tespit edilmektedir (Dubuc ve ark., 2013; Figueroa ve ark., 2010; J. H. Kim ve ark., 2011; Mack ve ark., 2014). Malignitelerde epigenetik düzensizliğin yüksek sıklığı ve epigenetik modifikasyonların tersine çevrilebilir doğası, kanser hücrelerine tedaviye karşı savunmasızlık kazandırmaktadır. Ek olarak, epigenetik düzenleyiciler ya enzimlerdir ya da kromatin bağlayıcı proteinlerdir, bu da onları küçük molekül inhibitörleri için ideal ilaçlanabilir hedefler haline getirmektedir. Bu nedenle, birçok ilacın hem klinik öncesi hem de klinik olarak değerlendirilmesiyle, kanser epigenomunu hedef alan ajanların geliştirilmesine yönelik önemli çabalar sarf edilmiştir (Feng & De Carvalho, 2022).

Onkogenlerin aktivasyonu ve/veya tümör baskılayıcı genlerin baskılanması, kanserin başlamasına katkıda bulunan faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir ve bunlar her zaman epigenetik değişikliklerle tutarlıdır. DNA metilasyonu, gen ifadesinin "açık" ve "kapalı" durumunu kontrol eden bir anahtar görevi görmektedir (Şekil 2). Promoterle ilişkili CpG adası hipermetilasyonu, kanser hücrelerinde epigenetik değişikliklerin en tanınmış mekanizmasıdır ve çeşitli kanser türlerinde iyi bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Böbrek kanserinde RASSF10 (Ras association domain family member 10) (Richter ve ark., 2020), glioblastomada SIX3 (SIX homeobox 3) (Yu ve ark., 2020), melanomda CDKN2A (siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A) ve PTEN (fosfataz ve tensin

homologu) (Marini ve ark., 2006; Mirmohammadsadegh ve ark., 2006) vb. gibi bol miktarda tumor baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu altındadır. Ayrıca, birçok kanserde sadece tümör baskılayıcı gen hipermetilasyonu yaygın olarak görülmekle birlikte çok sayıda temel hücrel fonksiyonda yer alan ek genlerde de hipermetilasyon mevcuttur. Prostat kanseri çalışmaları, glutatyon S-transferaz pi-1 (GSTP1) ve hücre döngüsüne, hücre metastazı, apoptoz ve benzerlerine katılan CDKN2A, TIMPS (TIMP metalloprotein inhibitörü 2) ve DAPK (ölümle ilişkili protein kinaz 1) gibi diğer genlerin destekleyicilerinde ağır metilasyon durumunun meydana geldiğini göstermiştir (Majumdar, Buckles, Estrada, & Koochekpour, 2011). Buna karşılık, onkogenlerin hipometilasyonu, glioblastomada LY6K (lenfosit antijeni 6 aile üyesi K) (Sastri ve ark., 2020), papiller tiroid karsinomunda SLC34A2 (çözünen taşıyıcı aile 34 üye 2) (J. He ve ark., 2020), kolorektal kanserde RBBP6 (RB bağlayıcı protein 6, ubikuitin ligaz) (Xiao ve ark., 2019) dahil olmak üzere birçok kanserde yaygın olarak rapor edilmektedir. Hepatoselüler karsinomdaki genomik ve epigenomik manzaraya ilişkin en son çalışmalarda, hepatoselüler karsinomun erken preneoplastik fazlarında hiper ve hipometilasyonun meydana geldiğini ve bunun kanserle ilişkili genlerin serbestleştirilmesiyle önemli ölçüde ilişkili olduğunu bulunmuştur (Ding ve ark., 2020). Ayrıca, spesifik genleri tek tek hedeflemek yerine, DNA metilasyonunun varyasyonunun genom çapında düzenleyici bir şema olması muhtemeldir.

Anormal DNA metilasyonunun yanı sıra, dengesiz histon modifikasyonu, çift yönlü dönüşümlerin önemli olduğu kanser kök hücre modeline bağlı kanserlerde gözlemlenmektedir. H3K4me3'ü ve baskılayıcı H3K27me3'ü aktive eden iki değerlikli histon işaretleri, başlangıçta embriyonik kök hücrelerin (ESC'ler) farklılaşmasında ele alınmıştır (Blanco, González-Ramírez, Alcaine-Colet, Aranda, & Di Croce, 2020). Bununla birlikte, bazı kanser türleri, kanser hücrelerindeki onkofetal genleri serbest bırakmak için bu iki değerliliği kısmen tekrarlamaktadır (Dhar ve ark., 2016; Messier ve ark., 2016). Kolorektal kanserde kök hücre belirteçleri olduğu varsayılan SOX9 (SRY-kutu transkripsiyon faktörü 9), LGR5 (G proteinine bağlı reseptör 5 içeren lösün açısından zengin tekrar), ASCL2 (achaete-scute ailesi bHLH transkripsiyon faktörü 2), OLFM4 (olfactomedin 4), EPHB3 (EPH reseptör B3) gibi bazı genlerde H3K27me3 kaybı gözlemlenmiştir (Hahn ve ark., 2014). Ek olarak, epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) ile ilişkili genler (örneğin CDH1, SNAI1, TWIST1) üzerindeki histon işaretlerinin iki değerliliği, onlara kanser plastisitesini potansiyelize etme konusunda iki potansiyel kapasite kazandırmaktadır (Cui ve ark., 2018; Malouf ve ark., 2013).



Şekil 2. Tümör gelişiminde anormal epigenetik değişiklikler (Lu ve ark., 2020).

Kromozom üzerindeki anormal epigenetik değişiklikler, tümör oluşumu sırasında birlikte etki göstermeleri muhtemel olduğundan boyutsal olarak karmaşıktır. Son çalışmalar, histon modifikasyonlarının anormal DNA metilasyonu veya kodlamayan RNA'larla birlikte değiştirilebileceğini göstermiştir. Bir tür histon değişikliği bile diğer histon izlerini etkileyebilir. Örneğin, multipl miyelomda NSD2 aşırı ekspresyonunun neden olduğu H3K36me2 genişlemesi, H3K27ac'nin zenginleşmesini ve diğer düzenleyici elementlerle etkileşimi destekleyerek onkogenik yolları aktive etmektedir (Lhoumaud ve ark., 2019). Artan kanıtlar, anormal epigenetik değişikliklerin stokastik olarak ortaya çıkabileceğini veya transkripsiyonel program tarafından yönlendirilebileceğini desteklemiştir; bu, epigenetik düzenlemenin temel öğelerindeki (örn. DNMT'ler, TET'ler, EZH2, vb.) epigenomu değiştirebilir veya spesifik sinyal yollarındaki (örn. EGFR ve KRAS sinyalleme) mutasyonların epigenomu değiştirebileceğini göstermektedir (Yu ve ark., 2020).

Kanser hücrelerinde kromozom düzeyindeki anormalliklerin yanı sıra kodlama yapmayan RNA'lardaki (ncRNA) değişiklikler ve RNA modifikasyonları da oldukça yaygındır. Şu ana kadar hemen hemen her kanser türünde çok sayıda anormal miRNA bulunmuştur. Varsayılan onko-miRNA'lar (örneğin, miR-21, miR-155, miR-210, miR-221, vb.) genellikle kanserde yukarı doğru düzenlenir ve tümör baskılayıcı genleri hedef alarak kanser hücrelerine

avantajlı özellikler kazandırmaktadır. Buna karşılık, tümör baskılayıcı miRNA'lar (örneğin miR-34 ailesi, miR-200 ailesi vb.) kanserlerde zıt işlevi sergilemektedir. Bazı miRNA'ların, bir kanser türünde bile ikili rollere hizmet ettiği dikkate değerdir. Örneğin, miR-181 ailesi, birçok katı kanserde tutarsız ekspresyon sergileyen miR-181a'dan miR-181d'ye kadar dört üyeden oluşur; bu, bunların tümör baskılayıcı miRNA'ların yanı sıra onko-miRNA'lar olabileceğini göstermektedir (Rezaei ve ark., 2020). MiR-181 ailesinin bu üyelerinin farklı kromozom kümelerinde yer alması ve farklı epigenetik modifikasyonlara maruz kalması ilgi çekicidir; bu da miRNA biyogenezinin diğer epigenetik modifikasyonlar tarafından değiştirilebileceğini düşündürmektedir. Dahası, farklı epigenetik mekanizmalar arasındaki etkileşimler, genetik ifadeyi sinerjistik veya antagonistik olarak değiştirebilmektedir. Başka bir örnek, miR-200 ailesinin ZEB1 ve ZEB2'yi hedefleyebilmesi ve EMT ile ilişkili gen transkripsiyonunu inhibe edebilmesidir (Hurteau, Carlson, Spivack, & Brock, 2007; Park, Gaur, Lengyel, & Peter, 2008). Ancak bu miRNA'lar, H3K27'nin trimetilasyonu ile birlikte DNMT tarafından metilasyona tabi tutulur ve EMT fenotipinin kontrolünü kaybetmektedir (V Davalos ve ark., 2012; Wiklund ve ark., 2011). miRNA'ların biyogenezini üzerindeki epigenetik etkiler dışında, olgun miRNA'lar uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA) ve dairesel RNA'lar (circRNA) tarafından işlevlerini kaybedebilmektedir. lncRNA'ların ve circRNA'ların, miRNA'lara doğrudan bağlanarak miRNA süngeri gibi davrandıkları, dolayısıyla rollerini kısmen ortadan kaldırdıkları yaygın olarak rapor edilmiştir (Guil & Esteller, 2015). Üçlü negatif meme kanserinde (TNBC) yapılan son bir çalışmada, MTDH'nin indüklediği proliferasyonu, migrasyonu ve TNBC hücrelerinin istilasını inhibe ettiği varsayılan lncRNA FAM83H-AS1'in sekestre miR-136-5p'yi tanımlanmıştır (Han, Fu, Zeng, Yin, & Li, 2020). CircRNA circFUT8 aşağı regüle edildiği ve miR-570-3p/KLF10 eksenini yoluyla mesane kanserinde tümör baskılayıcı olduğu kanıtlanmıştır (Q. He ve ark., 2020). Birçok kanserde hem pri-miRNA hem de mRNA işlemede m6A modifikasyonlarının kuralsızlaştırılması keşfedilmiştir. METTL3 ve METTL14'ün bazı kanser türlerinde oldukça bol olduğu bulunmuştur; bunlar, m6A modifikasyonu yoluyla hedeflenen mRNA'ların translasyonunu teşvik ederek onkogenik rollerini ortaya koymaktadırlar (Pan, Ma, Liu, Li, & Shu, 2018). Ayrıca, HCC'de m6A'ya bağımlı bir şekilde DGCR8'i alarak pri-miRNA işlemini değiştirebildikleri gösterilmiştir (Alarcón, Lee, Goodarzi, Halberg, & Tavazoie, 2015).

Son yapılan çalışmalara göre, eksozomlar, mikropartiküller, ektozomlar, büyük onkozomlar, eksozom benzeri veziküller ve apoptotik veziküller dahil olmak üzere tümör mikro çevredeki (TME) birçok hücre tipi tarafından salgılanan

çok sayıda hücre dışı veziküllerin mevcut olduğunu gösterilmiştir (Jurj ve ark., 2020). DNA fragmanları, mRNA'lar ve kodlamayan RNA'lar içerirler ve premetastatik niş oluşumunun erken aşamalarında hücreler arasında önemli iletişim kuran haberciler olarak hizmet ederler ve EMT ve metastatik ilerleme ile kritik olarak ilişkili olduğu bilimektedir (Ni ve ark., 2019). Örneğin, eksozomal miR-200b, pankreas duktal adenokarsinomunda (PDAC) daha yüksek olduğu ve genel sağkalımın daha kısa olduğunu tespit edilmiştir (Reese, Flammang, Yang, & Dhayat, 2020). Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) hücresinden türetilen ekzomların, RCAN1.4'ü baskılayarak kanser hücrelerinin büyümesini ve metastazı indükleyen miR-619-5p'yi aşırı eksprese ettiği rapor edilmiştir (D. H. Kim ve ark., 2020). Ek olarak, parakanseröz hücrelere transloke edilen miRNA'lar, tümör mikro çevreyi şekillendirmek için onkogenik sinyaller oluşturmaktadır. Kolon-rektal kanser (KRK) hücrelerinin metastatik öncesi nişinde, eksozomal miR-25-3p, vasküler geçirgenliği ve anjiyogenezi teşvik etmede önemli rollere sahip olduğu belirtilmiştir (Zeng ve ark., 2018). KRK'den türetilmiş hücre dışı veziküllere maruz kalan BRACA1-KO fibroblastları, muhtemelen hücre dışı veziküllerdeki kanser DNA'sı, mRNA ve miRNA'ların neden olduğu fenotipik dönüşüme uğradığı öne sürülmüştür (Abdough ve ark., 2019).

Epigenetik, genetik değişikliklerden bağımsız bir dizi dinamik değişikliği temsil eder. Kanserde dinamik ve tersine çevrilebilir epigenetik düzenlemenin sağladığı fayda, kanser gelişimi alanında devrim yaratmış ve dolayısıyla onu kanser tedavisi için çekici bir hedef haline getirmiştir. Onkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin açık ve kapalı durumlarını ve ayrıca tümör mikro çevrenin yeniden yapılanmasını düzenleyerek tümör oluşumunda ve gelişiminde kritik rol oynarlar. Dikkat çekici bir şekilde, epigenetik modifikasyonlar kalıtsal ve geri dönüşümlü düzenlemelerin özelliklerini taşımaktadır ve bu da onları kanser tedavisi için umut verici bir hedef haline getirmektedir. Ek olarak epigenetik araştırmalar, yeni biyobelirteçlerin keşfi için ağ ve hassas tıp yaklaşımlarına odaklanmalıdır, böylece bunlar uygun klinik denemelerden sonra güvenli bir şekilde kliniğe aktarılabilir.

KAYNAKÇA

- Abdouh, M., Floris, M., Gao, Z. H., Arena, V., Arena, M., & Arena, G. O. (2019). Colorectal cancer-derived extracellular vesicles induce transformation of fibroblasts into colon carcinoma cells. *J Exp Clin Cancer Res*, 38(1), 257. doi:10.1186/s13046-019-1248-2
- Alarcón, C. R., Lee, H., Goodarzi, H., Halberg, N., & Tavazoie, S. F. (2015). N 6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*, 519(7544), 482-485.
- Baylin, S. B. (2005). DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nature clinical practice Oncology*, 2(Suppl 1), S4-S11.
- Berdasco, M., & Esteller, M. (2019). Clinical epigenetics: seizing opportunities for translation. *Nature Reviews Genetics*, 20(2), 109-127.
- Bird, A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature*, 447(7143).
- Blanco, E., González-Ramírez, M., Alcaine-Colet, A., Aranda, S., & Di Croce, L. (2020). The Bivalent Genome: Characterization, Structure, and Regulation. *Trends Genet*, 36(2), 118-131. doi:10.1016/j.tig.2019.11.004
- Cheng, Y., He, C., Wang, M., Ma, X., Mo, F., Yang, S., . . . Wei, X. (2019). Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: mechanisms and advances in clinical trials. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4(1), 62. doi:10.1038/s41392-019-0095-0
- Chi, P., Allis, C. D., & Wang, G. G. (2010). Covalent histone modifications—miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nature Reviews Cancer*, 10(7), 457-469.
- Cui, H., Hu, Y., Guo, D., Zhang, A., Gu, Y., Zhang, S., . . . Li, Y. (2018). DNA methyltransferase 3A isoform b contributes to repressing E-cadherin through cooperation of DNA methylation and H3K27/H3K9 methylation in EMT-related metastasis of gastric cancer. *Oncogene*, 37(32), 4358-4371.
- Davalos, V., & Esteller, M. (2023). Cancer epigenetics in clinical practice. *CA: a cancer journal for clinicians*, 73(4), 376-424.
- Davalos, V., Moutinho, C., Villanueva, A., Boque, R., Silva, P., Carneiro, F., & Esteller, M. (2012). Dynamic epigenetic regulation of the microRNA-200 family mediates epithelial and mesenchymal transitions in human tumorigenesis. *Oncogene*, 31(16), 2062-2074.
- Dhar, S. S., Lee, S.-H., Chen, K., Zhu, G., Oh, W., Allton, K., . . . Barton, M. C. (2016). An essential role for UTX in resolution and activation of bivalent promoters. *Nucleic acids research*, 44(8), 3659-3674.

- Ding, X., He, M., Chan, A. W., Song, Q. X., Sze, S. C., Chen, H., . . . Lai, P. B. (2020). Genomic and epigenomic features of primary and recurrent hepatocellular carcinomas. *Gastroenterology*.
- Dubuc, A. M., Remke, M., Korshunov, A., Northcott, P. A., Zhan, S. H., Mendez-Lago, M., . . . Morrissy, A. S. (2013). Aberrant patterns of H3K4 and H3K27 histone lysine methylation occur across subgroups in medulloblastoma. *Acta neuropathologica*, 125, 373-384.
- Easwaran, H., Tsai, H.-C., & Baylin, S. B. (2014). Cancer epigenetics: tumor heterogeneity, plasticity of stem-like states, and drug resistance. *Molecular cell*, 54(5), 716-727.
- Esteller, M. (2007). Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nature Reviews Genetics*, 8(4), 286-298.
- Feinberg, A. P., & Vogelstein, B. (1983). Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature*, 301(5895), 89-92.
- Feng, S., & De Carvalho, D. D. (2022). Clinical advances in targeting epigenetics for cancer therapy. *The FEBS journal*, 289(5), 1214-1239.
- Figueroa, M. E., Abdel-Wahab, O., Lu, C., Ward, P. S., Patel, J., Shih, A., . . . Fernandez, H. F. (2010). Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer cell*, 18(6), 553-567.
- Guil, S., & Esteller, M. (2015). RNA–RNA interactions in gene regulation: the coding and noncoding players. *Trends in biochemical sciences*, 40(5), 248-256.
- Hahn, M. A., Li, A. X., Wu, X., Yang, R., Drew, D. A., Rosenberg, D. W., & Pfeifer, G. P. (2014). Loss of the polycomb mark from bivalent promoters leads to activation of cancer-promoting genes in colorectal tumors. *Cancer research*, 74(13), 3617-3629.
- Han, C., Fu, Y., Zeng, N., Yin, J., & Li, Q. (2020). LncRNA FAM83H-AS1 promotes triple-negative breast cancer progression by regulating the miR-136-5p/metadherin axis. *Aging (Albany NY)*, 12(4), 3594-3616. doi:10.18632/aging.102832
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31-46.
- He, J., Zhou, M., Li, X., Gu, S., Cao, Y., Xing, T., . . . Zou, Q. (2020). SLC34A2 simultaneously promotes papillary thyroid carcinoma growth and invasion through distinct mechanisms. *Oncogene*, 39(13), 2658-2675. doi:10.1038/s41388-020-1181-z

- He, Q., Yan, D., Dong, W., Bi, J., Huang, L., Yang, M., . . . Lin, T. (2020). circRNA circFUT8 upregulates Krüppel-like factor 10 to inhibit the metastasis of bladder cancer via sponging miR-570-3p. *Molecular Therapy-Oncolytics*, *16*, 172-187.
- Hurteau, G. J., Carlson, J. A., Spivack, S. D., & Brock, G. J. (2007). Overexpression of the microRNA hsa-miR-200c leads to reduced expression of transcription factor 8 and increased expression of E-cadherin. *Cancer research*, *67*(17), 7972-7976.
- Ilango, S., Paital, B., Jayachandran, P., Padma, P. R., & Nirmaladevi, R. (2020). Epigenetic alterations in cancer. *FBL*, *25*(6), 1058-1109. doi:10.2741/4847
- Jurj, A., Zanoaga, O., Braicu, C., Lazar, V., Tomuleasa, C., Irimie, A., & Berindan-Neagoe, I. (2020). A comprehensive picture of extracellular vesicles and their contents. Molecular transfer to cancer cells. *Cancers*, *12*(2), 298.
- Kim, D. H., Park, S., Kim, H., Choi, Y. J., Kim, S. Y., Sung, K. J., . . . Rho, J. K. (2020). Tumor-derived exosomal miR-619-5p promotes tumor angiogenesis and metastasis through the inhibition of RCAN1.4. *Cancer Lett*, *475*, 2-13. doi:10.1016/j.canlet.2020.01.023
- Kim, J. H., Dhanasekaran, S. M., Prensner, J. R., Cao, X., Robinson, D., Kalyana-Sundaram, S., . . . Iyer, M. (2011). Deep sequencing reveals distinct patterns of DNA methylation in prostate cancer. *Genome research*, *21*(7), 1028-1041.
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin modifications and their function. *Cell*, *128*(4), 693-705.
- Lhoumaud, P., Badri, S., Rodriguez-Hernaez, J., Sakellaropoulos, T., Sethia, G., Kloetgen, A., . . . Bonneau, R. (2019). NSD2 overexpression drives clustered chromatin and transcriptional changes in a subset of insulated domains. *Nature communications*, *10*(1), 4843.
- Lu, Y., Chan, Y. T., Tan, H. Y., Li, S., Wang, N., & Feng, Y. (2020). Epigenetic regulation in human cancer: the potential role of epi-drug in cancer therapy. *Mol Cancer*, *19*(1), 79. doi:10.1186/s12943-020-01197-3
- Mack, S. C., Witt, H., Piro, R., Gu, L., Zuyderduyn, S., Stütz, A., . . . Zayne, K. (2014). Epigenomic alterations define lethal CIMP-positive ependymomas of infancy. *Nature*, *506*(7489), 445-450.
- Majumdar, S., Buckles, E., Estrada, J., & Koochekpour, S. (2011). Aberrant DNA methylation and prostate cancer. *Current genomics*, *12*(7), 486-505.
- Malouf, G. G., Taube, J. H., Lu, Y., Roysarkar, T., Panjarian, S., Estecio, M. R., . . . Long, H. (2013). Architecture of epigenetic reprogramming following Twist1-mediated epithelial-mesenchymal transition. *Genome biology*, *14*(12), 1-17.

- Marini, A., Mirmohammadsadegh, A., Nambiar, S., Gustrau, A., Ruzicka, T., & Hengge, U. R. (2006). Epigenetic inactivation of tumor suppressor genes in serum of patients with cutaneous melanoma. *Journal of Investigative Dermatology*, 126(2), 422-431.
- Mattei, A. L., Bailly, N., & Meissner, A. (2022). DNA methylation: a historical perspective. *Trends in Genetics*, 38(7), 676-707.
- Messier, T. L., Boyd, J. R., Gordon, J. A., Stein, J. L., Lian, J. B., & Stein, G. S. (2016). Oncofetal epigenetic bivalency in breast cancer cells: H3K4 and H3K27 tri-methylation as a biomarker for phenotypic plasticity. *Journal of cellular physiology*, 231(11), 2474-2481.
- Mirmohammadsadegh, A., Marini, A., Nambiar, S., Hassan, M., Tannapfel, A., Ruzicka, T., & Hengge, U. R. (2006). Epigenetic silencing of the PTEN gene in melanoma. *Cancer research*, 66(13), 6546-6552.
- Ni, J., Bucci, J., Malouf, D., Knox, M., Graham, P., & Li, Y. (2019). Exosomes in cancer radioresistance. *Frontiers in oncology*, 9, 869.
- Pan, Y., Ma, P., Liu, Y., Li, W., & Shu, Y. (2018). Multiple functions of m⁶A RNA methylation in cancer. *Journal of hematology & oncology*, 11, 1-11.
- Park, S.-M., Gaur, A. B., Lengyel, E., & Peter, M. E. (2008). The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes & development*, 22(7), 894-907.
- Pathak, A., Tomar, S., & Pathak, S. (2023). Epigenetics and Cancer: A Comprehensive Review. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology*, 8(1), 75-89.
- Reese, M., Flammang, I., Yang, Z., & Dhayat, S. A. (2020). Potential of Exosomal microRNA-200b as Liquid Biopsy Marker in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancers (Basel)*, 12(1). doi:10.3390/cancers12010197
- Rezaei, T., Amini, M., Hashemi, Z. S., Mansoori, B., Rezaei, S., Karami, H., . . . Baradaran, B. (2020). microRNA-181 serves as a dual-role regulator in the development of human cancers. *Free Radic Biol Med*, 152, 432-454. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.043
- Richter, A. M., Woods, M. L., Küster, M. M., Walesch, S. K., Braun, T., Boettger, T., & Dammann, R. H. (2020). RASSF10 is frequently epigenetically inactivated in kidney cancer and its knockout promotes neoplasia in cancer prone mice. *Oncogene*, 39(15), 3114-3127. doi:10.1038/s41388-020-1195-6
- Sastry, N. G., Wan, X., Huang, T., Alvarez, A. A., Pangeni, R. P., Song, X., . . . Cheng, S. Y. (2020). LY6K promotes glioblastoma tumorigenicity via CAV-1-mediated ERK1/2 signaling enhancement. *Neuro Oncol*, 22(9), 1315-1326. doi:10.1093/neuonc/noaa032

- Shen, H., & Laird, P. W. (2013). Interplay between the cancer genome and epigenome. *Cell*, 153(1), 38-55.
- Waddington, C. H. (2012). The epigenotype. *International journal of epidemiology*, 41(1), 10-13.
- Weinstein, J. N., Collisson, E. A., Mills, G. B., Shaw, K. R., Ozenberger, B. A., Ellrott, K., . . . Stuart, J. M. (2013). The cancer genome atlas pan-cancer analysis project. *Nature genetics*, 45(10), 1113-1120.
- Wiklund, E. D., Bramsen, J. B., Hulf, T., Dyrskjøt, L., Ramanathan, R., Hansen, T. B., . . . Borre, M. (2011). Coordinated epigenetic repression of the miR-200 family and miR-205 in invasive bladder cancer. *International journal of cancer*, 128(6), 1327-1334.
- Xiao, C., Wu, G., Zhou, Z., Zhang, X., Wang, Y., & Song, G. (2019). RBBP6, a RING finger-domain E3 ubiquitin ligase, induces epithelial-mesenchymal transition and promotes metastasis of colorectal cancer. *Cell Death Dis.* 2019; 10 (11): 833. In.
- Yu, Z., Feng, J., Wang, W., Deng, Z., Zhang, Y., Xiao, L., . . . Wu, M. (2020). The EGFR-ZNF263 signaling axis silences SIX3 in glioblastoma epigenetically. *Oncogene*, 39(15), 3163-3178. doi:10.1038/s41388-020-1206-7
- Zeng, Z., Li, Y., Pan, Y., Lan, X., Song, F., Sun, J., . . . Liang, L. (2018). Cancer-derived exosomal miR-25-3p promotes pre-metastatic niche formation by inducing vascular permeability and angiogenesis. *Nat Commun*, 9(1), 5395. doi:10.1038/s41467-018-07810-w
- Zhao, S., Allis, C. D., & Wang, G. G. (2021). The language of chromatin modification in human cancers. *Nature Reviews Cancer*, 21(7), 413-430.

BÖLÜM 35

SU KALİTE İNDEKSİNİN İZLENMESİNDE ASİMETRİK KALİTE KONTROL GRAFİKLERİ

*Dr. Öğr. Üy. Barış ERGÜL¹
Prof. Dr. Arzu ALTIN YAVUZ²*

¹ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü
Orcid: 0000-0002-1811-5143

² Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü
Orcid: 0000-0002-3277-740X

1. GİRİŞ

Kalite kontrol çalışmalarında amaç, üretilen ürünlerin ihtiyaçlara uygun olmasını sağlamak ve kusurlu olan üretimlerin sayısını azaltmaktır. Bu aşamada çoğunlukla İstatistiksel Süreç Kontrolü (İSK)'nden yararlanılmaktadır. İSK, amaca uygun ürünlerin üretilmesinde kontrol mekanizması sağlayan istatistiksel yöntemler bütünüdür. Ürünlerin müşteri beklentilerini karşılayabilmesi için kalite karakteristikleri istenilen değerler aralığında minimum değişikliklerle üretilmelidir. İSK, süreç kararlılığını sağlamada ve kapasiteyi iyileştirmede etkili olan güçlü problem çözme araçlarının kombinasyonudur (Montgomery, D.C., 2009).

İSK, kolaylıkla uygulanabilen ve istenilen sürece uyarlanabilen bir yöntemdir. Süreci kontrol etmek için yedi araç kullanılır: histogram, çetele diyagramı, pareto analizi, neden-sonuç diyagramı, kusur konsantrasyon diyagramı, dağılım diyagramı ve kontrol grafikleri (Shewhart, 1931).

İstatistiksel süreç kontrolünün temel amacı, süreci inceleyerek olumsuz birimlerin üretilmeden önce süreç kaymasının nedenlerini belirlemektir. Kontrol grafikleri süreci izleme yöntemi olarak kullanılır. Ayrıca kontrol grafikleri, bir üretim sürecinin parametrelerini tahmin etmeye yardımcı olabilir ve süreçteki değişkenliği azaltmada etkilidir (Montgomery, D.C., 2009).

Süreç kontrolünde yaygın olarak kullanılan araçlardan biri kontrol grafikleridir ve ilk olarak 1931'de Walter A. Shewhart tarafından önerilmiştir. Shewhart grafiği olarak da bilinen bu grafikler, kalite karakteristikleri normal veya yaklaşık olarak normal dağılıma sahip olduğunu varsayar. Ancak, günümüzde özellikle üretimin durmaksızın yapıldığı otomasyon sistemlerinde bu varsayım geçerli olmayabilir.

Bu durumda, çarpık anakitlelerin kontrol altına alınabilmesi için üç yaklaşım önerilmiştir. Öncelikle, örnek boyutunu artırarak örnek ortalamasının yaklaşık olarak normal dağılmasını sağlamak bir seçenektir, ancak bu genellikle maliyetli bir yöntemdir. İkinci olarak, temel dağılımın bilindiği ve istenen yanlış alarm oranlarını sağlayan kesin kontrol grafiklerinin oluşturulduğu varsayılır, ancak temel dağılım bilinmiyorsa bu yöntem kullanılamaz. Üçüncüsü, asimetrik kontrol sınırlarını kullanan yaklaşımlar da önerilmiştir (Bai ve Choi, 1995; Qui, P., 2014).

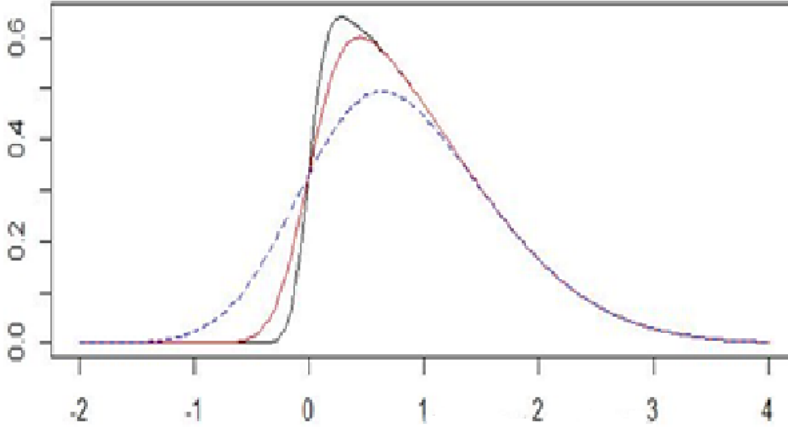
Üçüncü yaklaşım olan asimetrik sınırları kullanan yöntemlerden biri, Choobineh ve Ballard (1987) tarafından tanımlanan Ağırlıklı Varyans (AV) yöntemidir. Bu yöntemde, çarpık dağılımlar için örneklem ortalamalarının ve değişim aralıklarının standart sapmasına dayanarak asimetrik kontrol sınırları

elde edilir. İkinci yaklaşım ise Bai ve Choi (1995) tarafından önerilen Ağırlıklı Standart Sapmalar (ASS) yöntemidir. Son yaklaşım ise kalite karakteristiğinin dağılımı üzerinde herhangi bir varsayım olmaksızın süreç dağılımının çarpıklık derecesi dikkate alınarak önerilen Düzeltmiş Çarpıklık (DÇ) yöntemidir (Chan ve Cui, 2003).

Bir rastgele değişkeni X çarpık normal dağılıma sahip ise, değişkenin ortalaması, yayılımı ve şekli şu şekilde ifade edilebilir:

$$f(x; \xi, \sigma, \lambda) = \frac{2}{\sigma} \phi\left(\frac{x-\xi}{\sigma}\right) \Phi\left(\lambda \frac{x-\xi}{\sigma}\right), \quad -\infty < x < \infty, \quad (1)$$

Burada, ϕ ve Φ sırasıyla, standart normal dağılımın oyf ve bdf belirtir. (1) denklemindeki ξ, σ ve λ parametreleri sırasıyla konum parametresini, ölçek parametresini ve çarpıklık parametresini temsil eder (Azzalini,1985).



Şekil 1. Çarpık normal dağılım grafiği

Çarpık normal dağılım, normal dağılımdan daha esnek olduğu için geniş bir dağılım sınıfını temsil eder. Bu nedenle, çarpık normal dağılıma sahip veri setlerinde süreç ortalamasını ve dağılımını incelemek için kontrol kartları önerilmiştir. Grafik sabitleri, kontrol kartlarının sınırlarını ayarlamak için kullanılmaktadır ve simülasyon çalışması sonucunda çarpıklık arttıkça önerilen yeni kartların diğerlerinden daha iyi performans gösterdiği tespit edilmiştir (Li vd., 2014).

Sürecin normal bir modelden saparak çarpık bir normal dağılıma sahip olduğu durumlar, imalat ve kimya endüstrilerinde yaygın olarak karşılaşılan durumlardır. Azzalini'nin çarpık normal dağılımı (AÇN), bu tür işlemler için yaygın olarak

kullanılan bir modeldir. AÇN modelinde asimetri parametresindeki değişiklik hem ortalama hem de varyans üzerinde kaymalara neden olur (Li vd., 2019).

Tsai (2007) tarafından, normal olmayan verilerin süreç ortalamasını incelemek için çarpık normal dağılıma dayalı iki kontrol kartı ve süreç yetenek oranları geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin, yapılan uygulamalar sonucunda normal olmayan verilerin süreç ortalamasının tespitinde önemli ölçüde iyileştirmeler sağladığı tespit edilmiştir.

Tsai ve Chiang (2008) yılında, çarpık normal \bar{X} kontrol grafiğine dayalı olarak, normal olmayan verilerin süreç ortalaması ve normal olmama durumunun incelenmesi için, çarpık normal kabul kontrol kartı geliştirilmiştir.

Figueiredo ve Gomes, (2013) ise çalışmalarında normal dağılımı da içeren çarpık normal dağılım modelini kullanarak endüstriyel süreçleri incelemiştir. Çalışmada çarpık normal ve iki değişkenli normal süreçler için kontrol kartlarını geliştirerek performans analizi yapmıştır.

Bu çalışmada, Porsuk nehri için 2007-2017 yılları arasında elde edilen su kalite karakteristikleri yardımıyla hesaplanan su kalite indeksinin kalite kontrol limitlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kullanılacak veriler Devlet Su İşleri'nden elde edilmiştir. Çalışmada ilk olarak AR(1) modeline dayalı kalite kontrol grafikleri tanıtılmıştır. Daha sonra, kalite karakteristiklerinin dağılım şeklinin çarpık normal dağılım olması durumunda kullanılacak olan Ağırlıklı Varyans (AV), Ağırlıklı Standart Sapmalar (ASS) ve Düzeltmiş Çarpıklık (DÇ) yöntemi açıklanmıştır. Uygulama kısmında ise Porsuk nehri için elde edilen su kalite indeksi için bu yöntemlere dayalı kalite kontrol limitleri elde edilmiştir.

2.MATERYAL VE METOT

Y_t bir rassal değişken olmak üzere, bu değişkenin gözlem değerleri geçmişteki gözlem değerleri ile açıklanabiliyorsa, bu seri zaman serisi olarak adlandırılmaktadır. Bir zaman serisinde gözlemlerin eşit aralıklarda ölçülmesi gerekmektedir. Bir zaman serisi modeli, otoregresif (AR), hareketli ortalamalar (MA) veya bunların kombinasyonundan (ARMA) oluşmaktadır. AR modelleri, zaman serisinde belirli bir dönemin gözlem değerini, serinin geçmiş dönem gözlemlerine dayanarak açıklayan modellerdir. Bu çalışmada, AR(1) ele alınmış ve AR(1) modeline dayalı kalite kontrol grafikleri üzerinde durulmuştur.

2.1. Çarpık Normal Dağılım Durumunda AR(1) Modeline Dayalı Kalite Kontrol Grafikleri

AR(1) modeli kısaca aşağıdaki gibi tanımlanmaktadır.

$$Y_t = \xi + \phi_1 Y_{t-1} + \varepsilon_t \quad (2)$$

Burada, Y_t serinin güncel dönemdeki değerini, Y_{t-1} ise serinin bir önceki değerini göstermektedir. ε_t , ortalaması 0 ve varyansı σ_ε^2 olan normal dağılıma sahip hata terimidir.

AR(1) sürecinin ortalaması,

$$\mu = \frac{\delta}{1-\phi} \quad (3)$$

varyansı,

$$\gamma_0 = E(Y_t - \mu)^2 = \frac{\sigma_\varepsilon^2}{1-\phi^2} \quad (4)$$

ve otokovaryansı,

$$\gamma_k = E(Y_t - \mu)(Y_{t-k} - \mu) = \left[\frac{\phi^k}{1-\phi^2} \right] \sigma_\varepsilon^2, \quad k \geq 0 \quad (5)$$

şeklindedir. Otokorelasyon fonksiyonu (4) ve (5) eşitlikleri yardımıyla,

$$\rho_k = \frac{\gamma_k}{\gamma_0} = \phi^k, \quad k \geq 0 \quad (6)$$

elde edilir.

Çoğu üretim süreci, otokorelasyona sahiptir. Otokorelasyonun üstesinden gelmek için bir yaklaşım, süreç gözlemlerini zaman serilerine uydurmaktır. Zaman serisi modeli kullanarak artıklara standart kontrol grafikleri uygulama fikri, ilk olarak 1988 yılında Alwan ve Roberts tarafından ortaya atılmıştır.

X_t otokorelasyonlu gözlemler olmak üzere,

$$e_t = X_t - \widehat{X}_t$$

artıklar şeklinde hesaplanabilir.

\widehat{X}_t t zamanında X_t 'nin tahmin değeri olmak üzere, artıklara dayalı Shewart kontrol kartı için hesaplanan karakteristikler aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned} AKL &= \bar{e} - 3\sigma_e \\ OÇ &= \bar{e} \\ ÜKL &= \bar{e} + 3\sigma_e \end{aligned} \quad (7)$$

OÇ, kontrol kartının orta çizgisini, AKL $3\sigma_e$ 'lık alt kontrol limitini ve ÜKL $3\sigma_e$ 'lık üst kontrol limitini göstermektedir. Burada ifade edilen kontrol limitleri klasik kalite kontrol grafiklerinin dayandığı normal dağılım varsayımının sağlanması durumunda geçerli olan limitlerdir. Ancak günümüzde normallik varsayımının sağlanmadığı birçok durumla karşılaşmaktadır. Çalışmada ele alınan çarpık normal dağılım için artıklara dayalı kontrol grafiğinin limitleri aşağıdaki gibidir.

$$\begin{aligned} AKL &= \bar{e} - \sigma_e(\gamma_1 z_{1-\frac{\alpha}{2}-\lambda} + \gamma_2) \\ ÜKL &= \bar{e} + \sigma_e(\gamma_1 z_{1-\frac{\alpha}{2}-\lambda} - \gamma_2) \end{aligned}$$

2.2. Asimetrik Kalite Kontrol Grafikleri

Bu kısımda, çarpık dağılımlar için önerilmiş olan 3 kalite kontrol grafiği ele alınmıştır.

2.2.1. Ağırlıklı Varyans Yöntemi

Ağırlıklı varyans yöntemi, dağılımın çarpıklığı göz önünde bulundurularak iki parçaya ayrılır. Her bir parçada, aynı ortalama değere ve farklı standart sapmalara sahip simetrik dağılımlar olduğu varsayılır. Bu iki dağılım, \bar{X} ve R kontrol grafiğinin sınırlarının belirlenmesinde kullanılır. Yani, bir dağılım üst kontrol limiti hesaplaması için kullanılırken diğeri alt kontrol limiti hesaplaması için kullanılır. Eğer dağılım sağa çarpıksa, üst kontrol limiti süreç ortalamasına olan uzaklığı alt kontrol limitinden daha büyük olur. Benzer şekilde, dağılım sola çarpıksa, alt kontrol limiti süreç ortalamasına olan uzaklığı üst kontrol limitinden daha büyük olur. Eğer dağılım simetriktir ise, üst ve alt kontrol limitlerinin süreç ortalamasına olan uzaklıkları aynıdır.

Ağırlıklı varyans yönteminde \bar{X} orta noktayı göstermek üzere kalite karakteristiği için alt ve üst limit değerleri aşağıdaki gibi belirlenir.

$$\begin{aligned} \text{ÜKL}_{\bar{X}} &= \bar{X} + 3 \frac{\bar{R}}{d_2^* \sqrt{n}} \sqrt{2\hat{P}_x} \\ \text{AKL}_{\bar{X}} &= \bar{X} - 3 \frac{\bar{R}}{d_2^* \sqrt{n}} \sqrt{2(1 - \hat{P}_x)} \end{aligned} \quad (8)$$

şeklinde (Choobineh ve Ballard, 1986; Bai ve Choi, 1995). Burada, $P_X = P(X \leq \mu)$ şeklinde hesaplanır.

2.2.2. Ağırlıklı Standart Sapma (ASS) Yöntemi

Ağırlıklı standart sapma yöntemi, çarpık bir dağılıma sahip olan veri setini iki parçaya böler ve her bir parçadan yeni simetrik dağılımlar elde eder. Yeni simetrik dağılımların standart sapmalarının toplamı σ olarak gösterilir ve $\sigma = \sigma_U + \sigma_A$ şeklinde hesaplanır.

Ağırlıklı standart sapma yöntemine dayalı olarak \bar{X} kontrol grafiğinin limitleri, süreç parametreleri bilinmediğinde aşağıdaki şekilde hesaplanır (Chang ve Bai, 2001).

$$\text{ÜKL}_{\bar{X}} = \bar{X} + 3 \frac{\bar{R}}{d_2^{**} \sqrt{n}} 2\hat{P}$$

$$\text{LCL}_{\bar{X}} = \bar{X} - 3 \frac{\bar{R}}{d_2^{**} \sqrt{n}} 2(1 - \hat{P})$$

2.2.3. Düzeltilmiş Çarpıklık Yöntemi

Düzeltilmiş çarpıklık yönteminde, kalite kontrol grafikleri oluşturulurken, kalite karakteristiğinin uygun olduğu çarpık dağılımın çarpıklık derecesi göz önünde bulundurulur. Bu yöntemde herhangi bir temel dağılım varsayımı bulunmamaktadır. Bu yöntemde amaç, geleneksel Shewhart grafiğinin limit değerlerini kalite karakteristiğinin çarpıklık düzeyine göre ayarlamaktır. Uygulamada kalite karakteristiğinin temel dağılımı bilinmediğinden kullanılacak olan kontrol limitleri aşağıdaki gibi belirlenir (Chan ve Cui, 2003).

$$UCL_{\bar{X}} = \bar{\bar{X}} + \left(3 + \frac{\frac{4\kappa_3}{3\sqrt{n}}}{1 + \frac{0.2\kappa_3^2}{n}} \right) \frac{\bar{R}}{d_2^* \sqrt{n}}$$

$$CL_{\bar{X}} = \bar{\bar{X}}$$

$$LCL_{\bar{X}} = \bar{\bar{X}} + \left(-3 + \frac{4\kappa_3/(3\sqrt{n})}{1 + 0.2\kappa_3^2/n} \right) \frac{\bar{R}}{d_2^* \sqrt{n}}$$

3. UYGULAMA

Bu çalışmada Porsuk nehri su kalitesinin izlenmesinde kullanılacak asimetrik kontrol limitleri yukarıda açıklanan yöntemler yardımıyla elde edilecektir. Su kalite indeksinin hesaplanmasında kullanılan su kalite karakteristikleri şu şekildedir: Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ-mg/L), pH (Alkalinite), Sıcaklık (T-°C), Fekal Koliform, çözünmüş oksijen (mgO₂ /L), bulanıklık, Toplam Çözünmüş Katılar (TDS -mg/L), Toplam Fosfor (mg/L), Nitrat (mg/L). Su kalite indeksinin hesaplanmasında ABD Ulusal Sanitasyon Vakfı Su Kalite İndeks (NFS-WQI) kriterleri ele alınmıştır. WQI indeksinin hesaplanmasında kullanılan parametrelere ilişkin etki değerleri aşağıda verilmiştir.

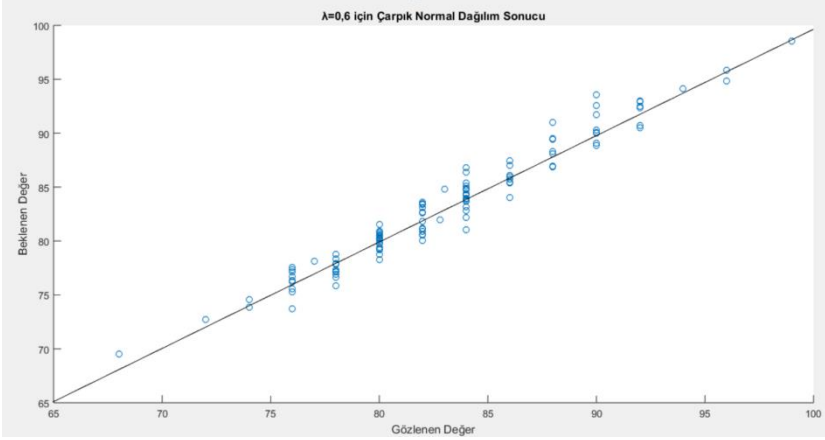
Tablo 1. WQI İndeksi için Hesaplama Kriterleri

Su Karakteristiği	Ağırlık
Çözünmüş Oksijen	0.17
Fekal Koliform	0.16
pH	0.11
BOİ	0.11
Nitrat	0.10
Sıcaklık	0.10
Fosfat	0.10
Bulanıklık	0.08
Toplam Katı Madde	0.07

Tablo 1'den hareketle WQI indeks değeri aşağıdaki gibi hesaplanır (Tyagi vd, 2013).

$$WQI = \sum_{i=1}^9 Q_i W_i$$

DSİ'den 2007-2017 yılları arasında aylık olarak elde edilen Porsuk nehri su kalite değerleri kullanılarak WQI değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen su indeksi değerlerinin dağılım şeklinin belirlenmesi için MATLAB programı yardımıyla gerekli analizler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2. WQI indeks değerleri için Q-Q Grafiği

Porsuk nehri su kalite indeks değerlerinin $\lambda = 0,6$ ile çarpık normal dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir. Daha sonra WQI indeks değerlerine ait zaman serisinin yapısının tespiti için R paket programı kullanılarak ARIMA modelleri araştırılmıştır. Box-Jenkins (ARIMA) modellerinde ilgili zaman serisinin yapısını açıklamak için en az parametre içeren modelin belirlenmesi hedeflenmektedir (Hamzaçebi ve Kutay, 2010).

Gerçekleştirilen analiz sonucunda, WQI indeks verilerinin AR(1) yapısında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 2. WQI indeksi için model tespiti

Model	ARIMA (1,0,0)	ARIMA (1,1,0)	ARIMA (0,0,1)
BIC değeri	65.43	72.81	90.06
Ljung-Box testi sonucu p değeri	0.227		

Tablo 2 incelendiğinde, modelin parametre tahminlerinin anlamlı olduğu görülmektedir. En düşük BIC değerine sahip olan model ARIMA(1,0,0) olduğundan bu model geçici uygun modeldir. ARIMA (1,0,0) modelinin uygunluğu için gerçekleştirilen Ljung-Box testi sonucunda p değeri 0.227 olarak elde edilmiştir ($p>0.05$).

Çalışmanın devamında, ARIMA (1,0,0) modeli yardımıyla WQI su indeksi değerleri için yukarıda ele alınan kalite kontrol grafiklerinin limitleri belirlenmiştir. Sonrasında limit dışında kalan gözlem sayıları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3 te verilmiştir.

Tablo 3. WQI İndeksi için Kontrol Grafiklerinin Karşılaştırılması

WQI İndeks Değeri	Kontrol Kartı	AKL	ÜKL	Kontrol Dışı Gözlem Sayısı
	Çarpık Normal	65.06	87.14	12
AV	66.54	91.48	15	
ASS	64.48	84.34	18	
DÇ	67.13	90.41	15	

Tablo 3 incelendiğinde kalite karakteristiğinin çarpık bir dağılıma sahip olması durumunda literatürde yaygın olarak kullanılan AV, ASS ve DÇ yöntemlerinden elde edilen kontrol limitlerine kıyasla, çarpık normal dağılıma dayalı olarak elde edilen kontrol kartı limitlerinin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Asimetrik kontrol limitleri yardımıyla WQI indeks değerlerinden kontrol dışı gözlem sayıları çarpık normal dağılım durumunda 12, AV kartında 13, ASS kartında 15 ve DÇ kartında 13 olarak tespit edilmiştir. Bu durum kalite karakteristiğinin dağılım şeklinin doğru olarak belirlenmesi durumunda diğer yaklaşımlara göre daha güvenilir sonuçlar elde edileceğinin bir göstergesidir.

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada kalite kontrol çalışmalarında yaygın olarak karşılaşılan otoregresif süreçlere uygun bir verinin normal dağılıma sahip olmaması durumunda klasik Shewhart kontrol grafiği yerine kullanılabilecek 4 farklı kalite kontrol grafiği tanıtılmıştır. Klasik kontrol grafiklerinde kalite karakteristiğinin normal dağılıma şartı sağlanmadığında kullanılabilecek AV, ASS ve DÇ yöntemleri ile, kalite karakteristiğinin çarpık normal dağılıma uyması durumunda kullanılan kontrol limitleri ele alınmıştır. Kalite karakteristiğinin dağılım şeklinin doğru bir biçimde tespit edilmesi elde edilen kalite limitlerinin güvenilir sonuçlar vermesini sağlamaktadır. Bu kontrol limitlerinin kullanılması ise izlenen süreçte olağan dışı gözlemlerin doğru bir şekilde tespit edilmesine olanak sağlayacaktır. Çalışmada Porsuk nehri su kalite gözlemleri yardımıyla elde edilen WQI indeks değerleri için 4 farklı yöntemle kontrol limitleri belirlenmiştir. Çarpık normal dağılım için belirlenen limitler kullanıldığında sadece 12 gözlem limit dışında iken, diğer yöntemlere göre daha fazla gözlemin limit dışında olduğu

belirlenmiştir. Bu durum yanlış alarm verme durumu ile karşılaşılmasına neden olabilecektir. Dağılımın doğru olarak tespit edilmesine dayalı olarak çarpık normal dağılıma ait kontrol limitlerinin kullanılması alınacak kararların güvenilirliğini arttıracaktır.

KAYNAKLAR

- Alwan, L. C., & Roberts, H. V. (1988). Time-series modeling for statistical process control. *Journal of Business and Economic Statistics*, 6, 86-95.
- Azzalini, A. (1985). A class of distributions which includes the normal ones. *Scandinavian Journal of Statistics*, 12,2, 171–78.
- Bai, D.S., & Choi, I.S. (1995). \bar{X} and R control charts for skewed populations. *Journal of Quality Technology*, 27,2, 120-131.
- Chan, L.K., & Cui, H.J. (2003). Skewness correction \bar{X} and R charts for skewed distributions. *Naval Research Logistics*, 50, 555 – 573.
- Chang, Y.S., & Bai, D.S. (2001). Control charts for positively-skewed populations with weighted standard deviation. *Quality and Reliability Engineering International*, 17, 397 -406.
- Choobineh, F., & Branting, D. (1986). A simple approximation for semivariance. *European Journal of Operational Research*, Elsevier, 27(3), 364-370.
- Figueiredo, F., & Gomes, M.I. (2013). The skew-normal distribution in SPC. *Revstat – Statistical Journal*, 11,1, 83-104.
- Hamzaçebi, C., & Kutay, F. (2004). Yapay sinir ağları ile Türkiye elektrik enerjisi tüketiminin 2010 yılına kadar tahmini. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 19 (3).
- Li, Chung-I., Su, Nan-Cheng., Su, Pei-Fang., & Shyr, Yu. (2014). The design \bar{X} of and R control charts for skew normal distributed data. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, 43:23, 4908-4924.
- Li, C., Mukherjee, A., Su, Q., & Xie, M. (2019). Some monitoring procedures related to asymmetry parameter of azzalini's skew-normal model. *Revstat - Statistical Journal*, 17,1, 1-24.
- Montgomery, D.C. (2009). Introduction to Statistical Process Control, John Wiley & Sons, Inc., p.13.
- Qui, P. (2013). *Introduction to Statistical Process Control*, Texts in Statistical Science, p.74.
- Shewhart, W.A. (1931). Economic Control of Quality of Manufactured Product. *American Society for Quality Control*, p.145.

- Tsai, Tzong-Ru. (2007). Skew normal distribution and the design of control charts for averages. *International Journal of Reliability, Quality and Safety Engineering*, 14,1, 49-63.
- Tsai, Tzong-Ru., & Chiang, Jyun-You. (2008). The design of acceptance control chart for non-normal data. *Journal of The Chinese Institute of Industrial Engineers*, 25:2, 127-135.
- Tyagi, S., Sharma, B., Singh, P., & Dobhal, R. (2013) Water Quality Assessment in Terms of Water Quality Index. *American Journal of Water Resources*, 1(3): 34-38.

BÖLÜM 36

TIBBİ VERİLERİN ÇOK DEĞİŞKENLİ LOJİSTİK REGRESYON ANALİZİ YARDIMI İLE İNCELENMESİ

*Dr. Öğr. Üy. Barış ERGÜL¹
Prof. Dr. Arzu ALTIN YAVUZ²*

¹ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü
Orcid: 0000-0002-1811-5143

² Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü
Orcid: 0000-0002-3277-740X

Giriş

Anemi, vücuttaki kırmızı kan hücrelerinin sayısının veya hemoglobin seviyesinin normalin altında olması durumudur. Sigara içmenin ise sağlık üzerinde birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır. Kalp yetersizliği ise kalp kasının kan akışının kesilmesi sonucu oluşan ciddi bir durumdur. Bu üç konu arasında bir ilişki bulunup bulunmadığı, anemi ile sigara içme alışkanlığı ve kalp yetersizliği arasındaki ilişki bilimsel araştırmalarla incelenmektedir (Çavuşoğlu vd., 2017).

Birçok çalışma, aneminin kalp yetersizliği riskini artırabileceğini göstermektedir. Anemi, vücuttaki oksijen taşıma kapasitesini azaltarak kalp kasının daha fazla çalışmasına neden olmaktadır. Bu durum, kalp yetersizliği riskini artırmaktadır. Ayrıca, anemisi olan kişilerde kanın pıhtılaşma eğilimi arttırır ve bu da kalp yetersizliği riskini artırmaktadır. Benzer şekilde, sigara içmenin ise anemi riskini artırdığı bilinmektedir. Sigara dumanı, vücuttaki demir emilimini azaltarak anemi riskini artırmaktadır (Uçar, 2006).

Sigara içmenin kalp yetersizliği riskini artırdığı ise bilinen bir gerçektir. Sigara dumanı, damar duvarlarında plak oluşumuna neden olarak damarların tıkanmasına ve kan akışının azalmasına yol açmaktadır. Ayrıca, sigara dumanı, kan basıncını yükseltir ve kalp kasının daha fazla çalışmasına neden olmaktadır (Gücün, 2009).

Diyabet, kalp yetersizliği riskini artıran bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Çünkü yüksek kan şekeri seviyeleri, kalp ve damar hastalıklarına yol açabilecek damar hasarı riskini arttırır. Aynı zamanda diyabet, yüksek tansiyon ve yüksek kolesterol gibi diğer risk faktörlerini de tetiklemektedir (Kayar vd., 2019).

Yapılan birçok çalışmada sigara içiciliği ile tip 2 diyabet gelişme riskinin arttığı, diyabetik hastalarda da kötü glisemik kontrol ve diyabetik komplikasyonların gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, tütün içiciliği DM hastalarında mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların daha erken dönemde gelişmesi ve ilerlemesi ile ilişkili bulunmuştur (Kayar vd., 2019).

Yüksek kan basıncı, arter duvarlarına fazla basınç uygulanması sonucu oluşur ve kalp yetersizliği riskini artırmaktadır (Tatar, 1991). Kan basıncı yüksek olduğunda, kalp daha fazla çalışmak zorunda kalır ve bu durum zamanla kalp kaslarını zayıflatır. Ayrıca yüksek kan basıncı, arter duvarlarında plak oluşumuna ve arterlerin daralmasına neden olabilir, bu da kalp yetersizliği riskini artırmaktadır. Kan basıncı ile sigara içme ve kalp yetersizliği arasındaki ilişki,

kardiyovasküler hastalıkların önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır (Karadakovan, 1989). Yüksek kan basıncı ve sigara içme, kalp yetersizliği gelişme riskini arttırmaktadır (Tatar, 1991).

Tıp alanındaki çalışmalarda genel olarak temel istatistiksel analiz teknikleri kullanılarak sonuca gidilmeye çalışılmaktadır. Günümüzde, artık çok değişkenli veri setleri ile çalışmak zorunlu hale gelmiştir. Bu nedenlerden ötürü bu çalışmada, tıp alanında yapılan istatistiksel analiz çalışmalarına yeni bakış getirilmesi üzerinde düşünülmüş ve istatistik literatüründe yeni kullanılmaya başlanan çok değişkenli lojistik regresyon analizi tanıtılmıştır.

Materyal ve Metot

Çok değişkenli veriler ile analiz, son yıllarda spor, görüntüleme analizi ve metin madenciliği gibi modern uygulama alanlarında bol miktarda kullanılmaktadır. Bağımlı değişken, sürekli ve sayısı birden fazla olduğu durumda, ek olarak hata terimleri matrisi çok değişkenli normallik varsayımını sağlıyorsa, çok değişkenli regresyon modeli benimsenerek analiz sürdürülür. Bağımlı değişken sürekli olmadığında ve sayısı birden fazla ise, daha açık ifade ile bağımlı değişken iki düzeye sahip birden fazla değişken içeriyorsa, bu durumda uygulanacak istatistiksel analizin, çok değişkenli lojistik regresyon analizi olacağı açıktır.

Çok değişkenli genelleştirilmiş doğrusal modeller için teori iki varsayımaya dayanmaktadır. İlk varsayım, dağılım varsayımının sağlamasıdır. Dağılım varsayımının sağlamasının şartı ise, dağılımın üstel aileden gelmesidir (Fahrmeir & Tutz, 2001).

Çok terimli dağılım, üstel aileden gelmektedir. Bu, çok değişkenli genelleştirilmiş doğrusal modeller teorisinin uygulanabileceği anlamına gelmektedir. (Fahrmeir & Tutz, 2001). En çok olabilirlik tahmini, çok terimli lojit regresyonun lojit link fonksiyonu ile eşleştirilmesiyle elde edilir.

Link fonksiyonu, bağımlı değişken sayısı ($j = 1, 2, \dots, J$) ile bu bağımlı değişkene ait olasılıklar göz önüne alınarak kullanılır: (1) ile verilen lojit link kullanılarak, bağımlı değişkene ait olasılıklar bulunur.

$$\pi_j(x) = \frac{\exp(\beta_j^T x)}{1 + \sum_{k=1}^{J-1} \exp(\beta_k^T x)}, j = 1, \dots, J \quad (1)$$

Burada, $\beta_j = (\beta_{j0}, \dots, \beta_{jp})$, $1 \leq j \leq J$ regresyon parametreleri ve $x = (x_{i0}, \dots, x_{ip})^T$, $1 \leq i \leq n$ ile tanımlanan tasarım matrisi veya bağımsız değişkenler matrisinin alt kümesidir.

Çok terimli lojit regresyon modelinin Newton-Raphson algoritması kullanarak çözümünü yapmak için, regresyon parametrelerinin log-olabilirliğinin alınması gerekmektedir. n bağımsız gözlem için çok terimli dağılım ve önerilen link fonksiyonu ile log-olabilirlik fonksiyonu (2) eşitliğinde verildiği gibidir.

$$\ell(\beta|x, n) = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{J-1} y_i \log \frac{\pi_j(x_i)}{1 - \sum_{k=1}^{J-1} \pi_k(x_i)} + \log(1 - \sum_{k=1}^{J-1} \pi_k(x_i)) \quad (2)$$

Log-olabilirlik fonksiyonu konkav bir fonksiyondur ve Newton-Rapson algoritması ile çözümü, En çok olabilirlik kestirimine yakınsayacaktır. Burada, genel model verilmiştir. Uygulama çalışmasında üç bağımlı değişken ($J = 3$) kullanılacağından, burada kullanılan modelin özel bir halidir.

Çok terimli dağılımla karşılaştırıldığında, Dirichlet çok terimli dağılımı, üstel aileye aittir. Regresyon analizi yapmak için, bağımsız değişkenler ve parametreleri arasında bir link işlevi seçilmesi gereklidir. Farklı link fonksiyonlarının seçimi mümkündür (Zhang & Zhou, 2014). Bu link fonksiyonu, bağımlı değişken sayısı ($j = 1, 2, \dots, J$) ile bu bağımlı değişkene ait olasılıklar göz önüne alınarak kullanılır:

$$\alpha_j(x_i) = \exp(\beta_j^T x_i) \quad (3)$$

Burada, $\beta_j = (\beta_{j0}, \dots, \beta_{jp})$, $1 \leq j \leq J$ regresyon parametreleri ve $x_i = (x_{i0}, \dots, x_{ip})^T$, $1 \leq i \leq n$ ile tanımlanan tasarım matrisi veya bağımsız değişkenler matrisinin alt kümesidir.

Link fonksiyonu, Chen ve Li (2013) tarafından tanımlanmıştır. Log-link bağlantısını kullanılarak aşağıdaki model elde edilir:

$$\pi_j(x_i) = \frac{\alpha_j(x_i)}{\sum_{k=1}^J \alpha_k(x_i)} = \frac{\exp(\beta_j^T x_i)}{\sum_{k=1}^J \exp(\beta_k^T x_i)}, j = 1, \dots, J \quad (4)$$

Şimdi, n bağımsız gözlem, Dricihlet-çok terimli dağılımı ve önerilen link fonksiyonu ile regresyon parametreleri için log-olabilirlik fonksiyonu (5) eşitliğindeki gibidir: (Chen & Li, 2013)

$$\ell(\beta|x, n) = \sum_{i=1}^n [\log \Gamma(\sum_{j=1}^J \alpha_j(x_i)) - \log \Gamma(\sum_{j=1}^J n_{ij} + \sum_{j=1}^J \alpha_j(x_i)) + \sum_{j=1}^J \log \Gamma(n_{ij} + \alpha_j(x_i)) - \log \Gamma(\alpha_j(x_i))] \quad (5)$$

Gama fonksiyonu türevlenebilir ve bu nedenle, skor vektörü ve Hessian matrisi analitik olarak hesaplanabildiğinden, Newton-Raphson yöntemi için bileşenlerin bulunmasında herhangi bir sorun teşkil etmemelidir (Thorsen, 2014).

Burada, genel model verilmiştir. Uygulama çalışmasında üç bağımlı değişken ($J = 3$) kullanılacağından, burada kullanılan modelin özel bir halidir.

Bulgular

Bu çalışma için seçilen veri seti, tıp alanından seçilmiş olup, çeşitli hastalardan alınan kalp verilerden oluşan heart veri seti kullanılmıştır. Veri seti; anemi, diyabet, kan basıncı, sigara içme ve kalp krizi gibi değişkenleri içermektedir. İlgili veri seti, çeşitli düzenlemeler yapıldıktan sonra, 297 hastadan alınan verilerden oluşmaktadır.

Burada, bağımlı değişkenler aşağıda belirtildiği gibi seçilerek çok değişkenli lojistik regresyon analizi yapmaya uygun hale getirilmiştir.

$$Y_1 = \begin{cases} 1, & \text{Hastada anemi teşhisi yok} \\ 2, & \text{Hastada anemi teşhisi var} \end{cases}$$

$$Y_2 = \begin{cases} 1, & \text{Hastada diyabet teşhisi yok} \\ 2, & \text{Hastada diyabet teşhisi var} \end{cases}$$

$$Y_3 = \begin{cases} 1, & \text{Hastada yüksek tansiyon yok} \\ 2, & \text{Hastada yüksek tansiyon var} \end{cases}$$

Anemi, diyabet ve yüksek tansiyon riskini etkileyen bağımsız değişkenler aşağıdaki gibi belirlenmiştir.

$X_1 = \text{Sigara içme durumu}$

$X_2 = \text{Kalp yetersizliği olma durumu}$

Bağımlı ve bağımsız değişkenler oluşturulduktan sonra, R paketi kullanılarak çok değişkenli lojistik regresyon analizi (çok terimli dağılım) uygulanmış ve Tablo 1’de sonuçlar özetlenmiştir. Çok terimli dağılımın teorisinden gelen durumdan dolayı, bir adet bağımlı değişken analize alınmamıştır.

Tablo 1’den görülebileceği gibi Sigara içme durumu ve kalp yetersizliği olma durumu değişkenlerinin katsayı değeri için elde edilen p değeri 0,05’ten küçük olduğundan katsayıların anlamlı olduğuna karar verilmiştir. Çok terimli dağılımı ile kurulan model için bulunan AIC değeri, 741,566 olarak bulunmuştur.

Kategorik değişkenlerin son düzeyleri referans kategori olarak kabul edilerek, sigara içme değişkeni için Odds Ratio değeri 0,661 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, sigara içme değişkeninin anemi teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda sigara içme değişkeni için anemi teşhisi olmaması riskinin anemi teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, kalp yetersizliği olma değişkeni için Odds Ratio değeri 0,310 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, kalp yetersizliği değişkeninin anemi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda kalp yetersizliği değişkeni için anemi teşhisi olmaması riskinin anemi teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir.

Kategorik değişkenlerin son düzeyleri referans kategori olarak kabul edilerek, sigara içme değişkeni için Odds Ratio değeri 0,799 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, sigara içme değişkeninin diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda sigara içme değişkeni için diyabet teşhisinin olmaması riskinin diyabet teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir.

Benzer şekilde, kalp yetersizliği değişkeni için Odds Ratio değeri 0,491 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, kalp yetersizliği değişkeninin diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda kalp yetersizliği değişkeni için diyabet teşhisi olmaması riskinin diyabet teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir.

Tablo 1. Trafik Kazası veri seti için Çok Değişkenli Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları (Çok Terimli Dağılım)

Bağımsız değişkenler	Anemi	Diyabet	Wald	p	AIC
Sabit Terim	1,126	0,630	5,929	0,032	741,566
X_1	-0,414	-0,224	3,108	0,044	
X_2	-1,171	-0,711	7,276	0,021	

Sonraki aşamada, çok değişkenli lojistik regresyon analizi (Dirichlet çok terimli dağılım) uygulanmış ve Tablo 2’de sonuçlar özetlenmiştir. Dirichlet çok terimli dağılımı ile kurulan model için bulunan AIC değeri, 737,630 olarak bulunmuştur. Bu değer, çok terimli dağılım ile kurulan modelin AIC değerinden daha küçük olduğu için Dirichlet çok terimli dağılım için kurulan modelin kullanılması önerilmektedir.

Tablo 2. Trafik Kazası veri seti için Çok Değişkenli Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları (Dirichlet Çok Terimli Dağılım)

Bağımsız değişkenler	Anemi	Diyabet	Yüksek Tansiyon	Wald	p	AIC
Sabit Terim	7,934	7,438	6,808	6,038	0,028	737,630
X_1	-0,316	-0,127	0,099	3,235	0,040	
X_2	-0,649	-0,189	0,522	7,389	0,014	

Tablo 2’den görülebileceği gibi Sigara içme durumu ve kalp yetersizliği olma durumu değişkenlerinin katsayı değeri için elde edilen p değeri 0,05’ten küçük olduğundan katsayıların anlamlı olduğuna karar verilmiştir.

Kategorik değişkenlerin son düzeyleri referans kategori olarak kabul edilerek, sigara içme değişkeni için Odds Ratio değeri 0,729 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, sigara içme değişkeninin anemi teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda sigara içme değişkeni için anemi teşhisi olmaması riskinin anemi teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, kalp yetersizliği olma değişkeni için Odds Ratio değeri 0,523 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, kalp yetersizliği değişkeninin anemi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda kalp yetersizliği değişkeni için anemi teşhisi olmaması riskinin anemi teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir.

Kategorik değişkenlerin son düzeyleri referans kategori olarak kabul edilerek, sigara içme değişkeni için Odds Ratio değeri 0,881 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, sigara içme değişkeninin diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda sigara içme değişkeni için diyabet teşhisinin olmaması riskinin diyabet teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, kalp yetersizliği değişkeni için Odds Ratio değeri 0,928 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, kalp yetersizliği değişkeninin diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda kalp yetersizliği değişkeni için diyabet teşhisi olmaması riskinin diyabet teşhisi olmasına göre düşük olduğunu göstermiştir.

Kategorik değişkenlerin son düzeyleri referans kategori olarak kabul edilerek, sigara içme değişkeni için Odds Ratio değeri 1,104 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, sigara içme değişkeninin yüksek tansiyon üzerinde pozitif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda sigara içme değişkeni için yüksek tansiyon olması riskinin yüksek tansiyon olmamasına göre yüksek olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, kalp yetersizliği değişkeni için Odds Ratio değeri 1,685 olarak bulunmuştur. Bu değer anlamlı olarak bulunması sebebiyle, kalp yetersizliği değişkeninin yüksek tansiyon üzerinde pozitif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Bu sonuç diğer değişkenler sabit tutulduğunda kalp yetersizliği değişkeni için yüksek tansiyon olması riskinin yüksek tansiyon olmamasına göre yüksek olduğunu göstermiştir.

Sonuç ve Öneriler

Anemi, diyabet ve yüksek tansiyonu etkileyen risk faktörlerinin belirlenmesinin amaçlandığı çalışmada, istatistik literatüründe yeni kullanılmaya başlanan çok değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak, ilgili veri setinden çıkarsamalar yapılmıştır.

Bu çalışma için seçilen veri seti, anemi, diyabet, kan basıncı, sigara içme ve kalp krizi gibi değişkenleri içermektedir. İlgili veri seti, 297 hastadan alınan verilerden oluşmaktadır. Veri setine iki adet çok değişkenli lojistik regresyon analizi uygulandığında, sigara içme ve kalp yetersizliği olma değişkenlerinin katsayı değerlerinin anlamlı oldukları görülmüştür.

Veri setine öncelikle, çok terimli dağılımdan kurulan çok değişkenli lojistik regresyon analizi uygulanmıştır. Sigara içme değişkeninin anemi ve diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Benzer şekilde, kalp yetersizliği değişkeninin anemi ve diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Açıkt vd., (1993) çalışmalarında, aneminin oluşumunu etkileyen faktörler arasında sigara tüketiminin olduğu belirtilmiştir. Yapılan bu çalışma ile örtüşen bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sonrasında, veri setine Dirichlet çok terimli dağılımdan kurulan çok değişkenli lojistik regresyon analizi uygulanmıştır. Sigara içme değişkeninin anemi ve diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Benzer şekilde, kalp yetersizliği değişkeninin anemi ve diyabet teşhisi üzerinde negatif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Ek olarak, sigara içme değişkeninin yüksek tansiyon üzerinde pozitif etkili bir değişken olduğuna karar verilmiştir. Benzer şekilde, kalp yetersizliği değişkeninin yüksek tansiyon üzerinde pozitif etkili bir değişken olduğu sonucuna varılmıştır. Kayar vd., (2019) çalışmalarında, tip 2 diyabetin oluşmasında sigara içiciliğinin etkili olduğunu söylemişlerdir. Bu çalışmada benzer sonuçlar bulunmuştur.

Bu çalışmada, lojistik regresyon analizinde bağımlı değişken sayısı birden fazla olması durumunda örnek bir uygulama yapılmıştır. Bundan sonra yapılacak tıp alanındaki çalışmalarda bu durumun göz önüne alınması ile daha anlamlı sonuçlar bulunması sağlanabilir.

Kaynakça

- Açkurt, F., Wetherilt, H., Hacıbekiroğlu, M., & Löker, M. (1993). Çay, Sigara, Stres ve Paritenin Gebe ve Emzikli Kadınlarda Anemi Görülme Sıklığı ve Bebek Doğum Ağırlığı İle Etkileşimleri. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 22(1), 15-26.
- Çavuşoğlu, Y., Altay, H., Çetiner, M., Güvenç, T. S., Temizhan, A., Ural, D., Yeşilbursa, D., Yıldırım, N., & Yılmaz, M. B. (2017). Kalp yetersizliğinde demir eksikliği ve anemi. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 2, 1-38.
- Chen, J., & Li, H. (2013). Variable selection for sparse Dirichlet-multinomial regression with an application to microbiome data analysis. *The Annals of Applied Statistics*, 7(1), 418-442.
- Fahrmeir, L., & Tutz, G. (2001). *Multivariate Statistical Modelling Based on Generalized Linear Models*. Second edition, Springer.
- Gücün, M. (2009). *Sigara Kullanımının Trombosit Fonksiyonları Üzerine Etkisinin İncelenmesi*. Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- Karadakovan, A. (1989). Sigara İçen ve İçmeyen Bireylerde Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması. *Ege Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi*, 5(2), 15-23.
- Kayar, Y., Çetin, H., & Ağın, M. (2019). Tip 2 diyabetes mellitus hastalarında sigara içiciliği ile diyabetik komplikasyonlar arasındaki ilişki. *Cukurova Medical Journal*, 44(1), 110-117.
- Uçar, A. A. (2006). *Ankara Üniversitesi Öğrencilerinin Sigara Kullanma Durumunun Beslenme Alışkanlıkları ve Bazı Hemotolojik Parametreler Üzerine Etkisi*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tatar, M. N. (1991). *Arter Kan Basıncı, Sigara İçme ve Kan Kadmiyum Düzeyi Arasındaki İlişki*. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Thorsen, E. (2014). *Multinomial and Dirichlet-multinomial modeling of categorical time series*. Bachelor Thesis in Mathematical Statistics.
- Zhang, Y., & Zhou, H. (2014). MGLM: Multivariate Response Generalized Linear Models. version 0.0.4. <http://CRAN.R-project.org/package=MGLM>.

BÖLÜM 37

**BASKİL VE AĞIN YÖRESİNDE
YETİŞEN KIRMIZI ALIÇ
(*Crataegus monogyna* L.)
MEYVESİNİN BAZI
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

*Mustafa GÜLER*¹
*İnanç ÖZGEN*²
*ÖKKEŞ YILMAZ*³

¹ Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Elazığ

² Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Elazığ

³ Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Elazığ

1.GİRİŞ

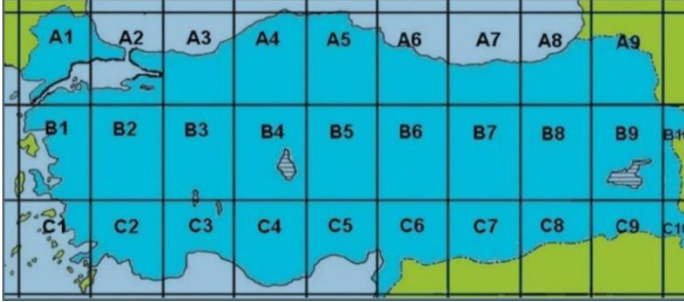
Günümüzde birçok sentetik ilacın hastalıkların tedavisinde ciddi yan etkilere neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle son zamanlarda yan etkisi düşük doğal terapötik ajan arayışları başlamıştır. Özellikle insan beslenmesinde önemli rol oynayan ve eski çağlardan beri hastalıkların tedavisinde kullanılan yenilebilir şifalı bitkilere büyük ilgi gösterilmiştir. Yürütülen etnobotanik araştırmalarda gıda-ilaç bağlantılarına sahip birçok tür belirlenmiştir. Bunlar içerisinde özellikle alıç (*Crataegus monogyna* L.), geleneksel tıpta tavsiye edilen türlerden biridir ve 'meyveleri' 'sağlıklı ve besleyici özellikleri bakımından tüketilmektedir.

Crataegus monogyna L (alıç), Avrupa, Afrika ve Asya'da yetişen, genellikle 5-10 m boyunda bir çalı veya küçük ağaç olarak bulunan Rosaceae familyasının bir üyesidir. Türkiye'de doğal olarak yetişen alıcın coğrafi dağılımı Şekil 1.1' de gösterilmiştir.

Sonbaharın ortasında olgunlaşan küçük koyu kırmızı meyvesi, jöle, reçel ve şurup hazırlanması gibi farklı amaçlar için kullanılır. Alıç meyvesinin farklı biyoaktif bileşiklerin varlığından dolayı güçlü antioksidan ve serbest radikal temizleme aktivitelerine sahip olduğunu göstermiştir. İnsan vücudu normal metabolizma sırasında reaktif oksijen türleri (ROS) üretmektedir. Bu serbest radikallerin süpürülmesini sağlayan ve serbest radikallerin sebep olacağı hücre zararını önleyebilen maddelere antioksidan denilmektedir. Oksidatif stres koşullarında, prooksidanların üretimi antioksidan kapasiteyi aşar, DNA gibi biyomoleküllerin oksidasyonuna neden olarak hücre hasara yol açarak dolaşım ve solunum sistemlerinde çeşitli bozukluklara ve kanser gibi bazı kronik hastalıklara neden olmaktadır. Oksidatif stres, polifenoller (özellikle flavonoidler), vitaminler ve doymamış yağ asitleri (UFA) gibi yüksek biyoaktif içerikleri nedeniyle antioksidan aktiviteye sahip meyve, sebze ve bitkileri içeren diyetlerle azaltılabilmektedir [1]. Doğal ortamda yetişen bitkiler ilgi çekicidir çünkü bunlar, yüksek oranda yetiştirilen gıda bitkilerinden, özellikle de birçok nesildir yetiştirilen bitkilerden daha yüksek miktarlarda bu biyoaktif bileşikleri içerirler [2]. Alıç özellikle yaşa bağlı hastalıkların (örneğin, Kardiyovasküler, Ateroskleroz, Artrit ve Hipertansiyon) idamesinde ve önlenmesinde önemli kabul edilmektedir. Ayrıca soğuk algınlığı, diğer üst solunum yolu enfeksiyonları, bronşit, zatürree gibi hastalıkları tedavisinde ve ayrıca sakinleştirici olarak selülit, obezite ve menopoz rahatsızlıklarını kontrol altına almak için kullanılmaktadır. Sonbaharda olgunlaşan meyveleri iyi bir vitamin kaynağı olduğuna inanıldığı için tüketilmektedir [4,5,6,7,8]. Alıç çiçeklerinin ve meyvelerinin kronik kalp yetmezliği, yüksek tansiyon, aritmi ve çeşitli sindirim rahatsızlıklarının yanı sıra geriatrik ve arteriyoskleroz ilaçlarında tıbbi amaçlarla kullanılmıştır. Alıç

meyveleri işlenerek gıda maddesi (konserve meyve, reçel, jöle, içecek ve şarap) olarak da kullanılmıştır [9,10,11,12].

Serbest radikallerin lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin (örn. DNA) oksidasyonunda yer aldığı düşünüldüğünde, bitkiler biyoaktif bileşenlerin geliştirilmesinde umut verici olabilir [13]. Bu çalışma, Elazığ ilinin Baskil ve Ağın bölgesinde toplanan alıç (*Crataegus monogyna* L.) meyvesinin etli kısmının kimyasal ve biyoaktif karakterizasyonuna ilişkin verileri içermektedir.



Şekil 30.1. Türkiye haritasında coğrafi dağılımı gösterilen *Crataegus* taksonları.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Biyokimyasal Parametreler

2.1.1 Yağ Asitleri

Yağ asitleri, bir ucunda bir karboksil grubu bulunan hidrokarbonlardır. Hidrokarbon zincirleri, açıl lipidler olarak adlandırılır ve yağ asitleri, en çok triaçilgliserol olarak gliserole esterlenmiş olarak oluşur. Bu yağ asitleri yapısal olarak çeşitlidir, genellikle alışılmadık yapıya sahiptirler. 8 ila 80 arasında karbon atomuna sahip olmakla beraber tipik olarak çift sayıda karbon atomundan oluşmaktadırlar. Yağlarda doymuşluk, karboksil grubu haricindeki tüm karbonlara maksimum seviyede hidrojenin bağlı olduğunu ifade etmek için kullanılır. Alkil kısmındaki tüm bağları σ (sigma) olan yağ asitleri doymuş yağlar olarak, çift bağların sayısı, konumu ve konfigürasyonu (yani cis veya trans izomerleri) bakımından farklılık gösterenler ise doymamış yağ asitleri olarak adlandırılır [14].

2.1.2 Vitaminler

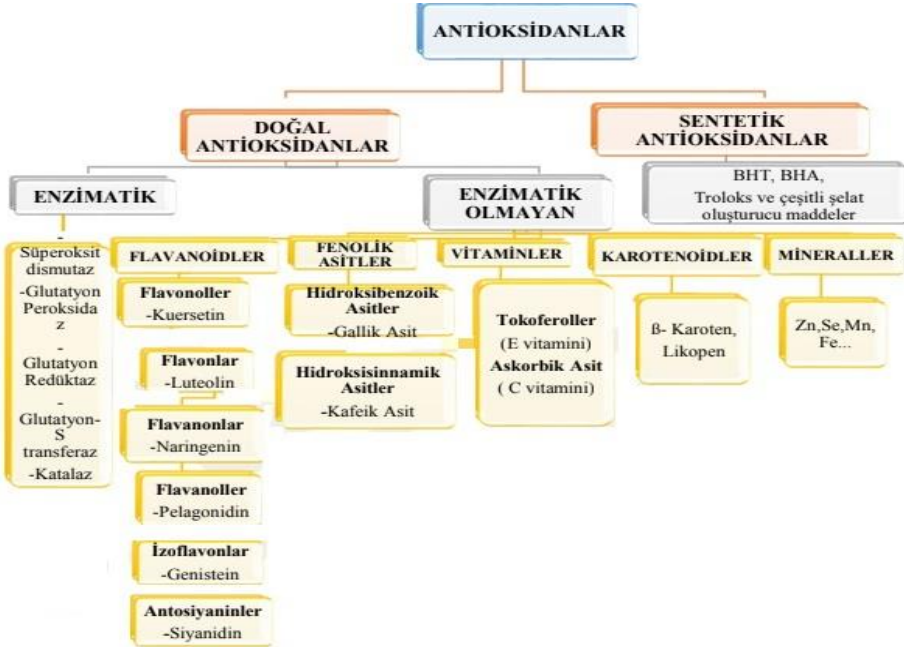
Vitaminler doğal olarak besinler içerisinde yer alan, bir organizmanın metabolizmasının düzgün çalışması için az miktarlarda ihtiyaç duyulan temel bir mikro besin olan organik bileşiklerdir. Vitaminler yapı taşı veya enerji kaynağı olarak kullanılmazlar. Genellikle ısıya dayanıklı maddelerdir. Parenteral yoldan veya sindirim kanalı ile vücuda alınırlar. Vitaminler suda çözünen ve yağda

çözünen vitaminler diye iki sınıfa ayrılırlar. D,E,K vitaminleri yağda çözünenler sınıfındadır. D vitamini raşitizm hastalığını engelleyen vitamin olarak da anılır. Biyokimyasal yönden en önemlilerini D 2 ve D 3 vitaminleri meydana getirirler. D 2 Vitamini bitkisel kaynaklı olup, eksikliğinde insan kemik yapısında şekil bozukluğuna sebep olmakla birlikte kalsiyum emiliminde yetersizliğe ve böbreklerde fosfor birikimine neden olmaktadır. Tokoferoller E vitamini etkisi gösteren maddelerdir. Başlıca alfa, beta ve gamma tokoferoller diye adlandırılan üç çeşit tokoferol vardır. E vitamini en büyük besinsel antioksidan olup hücre yaşlanmasını geciktirmektedir. E vitamini eksikliğinde eritrositler kolay parçalanmaktadır ve üreme yeteneği zayıflar. Vitamin K nın bilinen en önemli etkisi koagulasyonla olan ilişkisidir. K vitamininin yetersiz olduğu hallerde kan pıhtılaşmasının geciktiği görülür. K vitamininin bir türevi olan K2 vitamini, koroner kalp hastalığı ve damar sertliği (ateroskleroz) riskini azaltır. Aynı zamanda kalbi besleyen damarlarda kalsiyum birikmesini önlemeye yardımcıdır [15].

2.1.3 Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir [16]

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır. Şekil 1.2 antioksidanların genel sınıflandırılması gösterilmektedir. Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini sağlamak için serbest radikallerden vücudu korur ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılırlar [17].



Şekil. 1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması [18].

Alıç meyvesinde bu antioksidanların bolca bulunmaktadır. Mevcut antioksidanlar ya vücudumuz tarafından üretilmekte veya dışarıdan ek olarak alınmaktadır. Vücudumuz tarafından üretilen (endojen) ve dışardan aldığımız (eksojen) antioksidanlar, serbest radikal temizleyici olarak görev almaktadır. Antioksidanların üstlenmiş olduğu bu görev sayesinde bağışıklık sisteminin etkisi artar ve hastalık olasılığı da azaltılmaktadır.

2.2.ROSACEAE FAMILYASININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Dikenli ve dikensiz olmakla birlikte bir kısmı tırmanma özelliği bulunan otsu, ağaç veya çalı şeklinde ki bitkilerden oluşmaktadır. Yapraklar diziliş bakımından sarmal, tam ve tüysü olmakla birlikte kulakçıklı yaprak sapının gövdeye bağlandığı tabana bitişiktir. Çiçek oluşumu çok farklı şekillerde, çalı ve ağaçların dallarında kısıcak sürgünler üstündedir. Alıç çiçekleri erdişi, nadiren de tek eşeyli, ışınısı çiçeğin bütün kısımları dişi organ üstündedir. Çukur şeklinde çiçek tablası bulunmaktadır [19]. Gül familyasına ait *Crataegus monogyna*'ya ait görsel şekil 2.1' de yer almaktadır.



Şekil 31.1. *Crataegus monogyna*, çiçek açma döneminden görünüm [20].

Morfolojik olarak alıç bitkisi, küçük ağaç ya da çalıdır. Alıç dikenli olup yaklaşık olarak 3-7 m boyanabilir, çiçekleri pembe veya beyaz, meyvelerin rengi ise turuncu, sarı, kırmızı veya esmer kırmızıdır. Alıç bitkisi güneşi sever ve sert iklimlere dayanıklıdır, yaprakları ise 4-5 cm boyundadır, ayrıca 5 loplu ve yaprakları 2-3 cm genişliğindedir. Alıç yapraklarının loplari ucu sivridir, üst kısmı koyu yeşil olup alt yüzeyi de gri-yeşil renge tüylüdür. Kahverengi yeşil renkte olan alıcın genç sürgünleri tüylü, gövde kısmı ise gri kahverenginde ve çatlaklıdır. Çiçekleri diktir ve yaprakları ana gövdede uç kısımda olduğundan terminaldir. Meyveleri çiçeğin diğer organlarıyla birlikte meydana geldiğinden yalancı meyvedir, tadı hafif ekşimsidir, 4-6 mm genişliğindedir ve 6-10 mm boyunda, bombeli görünümde ve etlidir, meyve sapları ise 2-3 cm uzunluğundadır [21].

2.1. Alıç'ın Kullanım Alanları

Alıç bitkisinin çevre düzenleme, geleneksel tıp, gıda ve endüstri sektörleri başta olmak üzere pek çok kullanım alanı mevcuttur. Genel olarak kullanılan bölümleri çiçekler ve gövdesidir. Nisan, Mayıs ayları gibi bahar aylarında çiçekleri, sonbaharda Ekim, Kasım gibi aylarda ise meyvelerin görüntüsü çok etkileyici olduğundan çevre düzenleme amacıyla kullanılabilir. Avrupa'da muşmula ve armut ağaçlarını aşılama anaç olarak kullanılmakta, bununla birlikte bahçe sınırlarının belirlenmesinde çit olarak da kullanımı mevcuttur. Alternatif tıptaki kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır. Meyvesi ve çiçekleri çok eski zamanlardan beri kalp damar sistemi hastalıklarının tedavisinde, özellikle kalp faaliyeti zayıflığında, kalp ritmi bozukluğunda, ateroskleroz, hipertoni ve hipogalaktiyon (bebek emziren annelerde sütü azaldığında) görüldüğü durumlarda kullanılmaktadır. Yaban hayatın için alıç meyveleri yenilebildiğinden önemli bir besindir. Yapılan çalışmalarda sağlıklık

ineklerin yemine alıç meyvesi eklendiğinde, sağılan ineklerin süt ve sütündeki yağ oranında artış olduğu görülmüştür [22]. Alıcın meyveleri Orta Karadeniz de yem olarak küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde de kullanılmaktadır. Bazı bölgelerde ise yakacak odun olarak faydalanılmakta ve genel olarak meyveleri insanlar tarafından tüketilmektedir. Küresel ısınma meyveciliği olumsuz yönde etkilemekte, yetiştiği çevresel iklim koşulları dikkate alındığında sert iklimlere dayanıklı, sıcağı seven ve kurağa dayanıklı özelliği sebebiyle alıç bitkisi, gelecek yıllardaki küresel ısınmada, aksi yönde önem taşıyan bir tür olarak görülmektedir. Alıç meyveleri üzerinde yapılan çalışmalar son yıllarda oldukça artmıştır ve birçok farklı ülkede alıcın pomolojik ve kimyasal içerikleri araştırma konusu yapılmaktadır. Tıp alanında, insan sağlığı üzerinde yapılan çalışmalarda alıcın içindeki etken maddelerin olumlu sonuçları incelenmektedir. Çalışmalar sonucunda alıcın içindeki etken maddelerin insan sağlığı için özellikle de kalp sağlığı açısından olumlu sonuçlar verdiği ortaya konmuştur [3].Avrupa Farmakolojisinde; *C. laevigata*, *C. monogyna* ve daha az kullanılan *C. azarolus*, *C. nigra* ve *C. pentagyna* yaygın olarak kullanılmaktadır [23]. *C. pinnatifida* ve *C. cuneata* meyveleri sindirim bozuklukları ve hiperlipideminin tedavisinde kullanılmaktadır [24].

Farmakolojik veriler, alıç ve preparatlarının miyokardiyal kasılmayı ve iletkenliği artırdığını, krize karşı koruduğunu ve genel olarak kalp hızını düşürdüğünü göstermektedir [25]. Faydaları arasında egzersiz performansının iyileştirilmesi, koroner kan akışının iyileştirilmesi, kan basıncının düşürülmesi ve klinik testler kardiyak ilgiyi doğrulamıştır [26]. Meksika'da alıç özleri kullanılarak diyabet tedavi edilmekte olup yapılan tedavi, bilhassa diyabetin erken aşamalarında gerekli faydayı sağlamaktadır [27]. Çin ve Kore'de, alıç meyvesi (*C. pinnatifida* Bunge var. *typica* Schneider ve *C. pinnatifida* Bunge), dolaşımın iyileştirilmesi, kan akışının yavaşlamasının giderilmesinde ve hazımsızlık, ishal, karın ağrısı, kanda bulunan çeşitli yağların gereken miktardan fazla olması durumundaki kolesterol olan hiperlipidemi ve kalpten vücuda pompalanan kanın atar damar duvarına yaptığı basıncın sağlık sorunu oluşturduğu hipertansiyonun tedavisi için de kullanılmaktadır [28]. Çin'de alıç üzerine yapılan klinik çalışmalarda, dengesiz beslenme veya çok yağlı besin veya et tüketimi nedeniyle hazımsızlığın ve kabızlığın tedavisinde etkili olduğu ortaya konmuştur ve kalp yetmezliği olan konjestifin erken aşamalarını tedavi etmek için alıç özü kullanılmıştır. Ayrıca kan basıncını ve toplam plazma kolesterolünü düşürmektedir [29]. Geleneksel Arap tıbbında kanser, diyabet ve cinsel güçsüzlük için terapötik bir ajanın yanı sıra kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır [30]. Türkiye'de ki *Crataegus* cinsine ait türlerin

çiçek, yaprak, filiz ve kökleri geleneksel tıpta mide ağrısı, astım, grip, öksürük, nefrit böbrek iltihabı, eklemler veya bağdokusundaki kronik ağrı olan romatizma, kalp damar hastalıkları ve hemoroid gibi birçok hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Türkiye’de alıç meyvesi sirkesi yapılmak suretiyle de tüketilmektedir [31]. Yapılan bir araştırmada; beş farklı *Crataegus* türünün (*C. aronia var. dentata*, *C. aronia var. aronia*, *C. orientalis var. orientalis*, *C. aronia var. minuta*, ve *C. monogyna subsp. azarella*) toplam fenolik içeriğini, antioksidan kapasitesini ve antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. A/B karoten / linoleik asit testine göre, bitkilerin meyve özlerinin antioksidan aktiviteleri, en küçüğünden en büyüğüne şu şekilde olmuştur: *C. monogyna subsp. azarella*, *C. aronia var. minuta*, *C. orientalis var. orientalis*, *C. aronia var. aronia*, *C. aronia var. dentata*, (Tablo 1.1) [32].

Tablo 1.1. Türkiye de Bulunan Bazı Alıç Türlerinin Toplam Fenolik İçeriği.

Türler	Toplam Fenolik İçerik	Antioksidan Kapasitesi	FRAP Eşdeğeri
<i>Crataegus var. aronia</i>	35.7 ^c	66.3 ^{ab}	28.7 ^{ab}
<i>C. monogyna subsp. azarella</i>	55.2 ^a	81.9 ^a	31.2 ^a
<i>C. aronia var. minuta</i>	40.1 ^c	60.9 ^b	24.8 ^{bc}
<i>C. aronia var. dentata</i> .	40.9 ^{bc}	65.2 ^{ab}	26.6 ^{ab}
<i>C. orientalis var. orientalis</i>	51.2 ^{a^b}	57.3 ^b	21.4 ^c
LSD _{0,05}	4.49	4.45	4.48

Klasik güneş kremlerinin çoğu, geniş spektrumlu koruma sağlamak için UVA ve UVB kimyasal filtrelerin ve diğer fiziksel bileşenlerin bir kombinasyonudur ancak birçok yan etkileri bulunmaktadır, belirli koşullar altında serbest radikaller oluşturabilirler. Yapılan çalışmalar *H. arenarium*, *S. nigra* ve *C. monogyna*'dan izole edilen tek tek polifenolik fraksiyonların ve bunların çeşitli kombinasyonlarının ultraviyole radyasyona (UVR) karşı iyi koruma sağladığını, kesinlikle cilt bakımında yaygın olarak kullanılan UVR filtrelerinden daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca, *H. arenarium*, *S. nigra* ve *C. monogyna* özleri ve bunların çoğu bileşeni güçlü antioksidan aktivite göstermektedir. *C. monogyna* hem güneş ışınlarına karşı koruyucu özellikte olması hem de antioksidan özelliğinden dolayı ticari güneş koruyucu kremlerde potansiyel aktif bileşenlerin formülasyonunu oluşturma kapasitesine sahiptir. Ayrıca tüketicilerin kozmetik sektöründe doğal güneş bakım ürünleri beklentileri karşılanabilmektedir. Sonuç olarak; *C. monogyna*, *H. arenarium* ve *S. nigra* bitkilerinden izole edilen polifenolik komplekslerin ve bunların karışımlarının kullanımı, hem UVB hem de UVA olmak üzere UV ışınlamasına karşı geniş

spektrumlu bir emülsiyon elde edilmesini sağlamaktadır [33]. Altın, gümüş, platin ve paladyum gibi asil metal nanopartiküllerin biyosentezi, kataliz, biyomedikal, güneş pili ve biyolojik alanlardaki potansiyel uygulamalar nedeniyle oldukça dikkat çekmiştir. Bunlar arasında altın ve gümüş nanopartiküller, antikanser, antibakteriyel ve antifungal aktivitelerdeki benzersiz özellikleri nedeniyle aşırı ilgi görmüştür. Bu nanopartiküller ROS (reaktif oksijen türleri) ve ATP (adenozin trifosfatın baskılanması) üretebilmekte ve böylece nükleik asit hasarına neden olabilirler. Nanopartiküllerin sentezi için hidro termal, sonokimyasal, jel ve çökeltme gibi farklı süreçler uygulanmaktadır. Çeşitli toksik çözücü ve kimyasalların kullanılması, çevreye ve insan sağlığına zararlı maddelerin oluşumu, düşük verimlilik ve pahalı yöntemlerin dezavantajlarından bazılarıdır. Bu sorunların üstesinden gelmenin bir yolu, çevre dostu sentezin kullanılmasıdır. Bakteriler, bitki özütü, maya ve mantarlar biyojenik nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ve koruyucu ajanlar olarak kullanılabilir. Günümüzde bitkisel ürünlerin (yapraklar, çiçekler ve kökler) kullanımını artmaktadır. İndirgeyici, stabilize edici ve kaplayıcı ajan olarak *C. monogyna* (Rosaceae familyasına ait) sulu yaprak ekstrelerini kullanarak gümüş ve altın nanopartikülleri sentezlenebilmiştir. [34]. Türkiye’de yöresel halk tarafından alıç farklı alanlarda kullanılmaktadır. Alıç, "Alıç çayı, reçeli, marmelatı, ve alıç sirkesi" olarak da tüketilmektedir. Avrupa Fitoterapi Merkezi tarafından yapılan çalışmalarda alıcın meyvesi, çiçek ve yaprakları kurutulduktan sonra çay olarak tüketildiği zaman boğaz iltihabı ve öksürük gibi birtakım hastalıklara karşı faydalı olduğu gösterilmiştir [35]. Tarım endüstrisinde, yüksek pektin içeriği nedeniyle, paç ve konservelerin hazırlanmasında bölgesel tatlılar yapmak için kullanılır; "All Saints" geleneksel festivallerinde esas olarak Meksika'nın güney-güneydoğu-orta bölgesinde yüksek bir talep görmekte ve meyve olarak tüketilmektedir [36]. Alıcın meyveleri sonbahar aylarında toplanıp tohumları çıkartılmaktadır. Alıç bitkisi metrekafe başına 100-200 gr. düşecek biçimde ve tohumları 5’li çizgi ekimi uygulanacak şekilde ekilmektedir. Alıç tohumlarının çimlenebilmesi için %35-60 oranında ve metrekafe başına elde edilebilen fidan sayısı, 50 ila 100 adet arasındadır. Doğal ortamında, kış ve bahar mevsimlerinde katlamaya alınarak zaman zaman su verilir. Sonrasında alıç tohumları yastıklara ya da tüplere sonbahardan başlayarak bahar mevsimine kadar ekilir. Bir başka yöntem ise, meyveleri yeni olgunlaşmaya başladığı zaman toplanarak bekletilmeden hemen ekilmesi ile ya da doğal ortamında katlanmaları halinde genellikle olumlu sonuçlar alınmaktadır. Tohumlarının 1000 dane ağırlığı 80 ila 170 gr. olup, ortalaması ise 110 gram civarındadır [37].



Şekil 2.2. *Crateagus monogyna* Bitkisi (Kırmızı) [37].



Şekil 2.3. *Crateagus monogyna* Meyvesi (Kırmızı) [37].

3. Dünya ve Türkiye'deki Çalışmalar

Liu vd. (2011) yılında alıç (*Crataegus* spp.) meyvelerindeki fenolik bileşiklerin yüksek performanslı sıvı kromatografi elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi ile kantitatif analizi yapmıştır. 22 çeşidinin meyvelerinde HPLC – ESI-MS-SIR ile 11 ana fenolik bileşik (hiperosit, izokersitrin, klorojenik asit, ideain, epikateşin, iki prosiyanidin (PA) dimer, üç PA trimeri ve bir PA dimerheksosit) ölçülmüştür. Tüm örneklerde Hiper yan (0.1-0.8 mg / g kuru kütle [DM]), izokersitrin (0.1-0.3 mg / g DM), klorojenik asit (0.2-1.6 mg / g DM), epikateşin (0.9-11.7 mg / g DM), PA B2 (0.7-12.4 mg / g DM), PA dimer II (0.1-1.5 mg / g DM), PA trimer I (0.1–2.7 mg / g DM), PA trimer II (0.7–6.9 mg / g DM) PA trimer III (0,01–1,2 mg / g DM) ve bir PA dimerheksosit (eser – 1,1 mg / g DM) saptanmıştır. *Crataegus scabrifolia* dışındaki tüm örneklerde ideain (0.0-0.7 mg / g DM) bulunmuştur. Ayrı ayrı PA aglikonlarının içerikleri arasında önemli korelasyonlar gözlenmiştir ($r > 0.9$, $P < 0.01$) [38]. Ahumada vd. (1994) yılında *Crataegus monogyna* üzerinde *Viscum cruciatum* Sieber parazitinin

antimitotik ve sitostatik aktivitesini incelemiştir [39]. Cloud vd (2019) yılındaki çalışmada alıcın kan basıncı üzerine etkisini incelemiştir. Neticede alıcın hafif hipertansiyonu olan kişilerde en az 12 hafta uygulandığında kan basıncını önemli ölçüde düşürdüğünü bulunmuştur [40]. Konyalı oğlu vd. (2017) yılında yaptıkları çalışmada *Crataegus monogyna* L çiçeklerinin antioksidan aktivitesini incelemiştir [41]. Copra-Janicijevic vd. 2018 yılında Bosna'da endemik *Crataegus microphylla* Koch' un kimyasal bileşimi ve antioksidan aktivitesini incelemiştir. Bitki özütlerinin HPLC-ED analizi sonuçları, 0.04 mg GAE / g DW, 0.60 mg CA / g DW ve 2.61 mg HYP / g Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan çiçeklerle yapraklarda en yüksek gallik asit, kafeik asit ve hiperosit içeriğini ortaya çıkarmıştır [42]. Edwards vd. (2012) yılında *Crataegus* cinsinin kimyasına ilişkin incelemelerinde *Crataegus* spp.'de bulunan başlıca flavonoidler hiperosit, viteksin ve bu bileşiklerin ilave glikosile türevleri olarak tespit etmişlerdir [43]. Dalli vd. (2011) yılında, alıcın (*Crataegus laevigata*) sağlıklı gönüllülerde trombosit agregasyonu üzerindeki etkilerini incelemiştir. Test edilen dozda ve incelenen trombosit agregasyon mekanizması aracılığıyla *C. laevigata*'nın sağlıklı gönüllülerde bir antiplatelet etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır [44].

Çalışkan (2015) yılında Akdeniz Alıç Meyvesi (*Crataegus* sp.) türleri ve potansiyel kullanımının belirlenmesi çalışmasında geleneksel tıpta anksiyete, astım, hipertansiyon, dislipidemi, hipotansiyon, anjin, aritmiler, kalp yetmezliği, hazımsızlığı tedavi etmek için kullanıldığını ve alıcının klinik faydalarına dair en önemli kanıtın, kronik konjestif kalp yetmezliği tedavisinde kullanımıyla ilgili olduğunu belirtmiştir. Derlemede, *Crataegus* türlerinin farklı antioksidan ve farmakolojik özelliklerine ilişkin bilgiler, türlerin tıpta kullanımının olumlu etkilerinden bahsedilmiştir [45]. Svedström vd. (2002) yılında *Crataegus* yapraklarından ve çiçeklerinden oligomerik prosiyanidinlerin izolasyonu ve tanımlanmasını yapmışlardır [46].

Nunes vd. (2017) yılında *Hibiscus sabdariffa* L., *Crataegus* spp. ve *Panax* spp. içeren bitkisel ürünlerin güvenli olup olmadığını incelemiştir [47]. Jarzycka vd. (2013) yılında *Crataegus monogyna*, *Helichrysum arenarium*, *Sambucus nigra* ekstrelerinin ışık korumalı UVB ve UVA'da değerlendirilmesini kozmetik emülsiyonlarda fotostabilite üzerinden yapmışlardır. Sonuçlar, polifenol içeren formülasyonların, yüksek ışık stabilitesi ve dikkate değer antioksidan özellikleriyle birlikte geniş UV koruma spektrumları nedeniyle güneşten koruyucu ürünler için resmi gereklilikleri karşıladığını göstermektedir [33]. Liu vd. (2016) yılında, alıç (*Crataegus pinnatifida*) içeceğinin fermantasyonu sırasında ön işlemlerin antosiyanin bileşimi, fenolik içerikleri ve

antioksidan kapasiteleri üzerine etkilerini incelemişlerdir [48]. Rastogi vd. (2016) yılında kardiyovasküler rahatsızlıklar için Geleneksel otları incelemişlerdir. Çalışmada *Commiphora wightii*, *Crataegus oxyacantha*, *Arjuna Terminalia arjuna* kullanılmış ve etki mekanizmaları çok açık olmasa da, çeşitli kardiyovasküler bozukluklarda etkinliklerine dair yeterli kanıtlar bulunmuştur [49]. Rodrigues vd. (2012) yılında *Crataegus monogyna* tomurcukları ve meyveleri fenolik özütlerinin insan tümör hücre dizileri üzerinde büyüme önleyici aktivitesini incelemişlerdir [50]. Froehlicher vd. tarafından (2009) yılında, alıç hücresi süspansiyonlarının, taze meyvelerin ve tıbbi kurutulmuş parçaların fenolik profilleri ve antioksidan etkileri incelenmiştir [51]. Rosario-García-Mateos vd. (2013) yılındaki çalışmalarında Meksika alıç meyvelerinde (*Crataegus* spp.) Antioksidan bileşikleri incelemişler. 20 alıç genotipinin meyvelerinin çoğu, diğer meyvelerden (liçi meyveleri, şeftali ve çilek) daha yüksek bir fenolik bileşik içeriği olduğu saptanmıştır [52]. İdris-Khodjaa (2012) yılında *Crataegus* özünün WS®1442 yaşlanmaya bağlı endotel disfonksiyonu üzerine etkisini çalışmıştır. *Crataegus*'un, artan oksidatif stresi ve COX-1 ve COX-2'nin aşırı ekspresyonunu iyileştirerek prostanoid aracılı kasılma tepkilerini azaltarak yaşlanmaya bağlı endotel disfonksiyonunu önlediği tespit edilmiştir [53].

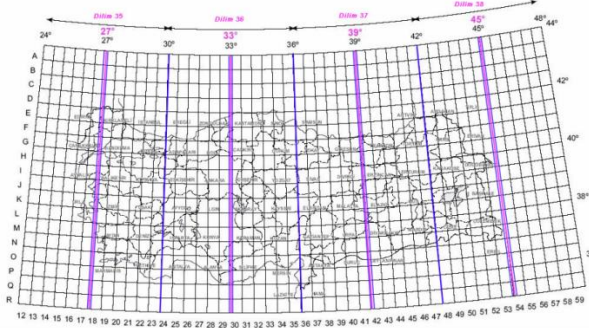
Shirzadi-Ahodashia vd. (2020) yılında, asil metal nanopartiküllerin *Crataegus monogyna* yaprak ekstresi (CML @ X-NPs, X = Ag, Au) kullanılarak biyosenteziyle göğüs ve mide kanseri hücre hatlarına karşı antibakteriyel ve sitotoksik aktiviteleri incelemiştir [34]. Özderin, (2014) Batı Anadolu'da doğal yayılış gösteren bazı alıç (*Crataegus* L. spp.) taksonlarının botanik ve kimyasal özelliklerini incelemiş, en yüksek oranda bulunan uçucu yağ bileşenleri; (%82,54), benzaldehyde, (%38,27) butyraldehyde, (%21,67) (E)2-hexenal bileşenleri olarak bulunmuştur [54]. Yanar, (2021) bazı alıç (*Crataegus* spp.) genotiplerinin pomolojik, kimyasal ve moleküler karakterizasyonu araştırmış, çalışmasında Türkiye florasında doğal olarak yetişen Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan *Crataegus* L. türlerinin genetik olarak büyük bir çeşitlilik gösterdiği ve pomolojik, kimyasal içerik açısından alıç ıslah çalışmalarında değerlendirilmesi gereken önemli bir genetik kaynak oldukları belirlenmiştir [55]. Oğuzbey, (2021) Yaptığı analizler sonucunda alıç çekirdeği yağında; en baskın yağ asidinin oleik asit olduğu ve bunu sırasıyla linoleik asit ile palmitik asitin izlediği saptanmıştır [14].

Ertem, (2022) çalışmasında, Doğu alıç zengin element içeriği, kuvvetli antioksidan değerlerinin yanı sıra lifli bir gıda olması ile de sağlık açısından faydalı bir meyve olduğunu bildirmiştir [18].

4.MATERYAL VE METOT

4.1.Materyal:

Çalışmada; biyokimyasal analiz için çeşitli lokasyonlardan toplanılan *Crataegus monogyna* meyveleri, kültür kutuları, etiketler, laboratuvar malzeme ve biyokimyasal çalışmalar için kullanılan kimyasal malzemeler ana çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Materyallerin temini için Elazığ ili Baskil ve Ağın yöresi seçilmiştir. Baskil yöresinden Sütlüce köyü ve Tavşanuşağı köyünden, Ağın yöresinde ise merkezden toplanmak suretiyle temin edilmiştir. Yer tespitinde Harita Genel Müdürlüğü'nün K41- C4 pafta indeksli ortofotolarını içeren android uygulaması, HGM küre yazılımı kullanılmış ve aynı yazılımda GPS konumları saptanmıştır (Şekil 4.1).

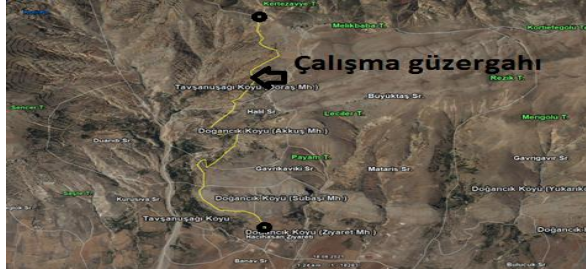


Şekil 4.1. Örneklem Pafta İndeksleri

Baskil yöresi Sütlüce köyü, Tavşanuşağı köyü ve Ağın yöresi merkezinden toplanan alıç örneklerinin lokasyonları Şekil 4.2, 4.3, 4.4'de gösterilmiştir. Alıç toplama arazi çalışmalarında çekilen fotoğraflar Şekil 4.5 ve 4.6 da gösterilmektedir.



Şekil 4.2 Sütlüce Köyü örneklem lokasyonu



Şekil 4.3. Tavşanuşağı köyü örneklem lokasyonu



Şekil 4.4 Ağın yöresi merkez örneklem lokasyonu



Şekil 4.5. Sütlüce köyü Arazi Çalışmaları



Şekil 4.6. Baskil yöresi Arazi Çalışmaları

Tavşanuşağındaki numuneler, Hasanbaba Ziyaretinden başlanarak sırasıyla Doğancık Köyü Subaşı mahallesi, Asaflar Mahallesi, Akkuş köyü, Halil Sırtı güzergahından devam edilerek 4688 metre sonunda Kertezavye tepesinde son bulan stabilize yoldaki kırmızı alıç toplanmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Tavşanuşağı köyü örneklem lokasyonu

4.2. Metot

Çalışmada kullanılmış olan *Crataegus monogyna* (Alıç) meyveleri, Baskil yöresinden Sütlüce köyü ve Tavşanuşağı köyü ile Ağın yöresinde ise merkezinden toplanmıştır. Çalışmada toplanan alıçların karışıklığa sebebiyet vermemesi açısından Sütlüce köyünde toplanan alıçlara Sütlüce Kırmızısı kısaca SK, Tavşanuşağı köyünde toplanan alıçlara Tavşanuşağı kırmızısı kısaca TK ve Ağın yöre merkezinden toplanan alılar ise Ağın kırmızısı kısaca AK olarak kod (ad)landırılmıştır. Kırmızı alıç türleri renklenmesi tamamlandığı dönemde toplanılarak laboratuvara getirilip yapraklarından ayrılıp, sadece meyve kalacak

şekilde hazırlanmıştır. Daha sonra, laboratuvara getirilmiş ve -80 C^0 sıcaklıktaki derin dondurucuda analiz yapılana kadar muhafaza edilmiştir. Analiz yapılacağı zaman örnekler derin dondurucudan çıkartılmış, çekirdeklerinden ayrılmış ve meyve kısımları tartılarak homojenize edilerek aşağıdaki analizlerde kullanılmıştır.

4.2.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

1 g bitki örneği homojenizatör içine alınıp 20 ml % 80'lik metanol ile 1 dakika süreyle homojenize edilerek 6000 rpm'de $+4\text{ C}^0$ de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda supernatant kısım alınarak DPPH testi, total fenolik, total flavonoid analizleri yapılmıştır.

4.2.2. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi

Meyvelerinin antioksidan aktivitesi ticari şekilde üretilen stabil organik nitrojen radikali, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) analiz yöntemi ile belirlenmektedir. Brand-Williams vd. (1995)'te göstermiş olduğu yöntem göre, serbest radikallerin temizlenme aktivite işlemi yapılmıştır [56]. 25 mg/L α , α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) metil alkol (metanol) ile çözdürülmüş ve ticari olarak üretilen (DPPH) stabil organik nitrojen radikalden 4 ml ilave edildikten sonra 50, 100, 200 μL . Bitki ekstraktları üzerine eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Bundan sonra ise 30 dakika boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübasyona alınmıştır. İnkübe sonunda meyve renklerinin yoğunluğu ölçülerek, madde miktarı veya konsantrasyonundaki farklılığı göstermek için, spektrofotometre yardımıyla ışık miktarı dalga boyu absorbans verileri 517 nm'de konsantrasyonları (boşluğa) blanka karşı okunmuştur.

$$\% = \frac{\text{Kontrol}_{\text{ABS}} - \text{Sample}_{\text{ABS}}}{\text{Kontrol}_{\text{ABS}}} \times 100$$

4.2.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini:

Singleton vd. (1999)'da göstermiş olduğu yöntem ile, metanolik ekstraktların yüksek asitlik seviyesi, doğal olan antioksidanlar ile çeşitli kimyasal bileşiklerin tamamı yapılmıştır [57]. Standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Kısaca, 0.1-0.5 mL meyve özü ekstraktı test tüpüne alınmış ve üstüne 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Bundan sonra 3 dk geçince 3 mL % 2' lik Na_2CO_3 solüsyonu eklenmiş örnekler sürekli olarak karıştırılmakla 2 saat bekletilmiştir.

4.2.4. Toplam Flavonoid Madde Analizi:

Toplam flavonoid bileşiklerin miktarı Kim vd. (2003) tarafından uygulanan metoda göre [57] UV-Vis spektrofotometre yardımıyla 510 nm'de ölçülmüştür. İlk olarak, 1 mL ekstrakta 0.3 mL %5'lik NaNO_2 eklenip. 5 dakika sonra 0.3 mL

% 10'luk $AlCl_3$ ilave edilmiştir. Daha sonra, 2 mL 1 M NaOH eklenip ve 2.4 mL saf su ilave edilip, karışım vorteks ile karıştırılmıştır [58,59].

4.2.9. Lipidlerin Ekstraksiyonu

Alıç örneklerinin lipit ekstraksiyonu Hara ve Radin (1978) de belirttiği metodo göre hekzan izopropanol 3:2 (v/v) karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir [60]. Bu işlemde; 1 g alıç örneği 3:2 (v/v) değerinde 10 ml lik hekzan-izopropanol karışımında ve 30 sn süresinde homojenize edilmiştir. Sonrasında, 4500 rpm'de 10 dk boyunca santrifüjden geçirilerek edilen homejenatın supernatant olan kısım alınmıştır. Ağzı kapaklı olan büyük deney tüplerinin içine konularak Supernatant kısmı 2 eşit hacimde ayrılmıştır, yarısı D,E,K vitaminlerin tayini ve fitosterol analizinde diğer kısmı da yağ asidi analizinde kullanılmıştır.

4.2.10. D,E,K Vitamin ve Fitosterol Miktarlarının HPLC Cihazı ile Analizi:

İki kısma ayrılmış olan lipit ekstraksiyon fazından 1 bölümü ağzı kapaklı 25 ml'lik tüpler içine alınıp üzerine 5 ml, % 5'lik (Potasyum Hidroksit) KOH çözeltilisinden eklenip karıştırılmıştır, sonrasında 85 ° C'de 15 dakika bekletilmiştir. Oda sıcaklığındaki ortamda soğutulduktan sonra 5 ml saf su üzerine ilave edilerek karışması sağlanmıştır. Üst hekzanı temiz santrifüj tüpleri içine alınıp çözücüsü uçurularak Asetonitril/metanol karışımı (%50+% 50, v/v) karışım içinde çözünerek otosamler viallerine alınıp analizde kullanılmıştır [61, 62, 63]. Mobil faz olarak; Asetonitril/metanol (% 60+%40, v/v) karışımı kullanılmıştır. Mobil faz akış hızı 1 ml/dk olarak ayarlanmış, analiz için DAD-UV dedektörü kullanılmıştır. Kolon olarak da Süpelcosil™ LC 18 (15 x 4.6 cm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanılacaktır. Dedeksiyonun dalga boyu 326 nm - 202 nm ayarlanmıştır.

4.2.12. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Metil esterin hazırlanmasında hekzan/izopropanol fazı içerisindeki lipit ekstrakt, sızdırma yapmayan 25 ml'lik deney tüplerine alınmıştır. Sonra 5 ml olacak şekilde % 2'lik metanolik sülfürik asitten üzerine eklenmiştir ve karışım 15 saat süresince 55 °C olan etüvde metilleşmeye bırakılmış, oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra, % 5 lik sodyum klorürden 5 ml üzerine ilave edilerek karıştırılmıştır. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 ml hekzan ile ekstrakte edilip 5 ml % 2 lik $KHCO_3$ ile muamele edilmiştir [64,65].

4.2.13. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Lipit ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra Shimadzu GC 2010 Plus gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Bu analiz için 30 m uzunluğunda, 0,25 µm iç çapında ve 25 mikron film kalınlığına sahip Rtx 2330 (USA) kapiller kolon kullanılmıştır. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 138-218 °C, enjeksiyon sıcaklığı 245 °C ve dedektör sıcaklığı 290 °C olarak tutulmuştur. Kolon sıcaklık programı 138 C'den 218 C'ye kadar programlanmıştır. Helyum gazı taşıyıcı gaz yerine kullanılmıştır. Analiz sırasında örnekler için yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek, her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlenmiştir..

4.2.14. İstatistik Metodu

Yapılan araştırma sonuçlarının değerlendirilmesinde SPSS 15.0 istatistik programı ile analizler yapılmıştır. Sonuçlar tablolar ve şekiller halinde ortalaması±SEM şeklinde verilmiştir.**5. BULGULAR**

Tespit edilen yağ asitlerinin kısaltmaları ve referans numaraları Tablo 5.1. de vitaminler ise Tablo 5.2. de verilmiştir.

Tablo 5.1. Yağ Asitlerinin genel gösterimi ve isimleri

Kısa Gösterim İsmlendirme	Yaygın İsim
14:0	Miristik asit
15:1	Pentaenoik asit
16:0	Palmitik asit
16:1, n-7	Palmitoleik asit
18:0	Stearik asit
18:1 n-9	Oleik asit
18:2, n-6	Linoleik asit
18:3, n-3	Linolenik asit
20:3	Eikosenoik asit
24:0	Lignoserik asit

Tablo 5.2. Vitaminlerin İsimleri

K2 vitamini
ST= Sigma tokoferol (Vitamin E'nin izomeri)
D2 vitamini
A Tok = Alfa Tokoferol (Vitamin E)
SSTEROL= Sigmasterol
BSTEROL = Betasitosterol

Vitamin Değerleri 1 g örnekte ug olarak miktarı hesaplanmıştır.

Tablo 5.3. Alıçlarda bulunan D,E,K vitaminleri ve fitosterollerin miktarı ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$ alıçta)

D,E,K Vitaminler ve Steroller	Ağın Kırmızısı (AK)	Sütlüce Kırmızısı (SK)	Tavşanuşağı Kırmızısı (TK)
K2	3,53±0,07	1,47±0,13 ***	1,40±0,20 ***
ST (δ -Tokoferol)	0,27±0,07	1,27±0,07 **	4,13±0,33 ***
D2	6,7±0,07	1,33±0,133 ***	3,2±0,00 **
A Tokoferol (Vitamin E)	22,8±0,00	10,40±0,40 ***	12,87±0,59 ***
Sigmasterol	98,00±0,00	32,13±0,07 ***	34,00±0,00 ***
β -sterol	225,73±2,14	169,33±0,07 ***	194,93±0,64 **

a: $p>0,05$: Alıç türleri arasında farklılık yok

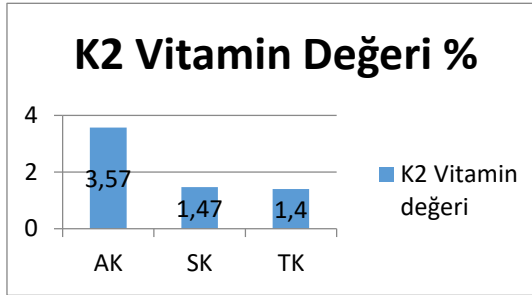
* = $P<0,05$: Alıç türleri arasında kısmen istatistiksel farklılık var

**= $p<0,01$: Alıç türleri arasında önemli düzeyde istatistiksel farklılık var

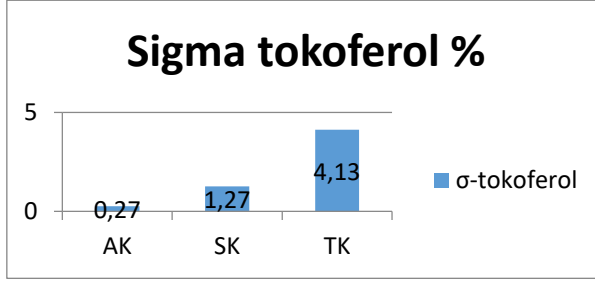
***= $p<0,001$: Alıç türleri arasında belirgin düzeyde istatistiksel farklılık var

Veri setleri arasındaki farklılıklar görsel olarak daha iyi anlaşılabilmesi için D,E,K vitaminler ve Steroller için sütun grafiği, yağ asitleri kompozisyonu değişimi için pasta grafiği, total fenolik ve total flavonoid düzeyleri için çizgi grafiği, DPPH radikalini temizleme aktiviteleri için çubuk grafiği, ABTS radikalini temizleme aktiviteleri için halka grafiği şekilleri kullanılmıştır.

5.1. D,E,K Vitaminler ve Fitosterollerle İlgili Sonuçlar

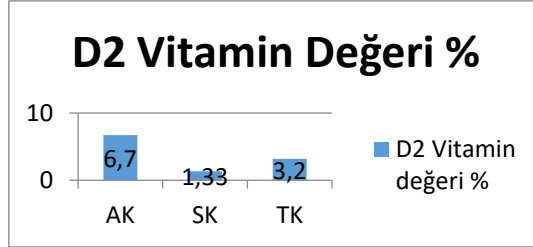
**Şekil 5.1.** İncelenen Alıçlarda bulunan K2 vitamin miktarı ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$ alıçta)

Araştırmada kullanılan alıçlar D,E,K vitaminler ve steroller açısından değerlendirildiğinde, **K2 vitamin** değerinin AK olarak adlandırılan alıçta SK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık SK ve TK olarak belirtilen alıçlar arasında istatistik farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 5.3) (Şekil 5.1).



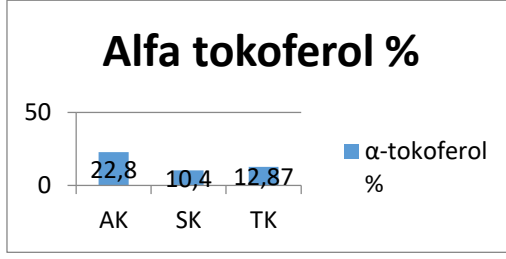
Şekil 5.2. İncelenen Alıçlarda bulunan (ST) Sigma tokoferil miktarı ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$ alıçta)

Araştırmada kullanılan alıçlar D,E,K vitaminler ve steroller açısından değerlendirildiğinde, **ST (Sigma tokoferol) vitamin** değerinin TK olarak adlandırılan alıçta SK ve AK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık SK alıcı AK olarak adlandırılan alıca göre karşılaştırıldığında istatistik anlamda önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0,01$) (Tablo 5.3) (Şekil 5.2).



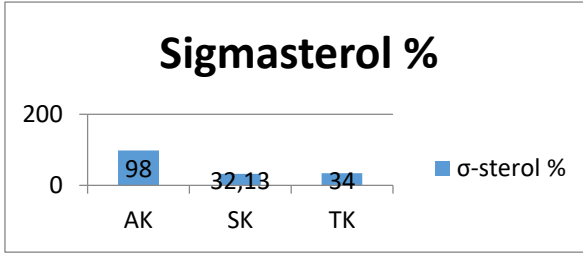
Şekil 5.3. İncelenen Alıçlarda bulunan D2 vitamin miktarı ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$ alıçta)

Araştırmada kullanılan alıçlar D,E,K vitaminler ve steroller açısından değerlendirildiğinde, D2 vitamin değerinin AK olarak adlandırılan alıç SK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulundu ($p<0,001$). Buna karşılık TK alıcı SK olarak adlandırılan alıca göre de yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 5.3) (Şekil 5.3).



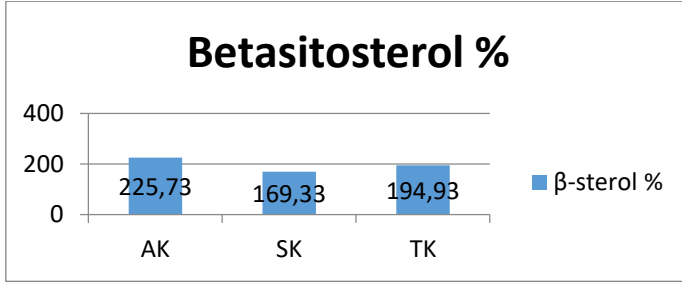
Şekil 5.4. İncelenen Alıçlarda bulunan α -tokoferal vitamin miktarı ($\mu\text{g}/1$ g alıçta)

Araştırmada kullanılan alıçlar D,E,K vitaminler ve steroller açısından değerlendirildiğinde, **α Tokoferol vitamin** değerinin AK olarak adlandırılan alıçta SK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulundu ($p<0,001$). Buna karşılık TK alıcı SK olarak adlandırılan alıca göre de yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 5.3) (Şekil 5.4).



Şekil 5.5. İncelenen Alıçlarda bulunan Sigmasterol vitamin miktarı ($\mu\text{g}/1$ g alıçta)

Araştırmada kullanılan alıçlar D,E,K vitaminler ve steroller açısından değerlendirildiğinde, Sigmasterol vitamin değerinin AK olarak adlandırılan alıçta SK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık TK alıcı SK olarak adlandırılan alıca göre, kısmen istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$) (Tablo 5.3) (Şekil 5.5).

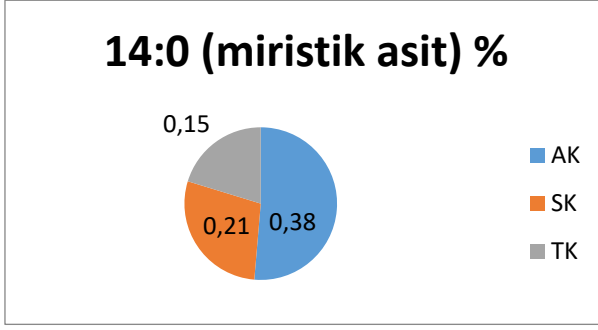


Şekil 5.6. İncelenen Alıçlarda bulunan β -sterol vitamin miktarı ($\mu\text{g}/1 \text{ g}$ alıçta)

Araştırmada kullanılan alıçlar D,E,K vitaminler ve steroller açısından değerlendirildiğinde, **β -sterol vitamin** değerinin AK olarak belirtilen alıçta SK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık TK alıcı SK olarak belirtilen alıca göre de yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 5.3) (Şekil 5.6).

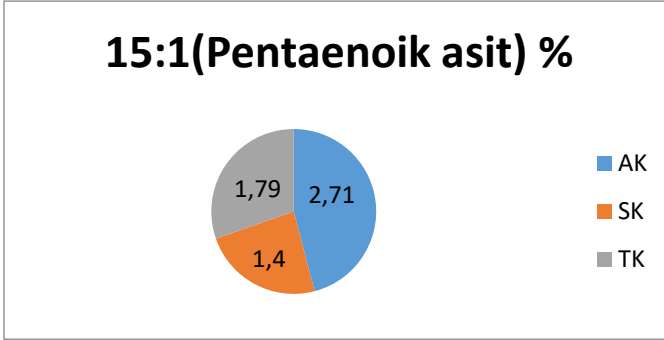
Tablo 54. İncelenen Alıçlarda yağ asitleri kompozisyonunun değişim miktarı (%)

Yağ Asitleri	Ağın Kırmızısı (AK)	Sütlüce Kırmızısı (SK)	Tavşansağı Kırmızısı (TK)
14:0	0,38±0,06	0,21±0,05 *	0,15±0,01 **
15:1	2,71±0,07	1,40±0,04 **	1,79±0,38 ***
16:0	25,38±0,16 ^a	26,61±0,55 ^a	29,27±0,69 *
16:1 n-7	1,64±0,16	0,65±0,01 ***	0,71±0,09 ***
18:0	5,77±0,42 ^a	4,36±0,24 **	5,01±0,05 ^a
18:1 n9c	16,52±0,68	19,43±0,82 **	14,21±0,64 *
18:2 n-6c	27,60±1,77 ^a	28,90±0,97 ^a	29,90±0,90 ^a
18:3 n3 LNA	18,74±0,34	7,92±0,63 ***	11,02±0,50 ***
20:3 n6	1,42±0,25	5,11±0,09 ***	4,41±0,39 ***
24:0	2,20±0,12	4,69±0,42 ***	3,53±0,15 ***



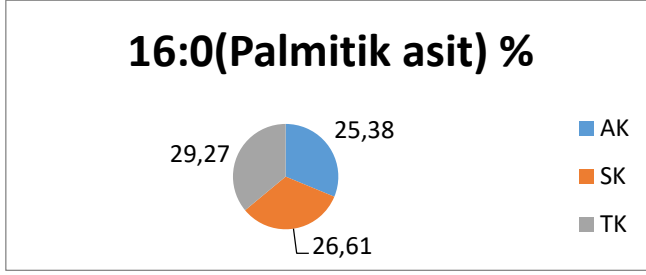
Şekil 5.7. İncelenen Alıçlarda 14:0 yağ asitleri kompozisyonunun değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **14:0 yağ asiti** değerinin AK olarak belirtilen alıçta SK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna karşılık SK alıcı TK olarak belirtilen alıca göre önemli düzeyde istatistik farklılık bulunmuştur ($p < 0,01$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.7).



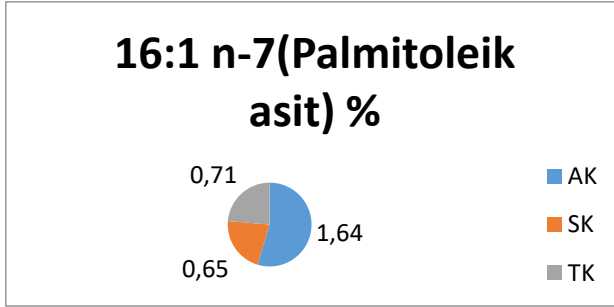
Şekil 5.8. İncelenen Alıçlarda 15:1 yağ asitleri kompozisyonunun değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **15:1 yağ asiti** değerinin AK olarak belirtilen alıçta, SK ve TK alıçlarına göre önemli düzeyde istatistik farklılık bulunmuştur ($p < 0,01$). Buna karşılık SK ve TK olarak belirtilen alıçlarda, istatistik farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.8).



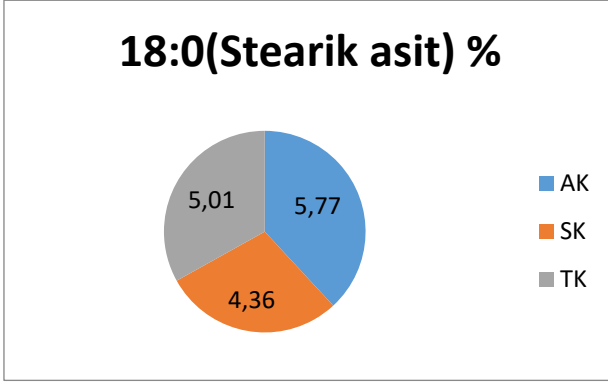
Şekil 5.9. İncelenen Alıçlarda 16:0 yağ asitleri kompozisyonunun değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **16:0 yağ asiti** değerinin TK olarak belirtilen alıçta AK ve SK olarak bilinen alıçlara göre kısmen istatistik farklılık bulunmuştur ($p>0,05$). Buna karşılık SK olarak bilinen alıçta AK olarak bilinen alıca göre kısmen istatistiksel farklılık bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.9).



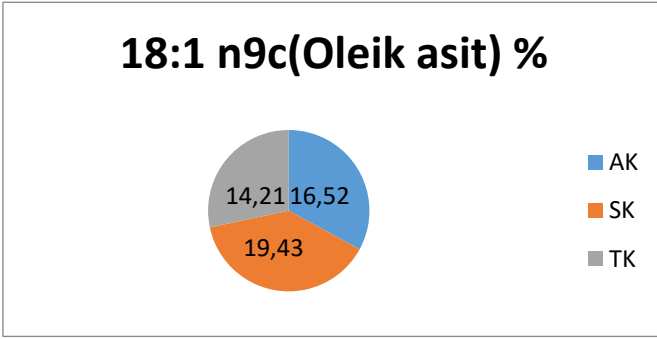
Şekil 5.10. İncelenen Alıçlarda 16:1 n-7 yağ asitleri kompozisyonunun değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **16:1 n-7 yağ asiti** değerinin AK olarak belirtilen alıçta, SK ve TK alıçlarına göre istatistik farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Buna karşılık SK ve TK olarak belirtilen alıçlarda istatistik olarak farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.10).



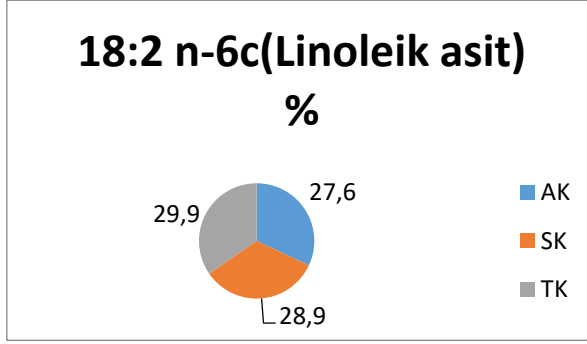
Şekil 5.11. İncelenen Alıçlarda 18:0 yağ asitleri kompozisyonunun değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde; **18:0 yağ asiti** değerinin AK, SK ve TK olarak belirtilen alıçlarda istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.11).



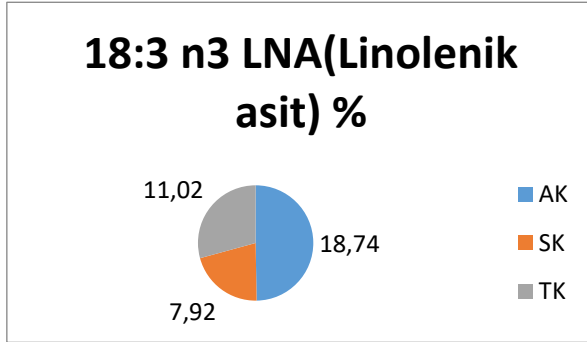
Şekil 5.12. İncelenen Alıçlarda 18:1 n9c yağ asitleri değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **18:1 n9c yağ asiti** değerinin, SK olarak belirtilen alıçta, AK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık AK alıçta, TK olarak belirtilen alıca göre istatistik farklılık bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.12).



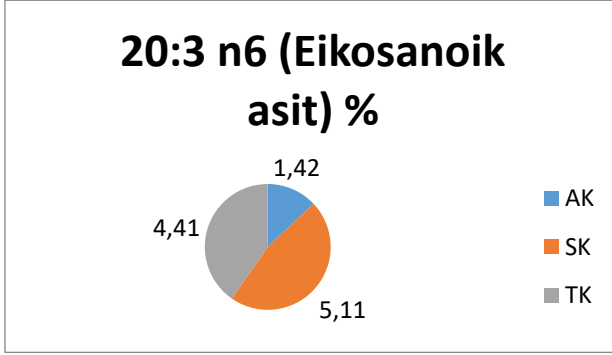
Şekil 5.13. İncelenen Alıçlarda 18:2 n-6c yağ asitleri değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **18:2 n-6c yağ asiti** değerinin, AK, SK ve TK olarak belirtilen alıçlarda istatistik farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.13).



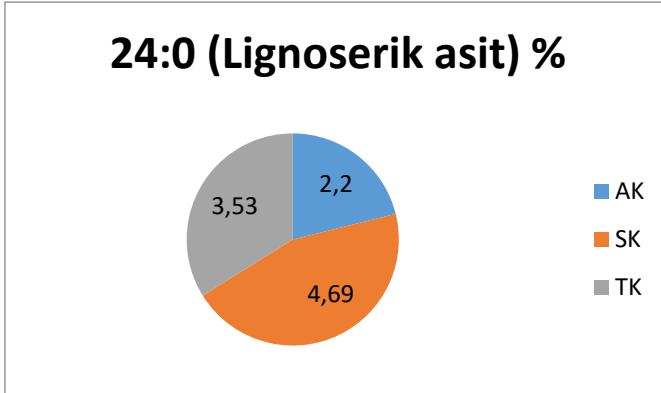
Şekil 5.14. İncelenen Alıçlarda 18:3 n3 LNA yağ asitleri değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **18:3 n3 LNA yağ asiti** değerinin AK olarak belirtilen alıçta, SK ve TK alıçlarına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık TK alıç, SK olarak belirtilen alıçta göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.14).



Şekil 5.15. İncelenen Alıçlarda 20:3 n6 yağ asitleri değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **20:3 n6 yağ asiti** değerinin SK ve TK olarak belirtilen alıçlar, AK alıcına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık SK alıcı ile TK olarak belirtilen alıç arasında istatistik farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 5.4) (Şekil 5.15).

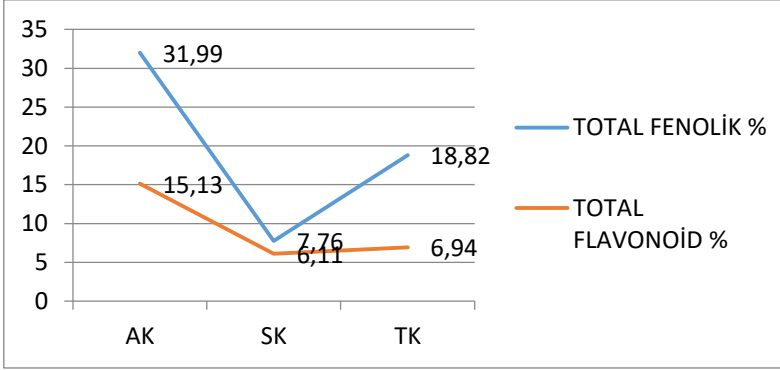


Şekil 5.16. İncelenen Alıçlarda 24:0 yağ asitleri değişim miktarı (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar yağ asitleri kompozisyonu değişim miktarı açısından değerlendirildiğinde, **24:0 yağ asiti** değerinin SK olarak belirtilen alıç, AK alıcına göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). (Tablo 5.4) (Şekil 5.16).

Tablo 5.5. Alıçların Total fenolik ve Total flavonoid düzeyleri %

Total Fenolik ve Total Flavonoid	Ağın Kırmızısı (AK)	Sütlüce Kırmızısı (SK)	Tavşanuşağı Kırmızısı (TK)
Total Fenolik (mg GAE/g)	31,99±0,27***	7,76±1,33	18,82±0,62***
Total Flavonoid (mg KE/g)	15,13±0,26***	6,11±0,22 ^a	6,94±0,14 ^a

**Şekil 5.17.** İncelenen Alıçlarda Total Fenolik (mg GAE/g) ve Total Flavonoid (mg KE/g) değişim miktarları

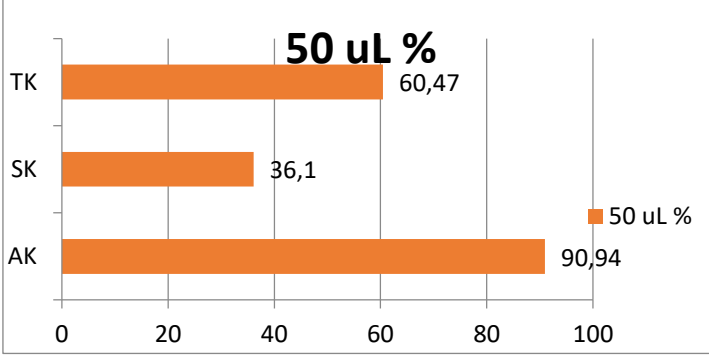
5.2. Total Fenolik ve Total Flavonoid

Araştırmada kullanılan alıçlar Total fenolik ve Total flavonoid düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, Total Fenolik (mg GAE/g) değeri AK olarak belirtilen alıçta SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna karşılık TK olarak belirtilen alıçta ise SK olarak belirtilen alıca göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur ($p < 0,001$) (Tablo 5.5) (Şekil 5.17).

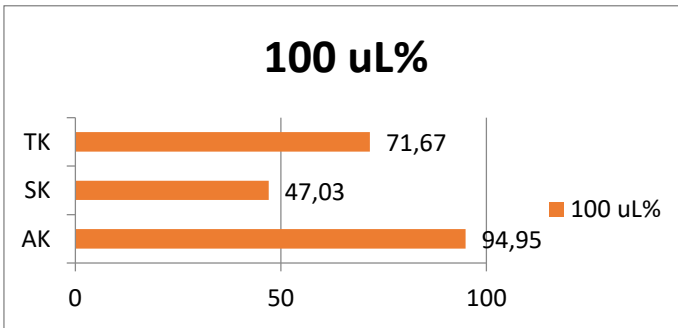
Araştırmada kullanılan alıçlar Total fenolik ve Total flavonoid düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, total flavonoid (mg KE/g) değeri AK olarak belirtilen alıçta, SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre belirgin düzeyde istatistiksel farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna karşılık SK ve TK olarak belirtilen alıçlar arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 5.5) (Şekil 5.17).

Tablo 5.6. Alıçların metanolik ekstraktlarının DPPH radikalini temizleme aktiviteleri (%)

DPPH aktivitesi	Ağın Kırmızısı (AK)	Sütlüce Kırmızısı (SK)	Tavşanuşağı Kırmızısı (TK)
50 uL	90,94±0,98***	36,1±5,83	60,47±4,42***
100 uL	94,95±0,14***	47,03±16,08	71,67±2,95***
200 uL	95,16±0,27***	76,30±1,11	66,14±2,92**

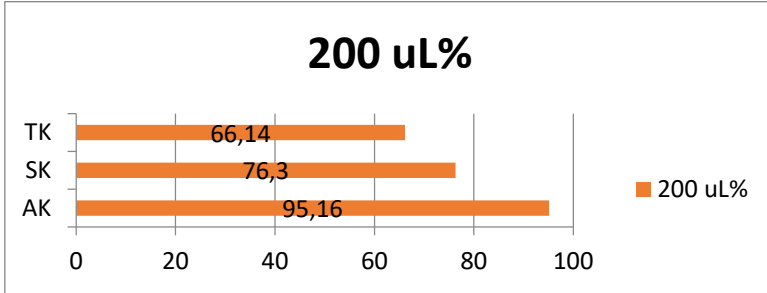
**Şekil 5.18.** Alıçların metanolik eks. DPPH rad. temizleme aktiviteleri 50 uL (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar metanolik ekstraktlarının DPPH radikalini temizleme aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde, **50 uL** değeri AK olarak belirtilen alıçta, SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre yüksek oranda bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna karşılık TK olarak belirtilen alıç, SK olarak belirtilen alıca göre belirgin düzeyde istatistiksel farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$) (Tablo 5.6) (Şekil 5.18).

**Şekil 5.19.** Alıçların metanolik ekst. DPPH rad. temizleme aktiviteleri 100 uL (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar, metanolik ekstraktlarının DPPH radikalini temizleme aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde, **100 uL** değeri AK olarak belirtilen alıçta, SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre yüksek oranda

bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık TK olarak belirtilen alıçta, SK olarak belirtilen alıca göre belirgin düzeyde istatistiksel farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 5.6) (Şekil 5.19).

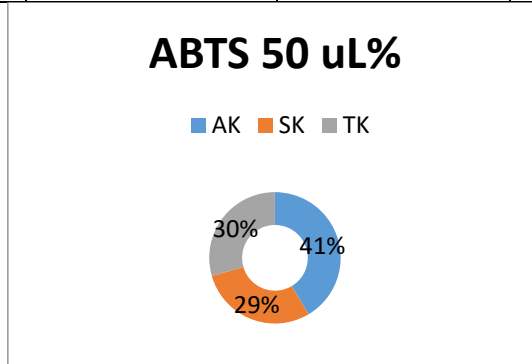


Şekil 5.20. Alıçların metanolik ekst. DPPH rad.temizleme aktiviteleeri 200 uL (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar metanolik ekstraktlarının DPPH radikalini temizleme aktiviteleeri açısından değerlendirildiğinde, **200 uL** değeri AK olarak belirtilen alıçta SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre yüksek oranda bulunmuştur ($p<0,001$). Buna karşılık SK olarak belirtilen alıç TK olarak belirtilen alıca göre önemli düzeyde istatistiksel farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0,01$) (Tablo 5.6) (Şekil 5.20).

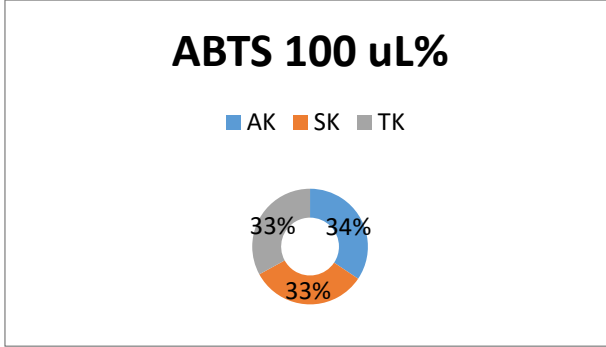
Tablo 5.7. Alıçların metanolik ekstraktlarının ABTS radikalini temizleme aktiviteleeri (%)

ABTS aktiviteleeri	Ağın Kırmızıleeri (AK)	Sütlice Kırmızıleeri (SK)	Tavşanuşağı Kırmızıleeri (TK)
50 uL	99,05±1,05***	69,47±0,85 ^a	70,39±1,06 ^a
100 uL	100,03±0,033**	94,96±0,24 ^a	95,87±0,54 ^a
200 uL	99,80±0,16*	96,38±0,32 ^a	97,33±0,28 ^a



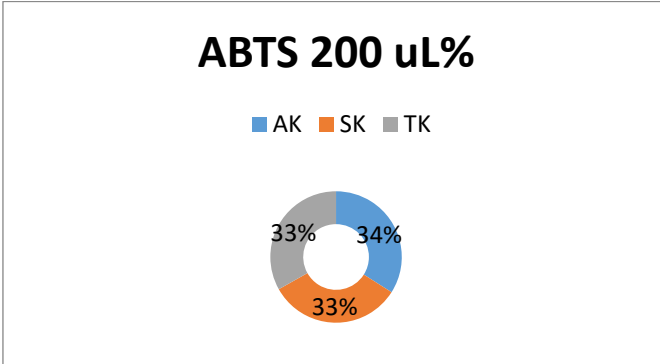
Şekil 5.21. Alıçların metanolik ekst. ABTS rad. temizleme aktiviteleeri 50 uL (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar metanolik ekstraktlarının ABTS radikalini temizleme aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde, **50 uL** değeri AK olarak belirtilen alıçta SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre yüksek oranda bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna karşılık SK olarak belirtilen alıç ve TK olarak belirtilen alıç arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 5)(Grafik 21).



Şekil 5.22. Alıçların metanolik ekst.ABTS rad. temizleme aktiviteleri 100 uL (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar metanolik ekstraktlarının ABTS radikalini temizleme aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde, **100 uL** değeri AK olarak belirtilen alıçta SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre istatistiksel oranda kısmen farklılık bulunmuştur ($P < 0,05$). Buna karşılık SK olarak belirtilen alıç ve TK olarak belirtilen alıç arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 5.7) (Şekil 5.22).



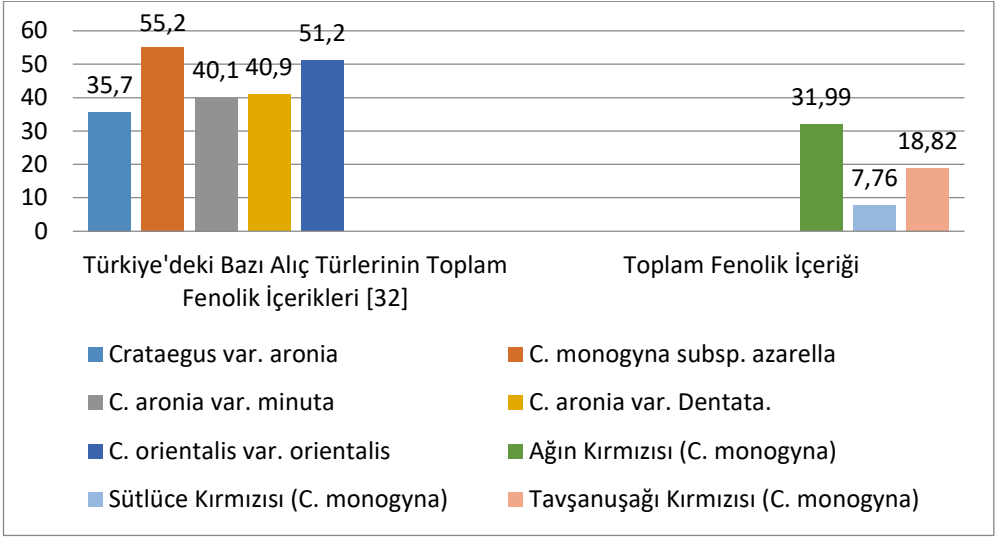
Şekil 5.23. Alıçların metanolik ekst. ABTS rad. temizleme aktiviteleri 200 uL (%)

Araştırmada kullanılan alıçlar metanolik ekstraktlarının ABTS radikalini temizleme aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde, **200 uL** değeri AK olarak belirtilen alıçta SK ve TK olarak belirtilen alıçlara göre istatistiksel oranda

kısmen farklılık bulunmuştur ($P<0,05$). Buna karşılık SK olarak belirtilen alıç ve TK olarak belirtilen alıç arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 5.7) (Şekil 5.23).

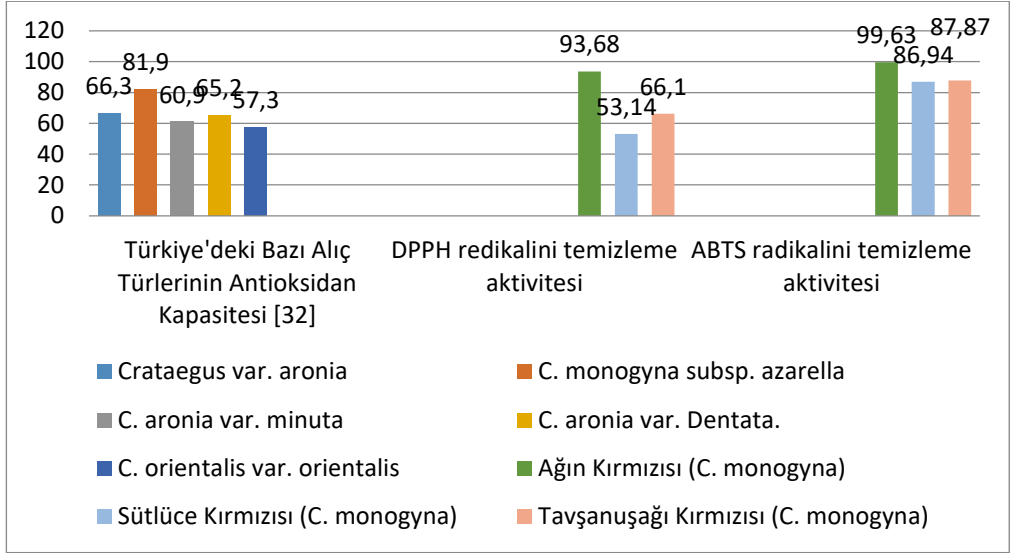
6. Tartışma Ve Sonuç

Bu tez çalışmasında; Elazığ bölgesinden toplanan üç farklı alıç meyvesinin biyokimyasal bileşimi araştırılmıştır. Alıç meyveleri içeriğinde total fenolik, total flavonoid, yağ asidi içeriği, total protein miktarı ve D,E,K vitamin içerikleri incelenmiştir. Bilindiği gibi alıç (*Crateagus monogyna*); sonbahar mevsiminde gelişimini tamamlayan bir sonbahar meyvesidir. Meyve olarak tüketildiği gibi yaprakları da farmakolojik olarak çeşitli rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Tez çalışması kapsamında; sonbahar mevsiminde Baskil ve Ağın yöresinden toplanmış üç farklı alıç meyvesinin hem biyokimyasal hem de besinsel olarak bileşimi incelenmiştir. Bulgularımızda alıç meyvelerinin total fenolik ve total flavonoid açısından bakıldığında; Ağın Kırmızısı olarak adlandırılan alıç meyvesinin Sütlice Kırmızısı ve Tavşanuşağı Kırmızısı olarak adlandırılan alıç meyvelerinden yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 5.5) (Şekil 5.17). Bu alıçlardan; metanol ile ekstrakte edilen ekstratlar, serbest radikal özellik taşıyan DPPH radikali ile muamele edildiği zaman bu radikale karşı antiradikal özellik taşıdıkları görülmektedir. Hazırlanan ekstratlerden, 50 μL , 100 μL ve 200 μL alınarak DPPH radikale karşı etkinliğine bakıldığında yine en etkili radikal temizleme aktivitesinin Ağın Kırmızısı olarak belirtilen alıç meyvesinde olduğu görülmektedir (Tablo 5.6). Bunu sırasıyla, Tavşanuşağı Kırmızısı olarak belirtilen alıç meyvesi ve Sütlice Kırmızısı izlemiştir. DPPH radikale karşı etkinlik ve radikal temizleme gücü % olarak belirtilmektedir. Bitki örneklerinden metanol veya etanol veya diğer organik çözücüler ile elde edilen ekstratların radikallere karşı etkinliği içeriğindeki antioksidan moleküllerin konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. En basitinden; Ağın Kırmızısı olarak bilinen alıç meyvesinin fenolik ve flavonoid içeriğinin diğerlerine göre yüksek olması DPPH radikali temizleme etkinliği ile doğrudan ilişkilidir. Bu sonuca göre alıçlardan elde edilen meyvelerin iyi bir antiradikal özellikli besinler olduğu söylenebilir. DPPH radikali olduğu gibi ABTS deneyi de maddeleri antioksidan kapasitesi ile ilişkilidir. Bu deney türünde de Ağın Kırmızısı diğerlerine göre antioksidan kapasite yönünden daha etkili olarak gözlenmiştir.



Şekil 6.1 Alıç örneklerinin Türkiye'deki bazı alıç türlerinin toplam fenolik içerikleri ile mukayesesi

Bulgularımıza bakıldığında alıç meyvelerinin Total fenolik düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, **Total Fenolik (mg GAE/g)** değeri Ağın Kırmızısı olarak belirtilen alıçta Sütlüce Kırmızısı ve Tavşanuşağı Kırmızısı olarak belirtilen alıçlara göre oldukça yüksek oranda bulunmuştur (Tablo 5.5) (Şekil 5.17). Ağın Kırmızısı olarak adlandırılan alıç meyvesinin Türkiye de Bulunan Bazı Alıç Türlerinin Toplam Fenolik İçeriğinin gösterildiği Tablo.1.1'de gösterilen en yüksek değere sahip olan *C. monogyna* ile arasında yaklaşık ½'de 42'lik bir fark olduğu görülmüştür.



Şekil 6.2. Alıç örneklerinin Türkiye'deki bazı alıç türlerinin antioksidan aktiviteleri ile mukayesesi

Bulgularımıza bakıldığında alıç meyvelerinin metanolik ekstraktlarının DPPH radikalini temizleme aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde 50-100-200 uL değerleri tablo 5.6 da ve şekil 5.18, şekil 5.19 ve şekil 5.20 de gösterilmiştir. Bu değerlerin ortalamasına bakıldığında Ağın Kırmızıısı olarak belirtilen alıçta Sötlüce Kırmızıısı ve Tavşanuşığı Kırmızıısı olarak belirtilen alıçlara göre yüksek oranda bulunmuştur (Şekil 6.2). Ağın Kırmızıısı olarak adlandırılan alıç meyvesinin Türkiye de Bulunan Bazı Alıç Türlerinin Antioksidan Kapasitesinin gösterildiği Tablo.1.1'de gösterilen en yüksek değere sahip olan *C. monogyna*'dan daha yüksek değere sahip olduğu ve arasında yaklaşık ½'de 12,57'lik bir fark olduğu görülmüştür. Alıç meyvelerinin metanolik ekstraktlarının ABTS radikalini temizleme aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde 50-100-200 uL değerleri tablo 5.7 de ve şekil 5.21, şekil 5.22 ve şekil 5.23 de gösterilmiştir. Bu değerlerin ortalamasına bakıldığında Ağın Kırmızıısı olarak belirtilen alıçta Sötlüce Kırmızıısı ve Tavşanuşığı Kırmızıısı olarak belirtilen alıçlara göre yüksek oranda bulunmuştur (Şekil 6.2). ABTS radikalini temizleme aktiviteleri bakımından bakıldığında sırasıyla Ağın Kırmızıısı, Tavşanuşığı Kırmızıısı ve Sötlüce Kırmızıısı olarak adlandırılan alıç meyvelerinin Türkiye de Bulunan Bazı Alıç Türlerinin Antioksidan Kapasitesinin gösterildiği Tablo.1.1'de ki tüm alıç türlerinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Total fenolik ve antioksidan kapasiteleri bakımından bir bütün olarak değerlendirdiğimizde AK, TK ve SK olarak adlandırılan alıç meyvelerinin Türkiye de Bulunan Bazı Alıç Türlerinin Total Fenolik ve Antioksidan Kapasitesinin gösterildiği Tablo.1.1'de gösterilen alıç türlerine göre toplam

fenolik içeriğinin daha az olduğu ancak antioksidan kapasitelerinin Tablo.1.1’de gösterilen tüm alıç türlerinden daha fazla olduğu ortaya konmuştur. Çalışma kapsamında; yağda çözünür vitaminler olan D, E, ve K vitaminlerinin içeriği de incelenmiştir. Bu vitaminler insanlarda ve hayvansal organizmalarda hücre sentezi olmadığı için besinler ile doğrudan alınması gerekir. Bu vitaminler içinde antioksidan etkinliği olan vitamin molekülleri bulunduğu gibi, metabolizma reaksiyonları içinde rolleri olan vitaminler bulunmaktadır. K vitamini yüksek yapılı organizmalarda kanın pıhtılaşma mekanizmasıyla doğrudan ilişkili olduğu halde diğer metabolik reaksiyonlarda da görevi vardır. D vitamini yüksek yapılı organizmalarda kemik hücrelerinin kalsiyum iyonları alması ve kemiklerin gelişiminde önemlidir. Ayrıca diğer metabolik faaliyetlerde de görevi vardır. Vitamin E olarak bilinen Alfa tokoferol hücrelerde en önemli bir antioksidan savunma mekanizması olarak bilinir. Ayrıca yüksek yapılı organizmalarda infertilite olarak bilinen kısırılık olayında rolü vardır. Yani E vitamini eksikliği sonucu infertilite olayı ortaya çıkmaktadır. Vitamin E bileşenleri içinde α (alfa), β (Beta), γ (Gamma) ve δ (Sigma) gibi bileşenleri bulunmaktadır. Canlı sistemde yer alan moleküller içinde en etkili olan vitamin E molekülü türevi α (alfa) tokoferol molekülüdür. α (alfa) tokoferol hücrenin su ile teması olamayan membran yapısında en etkili antioksidan molekülüdür. Alıç meyvelerinin D,E,K vitamin içeriğine bakıldığında yine Ağın Kırmızısı olarak bilinen meyvede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Ağın Kırmızısı stigmasterol ve betasitosterol olarak bilinen fitosteroller açısından da diğerine göre daha iyi olduğu görülmektedir. Hem D,E,K hem de fitosterol gibi moleküller insanlar ve hayvansal organizmalar tarafından sentezlenmemektedir. Budan dolayı bunların ya hayvansal besinler ile alınması ya da bitkisel besinler ile alınması gerekmektedir. Tezin konusu olan alıç meyvelerinin D,E,K vitamin ve besin kalitesi yönünden Ağın Kırmızısı>Tavşanuşağı>Sütlüce Kırmızısı şeklinde sıralanmasının uygun olacağını ifade edebiliriz (Tablo 5.3). Gaz kromatografi cihazı ile yapılan yağ asidi analizlerinde, meyvelerin yağ asidi kompozisyonu içinde başlıca olarak, Palmitik asit (16:0), Stearik asit (18:0), Oleik asit (18:1, n-9), Linoleik asit (18:2, n-6) ve Linolenik asit (18: 3, n-3) gibi yağ asitlerinin bulunduğu gözlenmiştir (Tablo 2). Bu yağ asitlerinin dışında, Miristik asit (14:0), Pentenoik asit (15:0), Palmitoleik asit (16:1, n-7), Eikosenoik asit (20:3, n-6) ve lignoserik asit (24:0) gibi yağ asitlerinin alıç meyvesinin yağ asidi kompozisyonu içinde düşük miktarda olduğu belirlenmiştir (Tablo 5.4). İnsanların beslenmesinde yer alan besinlerin kalitesi açısından bakıldığında içeriğinde valin, lösin, izolösin, triptofan, fenilalanin, methionin, lizin ve treonin gibi esansiyel amino asitler ve lnoleik asit (18:2, n-6) ile lnolenik asit (18:3, n-3) gibi esansiyel yağ asidi içeriği yüksek olan besinler ilk sıralarda gelmektedir. Bu amino asitler

ile esansiyal yağ asitleri bitkiler tarafından sentezlenmekte ve tohum, meyve ve depo organlarında saklanmaktadır. Çalışmada, yağ asidi içeriğine baktığımız alıç meyvelerinin her üçünde de esansiyal yağ asidi olarak ifade edilen linoleik asit ile linolenik asit içeriğinin % 35-40 arasında olduğu gözlenmiştir (Tablo 5.4). Esansiyal yağ asidi kalitesi bakımından sıralama yapıldığında, incelediğimiz alıç meyvelerinin en yüksekten düşük olana doğru Ağın Kırmızısı>Tavşanuşağı>Sütlüce Kırmızısı sıralama yapılabilir. Linoleik asit ve linolenik asit gibi esansiyal yağ asitleri yalnızca bitkiler tarafından sentezlenir. Bitkilerde bulunan $\Delta 12$ desaturaz enzimi oleik asitten (18:1 n-9) linoleik asit sentezini gerçekleştirir ve $\Delta 15$ desaturaz enzimi de linoleik asitten linolenik asit sentezini yapar. Bu enzimler insanlarda ve hayvansal organizmalarda bulunmadığı için bu yağ asitlerini sentezleyemezler. Bu yağ asitleri sağlıklı bir beslenme için beslenme aracılığı ile bitkisel besinlerden alınmalıdır. Bu yağ asitleri insanlarda ve hayvansal organizmalarda mevcut olan $\Delta 6$ desaturasyon yoluyla araşidonik asit (20:4, n-6) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) gibi çok çift bağlı yağ asitlerinin sentezini sağlarlar. Bu yağ asitleri hücrelerin membran yapısının en önemli moleküler yapıtaşlarıdır. Yağ asidi bakımından incelenen alıç meyvelerinin her üçünün de esansiyal yağ asidi bileşimi bakımından yüksek içeriğe sahip olduğu gözlenmiştir. Bu iki yağ asidi dışındaki yağ asitleri metabolik olarak glukozdan sentezlenmekte ve $\Delta 9$ desaturaz enzimi veya sterol CoA desaturaz enzimi tarafından 9-10. C atomları arasına bir çift bağı girişini sağlamaktadır. Yani metabolik olarak sentezlendiği için esansiyal özellik taşımazlar. Bundan dolayı sağlıklı beslenme açısından besinlerin linoleik asit ve linolenik asit içeriklerinin yüksek olması gerekir.

Sonuç olarak farklı bölgelerden toplanan alıç meyvelerinin biyokimyasal içerikleri ve antioksidan kapasitelerine bakıldığında; Ağın Kırmızısı olarak ifade edilen alıç meyvesindeki değerlerin yüksek olduğu gözlenmiştir. Esansiyal yağ asidi içeriği bakımdan da her üç alıç meyvesindeki esansiyal yağ asidi içeriğinin toplam yağ asidi içinde % 36- 45 arasında bulunması önemli bir ölçüt olarak görülebilir. Başta Ağın Kırmızı olmak üzere Sütlüce Kırmızısı ve Tavşanuşağı Kırmızısı olarak ifade edilen alıç meyvelerin insan beslenmesinde faydalı bir meyve olduğu sonucu teyit edilmiştir. Dokumacı vd.,2021'in çalışmalarında belirtildiği gibi alıç meyvelerinin insan beslenmesi için takdire şayan bir doğal besin olduğu sonucuna varılmıştır [66]. Çınar vd., 2020'nin batı Akdeniz bölgesi alıç taksonlarında yaptığı çalışmadaki [67] benzer şekilde Elazığ alıçlarının da tıbbi kullanım açısından önem arz ettiği anlaşılmaktadır.

TEŞEKKÜR: Çalışma kapsamında biyokimyasal analizlerin yapılmasında desteklerini esirgemeyen Görkem KIRMIZIKAYA Özmen'e ve FÜBAP MF. 22.08 no'lu projeye teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Mizaton HH, Sunggip C, Mansor MA, Adam A. (2009). In vitro Antioxidant Activities: Comparative Analysis of the *Octomeles sumatrana*, *Eugenia polyantha* and *Intsia Palembanica* Extracts. *Free Rad Res* 43: S27–97.
- Heinrich, M., Leonti, M. A. R. C. O., Nebel, S., & Peschel, W. (2005). "Local food-nutraceuticals": an example of a multidisciplinary research project on local knowledge. *Journal of Physiology and Pharmacology. Supplement*, 56(1), 5-22.
- Gökbunar, L. (2007) Alıç (*Crataegus* spp.)'in İn Vitro Mikroçoğaltımı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi. 32 s.
- Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2011). Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *Phytochemical analysis*, 22(2), 181-188.
- Camejo-Rodrigues JS, Ascensão L, BoneT MÀ, Vallès J. (2003). An ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of Serra de S. Mamede (Portugal). *J Ethnopharmacol* 89: 199–209.
- Novais HM, Santos I, Mendes S, Pinto-Gomes C. (2004). Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrábida Natural Park. *J. Ethnopharmacol* 93: 183–195.
- Pinto Carvalho, A. M. (2005). Etnobotánica del Parque Natural de Montesinho plantas, tradición y saber popular en un territorio del Nordeste de Portugal. Doctora thesis. 456 p.
- Neves JM, Matosa C, Moutinho C, Queiroz G, Gomes LR. (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *J. Ethnopharmacol* 124: 270–283.
- Pardo de Santayana M, Tardio J, Blanco E, Carvalho AM, Lastra JJ, San Miguel E, Morales R. (2007). Traditional Knowledge of Wild Edible Plants used in the Northwest of the Iberian Peninsula (Spain and Portugal): A Comparative Study. *J Ethnobiol Ethnomed* 3: 27–37.
- Bernatonienė, J., Masteikova, R., Majienė, D., Savickas, A., Kėvelaitis, E., Bernatonienė, R., & Pečiūra, R. (2008). Free radical-scavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina*, 44 (9), 706.
- Tadić, V. M., Dobrić, S., Marković, G. M., Đorđević, S. M., Arsić, I. A., Menković, N. R., & Stević, T. (2008). Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-

scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(17), 7700-7709.

- Signorini MA, Piredda M, Bruschi P. (2009). Plants and Traditional Knowledge: An Ethnobotanical investigation on Monte Ortobene (Nuoro, Sardinia). *J. Ethnobiol Ethnomed* 5: 6–20.
- Romero-Jiménez, M., Campos-Sánchez, J., Analla, M., Muñoz-Serrano, A., & Alonso-Moraga, Á. (2005). Genotoxicity and Antigenotoxicity of Some Traditional Medicinal Herbs. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 585(1-2), 147-155.
- Oğuzbey, D. (2021). Alıç Çekirdeği Yağının Biyokimyasal Karakterizasyonu. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Eczacılık Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Mersin.
- Bingöl, G. (1977). Vitaminler ve enzimler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi No: 46. Ankara
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The Role of Antioxidants in Human Health. In *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy* (pp. 1-37). American Chemical Society.
- Ertem. İ.H. (2022). Bingöl'ün Farklı Lokasyonlarından Elde Edilen *Crataegus orientalis* (doğu alıcı) Meyvesinin Bazı Biyokimyasal Değerlerinin Tespit Edilmesi. *Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Bingöl*
- Özderin, S. (2014). Batı Anadolu'da Doğal Yayılış Göseren Bazı Alıç (*Crataegus L. spp.*) Taksonlarının Botanik Ve Kimyasal Özellikleri, Süleyman Demirel Üniv. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Isparta.*
- Anonim (2021b) <https://peyzajakademi.com/rosaceae-gulgiller-familyasi-bitkileri-2/E.T. 20.01.2021>
- Anonim (2021c) <http://www.agacler.org/agac.asp?id=882E.T. 20.01.2021>
- Kurbanova, R., Mirzaoğlu, R., Özcan, E., Şeker, R. & Koçak, A. (1998). Hastalıkların tedavisinde kullanılan meyve ve sebze bitkileri. Konya, ss. 46
- Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., & Chow, M. S. (2002). Hawthorn. *Journal of Clinical Pharmacology*, 42(6), pp. 605–612.
- Pinkas, M., Peng, W., Torck, M., & Trotin, F. (1996). *Plantes médicinales chinoises*. Paris, Maloine ed., pp. 1-194.

- Veveris, M., Koch, E., & Chatterjee, S. S. (2004). *Crataegus special* extract WSR 1442 improves cardiac function and reduces infarct size in a rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion. *Life Sciences*, 74 (15), 1945–1955.
- Pittler, M. H., Guo, R., & Ernst, E. (2008). Hawthorn extract for treating chronic heart failure. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 1; Art. No.: CD005312.
- Rigelsky JM, Sweet BV. (2002) Hawthorn: pharmacology and therapeutic uses. *Am J Health Syst Pharm*; pp. 59: 417–422.
- Barceloux D. (2008) Hawthorn (*Crataegus* sp.). In: Barceloux DG, editor. *Medical toxicology of natural substances: foods, fungi, medicinal herbs, plants, and venomous animals*. Wiley Interscience; 510 pp.
- Weihmayr T, Ernst E. (1996) Herapeutic effectiveness of *Crataegus*. *Fortschr Med*; pp. 114:27–9.
- Leung AY, Foster S. (1996) *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics*. 2nd ed. New York: John Wiley; 649 pp.
- Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. (2001) Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia. *J Ethnopharmacol* ; 115: (75-95).
- Çalışkan O, Gündüz K, Serçe S, Toplu C, Kamiloğlu O, Şengül M, vd. (2012) Phytochemical characterization of several hawthorn (*Crataegus spp.*) species sampled from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Pharmacogn Mag*; pp. 8:16–21.
- Jarzycka, A., Lewińska, A., Gancarz, R., & Wilk, K. A. (2013). Assessment of extracts of *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* in photoprotective UVA and UVB; photostability in cosmetic emulsions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, pp. 128, 50-57.
- Shirzadi-Ahodashi, M., Mortazavi-Derazkola, S., & Ebrahimzadeh, M. A. (2020). Biosynthesis of noble metal nanoparticles using *Crataegus monogyna* leaf extract (CML@ X-NPs, X= Ag, Au): Antibacterial and cytotoxic activities against breast and gastric cancer cell lines. *Surfaces and Interfaces*, pp. 21, 100697.
- Anonim (2021c) <https://www.aa.com.tr/tr/turkiye/dogal-ilac-dag-meyvesi-alic/1620048E>. T. 20.01.2021.
- García-Mateos, R., Ibarra-Estrada, E., & Nieto-Angel, R. (2013). Antioxidant compounds in hawthorn fruits (*Crataegus spp.*) of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, pp. 84(4), 1298-1304.

- Orman Genel Müdürlüğü, Bursa Orman Bölge Müdürlüğü, (2011). Yabani Meyveli Orman Ağaçları Eylem planı . 2012-2016 ss. 22
- Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Zhou, C., & Yang, B. (2011). Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus spp.*) fruits by high performance liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Chemistry*, pp. 127(3), 1370-1377.
- Ahumada, M. C., Garcia, M. D., Sáenz, M. T., & Aznar, J. (1995). Antimitotic and cytostatic activity of *Viscum cruciatum* Sieber parasitic on *Crataegus monogyna* Jacq. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, pp. 70(3), 233-236.
- Cloud, A. M. E., Vilcins, D., & McEwen, B. J. (2019). The effect of hawthorn (*Crataegus spp.*) on blood pressure: A systematic review. *Advances in Integrative Medicine*.
- Konyalıoğlu, S., Cebe, G. E., & Aktar, S. (2017). Antioxidant activity of *Crataegus monogyna* L flowers. *Free Radical Biology and Medicine*, 108, pp. 56.
- Copra-Janicijevic, A., Culum, D., Vidic, D., Tahirovic, A., Klepo, L., & Bagic, N. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of the endemic *Crataegus microphylla* Koch subsp malyana KI Chr. & Janjic from Bosnia. *Industrial crops and products*, pp. 113, 75-79.
- Edwards, J. E., Brown, P. N., Talent, N., Dickinson, T. A., & Shipley, P. R. (2012). A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*, pp. 79, 5-26.
- Dalli, E., Vallés, J., Cosín-Sales, J., Santos, M. T., Moscardó, A., Milara, J., & Sotillo, J. F. (2011). Effects of hawthorn (*Crataegus laevigata*) on platelet aggregation in healthy volunteers. *Thrombosis research*, pp. 128(4), 398-400.
- Çalışkan, O. (2015). Mediterranean Hawthorn Fruit (*Crataegus*) Species and Potential Usage. In *The Mediterranean Diet* (pp. 621-628). Academic Press.
- Svedström, U., Vuorela, H., Kostianinen, R., Tuominen, J., Kokkonen, J., Rauha, J. P., ... & Hiltunen, R. (2002). Isolation and identification of oligomeric procyanidins from *Crataegus leaves* and flowers. *Phytochemistry*, pp. 60(8), 821-825.
- Nunes, M. A., Rodrigues, F., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. (2017). Herbal products containing *Hibiscus sabdariffa* L., *Crataegus spp.*, and *Panax spp.*: Labeling and safety concerns. *Food Research International*, pp. 100, 529-540.
- Liu, S., Chang, X., Liu, X., & Shen, Z. (2016). Effects of pretreatments on anthocyanin composition, phenolics contents and antioxidant capacities during fermentation of hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) drink. *Food chemistry*, pp. 212, 87-95.

- Rastogi, S., Pandey, M. M., & Rawat, A. K. S. (2016). Traditional herbs: a remedy for cardiovascular disorders. *Phytomedicine*, pp. 23(11), 1082-1089.
- Rodrigues, S., Calhelha, R. C., Barreira, J. C., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Abreu, R. M., ... & Ferreira, I. C. (2012). *Crataegus monogyna* buds and fruits phenolic extracts: Growth inhibitory activity on human tumor cell lines and chemical characterization by HPLC–DAD–ESI/MS. *Food Research International*, pp. 49(1), 516-523.
- Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J. L., Trotin, F., & Grec, S. (2009). Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*, pp. 115(3), 897-903.
- Rosario García-Mateos, M., Ibarra-Estrada, E., & Nieto-Ángel, R. (2013) Antioxidant compounds in hawthorn fruits (*Crataegus spp.*) of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, pp. 84(4).
- İdris-Khodja, N., Auger, C., Koch, E., & Schini-Kerth, V. B. (2012). *Crataegus* special extract WS (®) 1442 prevents aging-related endothelial dysfunction.
- Özderin, S. (2014). Batı Anadolu'da Doğal Yayılış Gösteren Bazı Alıç (*Crataegus L. spp.*) taksonlarının Botanik ve Kimyasal özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Isparta*. 157 s.
- Yanar, M. (2021) Bazı alıç (*Crataegus spp.*) Genotiplerinin Pomolojik Kimyasal ve Moleküler Karakterizasyonu. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı. Doktora Tezi. Adana*
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- Kim, D. O., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food chemistry*, 81(3), 321-326.
- Hsu, B., Coupar, I. M., & Ng, K. (2006). Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene thebaica*. *Food chemistry*, 98(2), 317-328.
- Hara, A., & Radin, N. S. (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*, 90(1), 420-426.

Katsanidis, E., & Addis, P. B. (1999). Novel HPLC analysis of tocopherols, tocotrienols, and cholesterol in tissue. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1137-1140.

Doç. Dr. Sema KAZAN

BÖLÜM 38

PS-İSTATİSTİKSEL MANİFOLDLARIN İNVARİYANT ALTMANİFOLDLARI

Doç.Dr. Sema KAZAN¹

¹ İnönü Üniversitesi, Malatya, Turkey
ORCID: 0000-0002-8771-9506

1. Giriş

Bu bölümde istatistiksel manifoldlar hakkında temel kavramlara yer verilmektedir.

H üzerinde $\beta \in \mathbb{R}$ ile indekslenmiş $\mathcal{D}^{(\beta)}$ torsiyonsuz konneksiyonun parametrik bir ailesi

$$\mathcal{D}^{(\beta)} = \frac{1 + \beta}{2} \mathcal{D} - \frac{1 - \beta}{2} \mathcal{D}^{(*)}, \quad (1)$$

ile tanımlanır ki burada

$$\mathcal{D}^{(1)} = \mathcal{D}, \mathcal{D}^{(-1)} = \mathcal{D}^{(*)}, \mathcal{D}^{(0)} = (\mathcal{D} + \mathcal{D}^{(*)}) := \widehat{\mathcal{D}}, \quad (2)$$

dır, $\widehat{\mathcal{D}}$ konneksiyonu ρ ile belirtilen Levi-Civita konneksiyonunu göstermektedir.

Çalışmada, n -boyutlu manifold H , Riemann metriği ρ ve H üzerinde (p, q) tipinde tensör alanlarının kümesi $\Gamma(TH^{(p,q)})$ olarak kabul edilmektedir.

Eğer $\forall Z_1, Z_2, Z_3 \in \Gamma(TH)$ için \mathcal{D} , torsiyonsuz ve

$$(\mathcal{D}_{Z_1} g)(Z_2, Z_3) = (\mathcal{D}_{Z_2} g)(Z_1, Z_3) \quad (3)$$

ise (3) denkleminde *Codazzi denklemi* denir. (\mathcal{D}, ρ) çiftine de H üzerinde bir *istatistiksel yapı* denir. Bu durumda (H, \mathcal{D}, ρ) üçlüsü *istatistiksel manifold* diye isimlendirilir.

(\mathcal{D}, ρ) , H üzerinde bir istatistiksel yapı olsun. Bu durumda

$$Z_1 \rho(Z_2, Z_3) = \rho(\nabla_{Z_1} Z_2, Z_3) + \rho(Z_2, \nabla_{Z_1} Z_3) \quad (4)$$

denkleminde verilen \mathcal{D}^* konneksiyonu, ρ ya göre \mathcal{D} nin dual konneksiyonu ya da konjuge konneksiyonu olarak isimlendirilir. Eğer (\mathcal{D}, ρ) , H üzerinde bir istatistiksel yapı ise bu durumda (\mathcal{D}^*, ρ) da H üzerinde bir istatistiksel yapıdır.

Afin geometride konjuge konneksiyon diye isimlendirilen dual konneksiyon kavramı, 1983 yılında S. Amari tarafından sunuldu (Amari, 1985). Bir Riemann metrikle birlikte dual afin konneksiyon çiftinin oluşturduğu bir istatistiksel model, bir istatistiksel manifold olarak isimlendirilir. Detaylar için bkz (Kazan, 2019), (Furuhata, 2009), (Furuhata, Hasegawa, Okuyama, Sato, & Shahid, 2017;), (Furuhata, Hasegawa, Okuyama, & Sato, 2017), (Kazan & Kazan, 2018), (Kurose, 1990), (Balgeshir, 2022).

Bir (\mathcal{D}, ρ) istatistiksel yapısı için, fark tensörü $\mathcal{K} \in \Gamma(TH^{(1,2)})$

$$\mathcal{K}(Z_1, Z_2) = \mathcal{D}_{Z_1} Z_2 - \widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} Z_2, \quad \forall Z_1, Z_2 \in \Gamma(TH), \quad (5)$$

olarak tanımlanır, burada \mathcal{K}

$$\mathcal{K}(Z_1, Z_2) = \mathcal{K}(Z_2, Z_1), \quad (6)$$

$$\rho(\mathcal{K}(Z_1, Z_2), Z_3) = \rho(Z_2, \mathcal{K}(Z_1, Z_3)) \quad (7)$$

şartlarını sağlar. Böylece

$$\mathcal{K} = \widehat{\mathcal{D}} - \mathcal{D}^* = \frac{1}{2}(\mathcal{D} - \mathcal{D}^*) \quad (8)$$

eşitliğine sahip oluruz.

Lemma 1. (H, \mathcal{D}, ρ) bir istatistiksel manifold olsun. Bu durumda \mathcal{R}_{crv} ve $\mathcal{R}^*_{\text{crv}}$ eğrilikleri aşağıdaki simetri özelliklerini sağlar (Kazan S. , 2022):

a) $\mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3 + \mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_2, Z_3)Z_1 + \mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_3, Z_1)Z_2 = 0,$

$$\mathcal{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3 + \mathcal{R}^*_{\text{crv}}(Z_2, Z_3)Z_1 + \mathcal{R}^*_{\text{crv}}(Z_3, Z_1)Z_2 = 0;$$

b) $\mathfrak{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}_{\text{crv}}(Z_2, Z_1, Z_3, W) = 0,$

$$\mathfrak{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}^*_{\text{crv}}(Z_2, Z_1, Z_3, W) = 0;$$

c) $\mathfrak{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, W, Z_3) = 0$ olması için gerek ve yeter koşul $(\widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} \mathcal{K})(Z_2, W) = (\widehat{\mathcal{D}}_{Z_2} \mathcal{K})(Z_1, W)$ olmasıdır.

$$\mathfrak{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, W, Z_3) = 0$$
 olması için gerek ve yeter koşul $(\widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} \mathcal{K})(Z_2, W) = (\widehat{\mathcal{D}}_{Z_2} \mathcal{K})(Z_1, W)$ olmasıdır.

d) $\mathfrak{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}_{\text{crv}}(Z_3, W, Z_1, Z_2) = 0$ dır, eğer $(\widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} \mathcal{K})(Z_2, W) = (\widehat{\mathcal{D}}_{Z_2} \mathcal{K})(Z_1, W)$ ise,

$$\mathfrak{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}^*_{\text{crv}}(Z_3, W, Z_1, Z_2) = 0$$
 dır, eğer $(\widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} \mathcal{K})(Z_2, W) = (\widehat{\mathcal{D}}_{Z_2} \mathcal{K})(Z_1, W)$ ise,

burada $\mathfrak{R}_{\text{crv}}$ ve $\mathfrak{R}^*_{\text{crv}} \in \Gamma(TH^{(0,4)})$ tensörleri sırasıyla \mathcal{R}_{crv} ve $\mathcal{R}^*_{\text{crv}}$ tensörlerinin Riemann-Christoffel eğrilik tensörleridir ve onlar $\forall Z_1, Z_2, Z_3, W \in \Gamma(TH)$ için $\rho(\mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3, W) = \mathfrak{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W)$ ve $\rho(\mathcal{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3, W) = \mathfrak{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2, Z_3, W)$ olarak tanımlanırlar. (Furuhata, Hasegawa, Okuyama, Sato, & Shahid, 2017;) de yazarlar ayrıca bir $\mathcal{R}^S_{\text{crv}} \in \Gamma(TH^{(1,3)})$ eğrilik tensörünü $\forall Z_1, Z_2, Z_3, W \in \Gamma(TH)$ için

$$\mathcal{R}^S_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3 = \frac{1}{2}\{\mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3 + \mathcal{R}^*_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3\}, \quad (9)$$

olarak verdiler ve onu (\mathcal{D}, ρ) nin istatistiksel eğrilik tensör alanı diye isimlendirdiler.

Böylece $\mathcal{R}^S_{\text{crv}}$ nin simetri özellikleri için aşağıdaki teoremi verebiliriz:

Theorem 1. (H, \mathcal{D}, ρ) bir istatistiksel manifold olsun. Bu durumda \mathcal{R}^S_{crv} istatistiksel eğrilik tensör alanı, aşağıdaki simetri özelliklerini sağlar (Kazan S. , 2022):

- a) $\mathcal{R}^S_{crv}(Z_1, Z_2)Z_3 + \mathcal{R}^S_{crv}(Z_2, Z_3)Z_1 + \mathcal{R}^S_{crv}(Z_3, Z_1)Z_2 = 0,$
- b) $\mathfrak{R}^S_{crv}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}^S_{crv}(Z_2, Z_1, Z_3, W) = 0,$
- c) $\mathfrak{R}^S_{crv}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}^S_{crv}(Z_1, Z_2, W, Z_3) = 0,$
- d) $\mathfrak{R}^S_{crv}(Z_1, Z_2, Z_3, W) + \mathfrak{R}^S_{crv}(Z_3, W, Z_1, Z_2) = 0,$

burada $\mathfrak{R}^S_{crv} \in \Gamma(TH^{(0,4)})$, \mathcal{R}^S_{crv} nin Riemann-Christoffel eğrilik tensörüdür ve $\forall Z_1, Z_2, Z_3, W \in \Gamma(TH)$ için

$$\rho(\mathcal{R}^S_{crv}(Z_1, Z_2)Z_3, W) = \mathfrak{R}^S_{crv}(Z_1, Z_2, Z_3, W)$$

şeklinde ifade edilir.

2. PS-İstatistiksel Manifoldlar

Bu bölümde para-Sasakian istatistiksel manifoldlar hakkında bilgi verilmektedir, burada para-Sasakian yerine PS kısaltması kullanılmaktadır.

1960 da Sasaki hemen hemen kontakt (Φ, μ, ζ) yapısını tanımladı ki bu yapı hemen hemen kompleks yapı ile ilişkilidir ve eğer $(2n + 1)$ -boyutlu diferensiyellenebilir bir H manifoldu üzerinde $(1,1)$ tipinde bir tensör alanı Φ , bir 1-form μ ve bir vektör alanı ζ ise bu yapı $\Phi^2 Z_1 = -I + \mu \otimes \zeta$, $\mu(\zeta) = 1$ şartlarını sağlar (Sasaki, 1960). Daha sonraları bir n -boyutlu diferensiyellenebilir H manifoldu üzerinde hemen hemen parakontakt yapı I. Sato tarafından tanımlandı ki bu hemen hemen kontakt yapıya benzer bir yapıdır ve $\Phi^2 Z_1 = I - \mu \otimes \zeta$, $\mu(\zeta) = 1$ şartlarını sağlar (Sato, 1976).

Bir n -boyutlu diferensiyellenebilir H manifoldu, bir (Φ, μ, ζ, ρ) hemen hemen parakontakt Riemann yapılıdır, burada Φ , $(1,1)$ -tensör alanı, ζ bir vektör alanı, μ bir 1-form ve ρ da H üzerinde bir Riemann metriğidir öyle ki H üzerinde herhangi bir Z_1, Z_2 vektör alanları için

$$\Phi \zeta = 0, \mu(\zeta) = 1, \rho(\zeta, Z_1) = \mu(Z_1), \tag{10}$$

$$\Phi^2 Z_1 = Z_1 - \mu(Z_1)\zeta, \tag{11}$$

$$\rho(\Phi Z_1, \Phi Z_2) = \rho(Z_1, Z_2) - \mu(Z_1)\mu(Z_2), \tag{12}$$

şartları sağlanır. Ek olarak, eğer (Φ, μ, ζ, ρ) yapı,

$$d\mu = 0, \widehat{D}_{Z_1} \zeta = \Phi Z_1, \tag{13}$$

$$(\widehat{D}_{Z_1} \zeta)Z_2 = -\rho(Z_1, Z_2)\zeta - \mu(Z_2)Z_1 + 2\mu(Z_1)\mu(Z_2)\zeta, \tag{14}$$

denklemlerini sağlarsa bu durumda H , bir para-Sasakian manifold diye isimlendirilir

Her $\forall Z_1, Z_2 \in \Gamma(TH)$ için bir para-Sasakian manifold için aşağıdaki denklemlere sahip oluruz:

$$\hat{\mathcal{R}}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)\zeta = \mu(Z_1)Z_2 - \mu(Z_2)Z_1, \quad (15)$$

$$\hat{\mathcal{R}}_{\text{crv}}(\zeta, Z_1)Z_2 = \mu(Z_2)Z_1 - \rho(Z_1, Z_2)\zeta, \quad (16)$$

$$\hat{\mathcal{R}}_{\text{crv}}(\zeta, Z_1)\zeta = Z_1 - \mu(Z_1)\zeta, \quad (17)$$

$$\mu(\hat{\mathcal{R}}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3) = \rho(Z_1, Z_3)\mu(Z_2) - \rho(Z_2, Z_3)\mu(Z_1), \quad (18)$$

burada $\hat{\mathcal{R}}_{\text{crv}}$, $\hat{\mathcal{D}}$ Levi-Civita konneksiyonunun Riemann eğrilik tensörüdür. (detaylar için bkz (Sato, 1976), (Shukla & Shukla, 2010)).

$\forall Z_1, Z_2 \in \Gamma(TH)$ için bir $(H, \Phi, \mu, \zeta, \rho)$ PS-manifoldunun

$$\omega(Z_1, Z_2) = \rho(Z_1, \Phi Z_2), \quad (19)$$

ile tanımlanan temel 2-formu ω olsun.

Bu durumda aşağıdaki Lemma'yı verebiliriz:

Lemma 2. H manifoldu üzerinde (\mathcal{D}, ρ) , bir istatistiksel yapı ve (Φ, μ, ζ, ρ) de bir hemen hemen parakontakt Riemann yapı olsun. Bu durumda $\forall Z_1, Z_2, Z_3 \in \Gamma(TH)$ için aşağıdaki denklemlere sahip oluruz (Kazan S. , 2022):

- a) $(\mathcal{D}_{Z_1}\omega)(Z_2, Z_3) = \rho(Z_2, \mathcal{D}^*_{Z_1}\Phi Z_3 - \Phi\mathcal{D}_{Z_1}Z_3)$,
- b) $(\mathcal{D}_{Z_1}\omega)(Z_2, Z_3) - (\mathcal{D}^*_{Z_1}\omega)(Z_2, Z_3) = -2\rho(Z_2, \mathcal{L}(Z_1, \Phi Z_3) + \Phi\mathcal{L}(Z_1, Z_3))$,
- c) $\mathcal{D}_{Z_1}\Phi Z_2 - \Phi\mathcal{D}^*_{Z_1}Z_2 = (\hat{\mathcal{D}}_{Z_1}\Phi)Z_2 + \mathcal{L}(Z_1, \Phi Z_2) + \Phi\mathcal{L}(Z_1, Z_2)$.

Tanım 1. H manifoldu üzerinde eğer

- a) (\mathcal{D}, ρ) , bir istatistiksel yapıdır ,
- b) (Φ, μ, ζ, ρ) , bir PS-yapı (para-Sasakian yapı),
- c) $\forall Z_1, Z_2 \in \Gamma(TH)$ için

$$\mathcal{L}(Z_1, \Phi Z_2) + \Phi\mathcal{L}(Z_1, Z_2) = 0, \quad (20)$$

şartları sağlanıyorsa $(\mathcal{D}, \rho, \Phi, \mu, \zeta)$ ye bir PS-istatistiksel yapı denir (Kazan S. , 2022).

Böylece aşağıdaki Teoremi verebiliriz:

Teorem 2. H manifoldu üzerinde (\mathcal{D}, ρ) bir istatistiksel yapı ve (Φ, μ, ζ, ρ) bir hemen hemen parakontakt Riemann yapı olsun. Bu durumda H üzerinde $(\mathcal{D}, \rho, \Phi, \mu, \zeta)$ nin bir PS-istatistiksel yapı olması için gerek veter koşul $\forall Z_1, Z_2 \in \Gamma(TH)$ için

$$\mathcal{D}_{Z_1} \Phi Z_2 - \Phi \mathcal{D}_{Z_1}^* Z_2 = -\rho(Z_1, Z_2)\zeta - \mu(Z_2)Z_1 + 2\mu(Z_1)\mu(Z_2)\zeta, \tag{21}$$

ve

$$\mathcal{D}_{Z_1} \zeta = \Phi Z_1 + \mu(\mathcal{D}_{Z_1} \zeta)\zeta, \tag{22}$$

denklemlerinin sağlanmasıdır (Kazan S. , 2022).

Örnek 1. 3-boyutlu $H = \{ (Z_1, Z_2, Z_3) \in \mathbb{R}^3, Z_3 \neq 0 \}$ manifoldunu göz önüne alalım, burada $(Z_1, Z_2, Z_3), \mathbb{R}^3$ te standart koordinatlardır. $\{e_1, e_2, e_3\}$ vektör alanlarını

$$e_1 = e^{Z_1} \frac{\partial}{\partial Z_2}, e_2 = e^{Z_1} \left(\frac{\partial}{\partial Z_2} - \frac{\partial}{\partial Z_3} \right), e_3 = -\frac{\partial}{\partial Z_1}, \tag{23}$$

olarak H nın her bir noktasında lineer bağımsız olacak şekilde seçelim. ρ Riemann metriği $\rho(e_i, e_j) = 0, i \neq j, i, j = 1, 2, 3$ ve $\rho(e_k, e_k) = 1, k = 1, 2, 3$ olarak tanımlansın.

μ herhangi bir $Z_3 \in \chi(H)$ için $\mu(Z_3) = \rho(Z_3, e_3)$ şeklinde tanımlı bir 1-form olsun, burada $\chi(H), H$ üzerindeki tüm diferensiyellenebilir vektör alanların kümesidir.

$\Phi, (1,1)$ -tensör alanı

$$\Phi e_1 = e_1, \Phi e_2 = e_2, \Phi e_3 = e_3. \tag{24}$$

olarak tanımlansın. Φ nin ve ρ nun lineerliğini kullanarak herhangi $Z_3, U \in \chi(H)$ için $\mu(e_3) = 1, \Phi^2 Z_3 = Z_3 - \mu(Z_3)e_3$ ve $\rho(\Phi Z_3, \Phi U) = \rho(Z_3, U) - \mu(Z_3)\mu(U)$ ifadelerine sahip oluruz.

Böylece $e_3 = \zeta, (\Phi, \mu, \zeta, \rho)$ için H üzerinde bir hemen hemen parakontakt metrik yapı tanımlanır.

Ayrıca $[e_1, e_2] = 0, [e_1, e_3] = e_1, [e_2, e_3] = e_2$ eşitliklerine sahibiz. $\widehat{\mathcal{D}}, \rho$ metrik tensörünün Levi-Civita konneksiyonu, Koszul's formülü ile

$$\begin{aligned} 2\rho(\widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} Z_2, Z_3) &= Z_1\rho(Z_2, Z_3) + Z_2\rho(Z_1, Z_3) \\ &\quad - Z_3\rho(Z_1, Z_2) - \rho(Z_1, [Z_2, Z_3]) \\ &\quad - \rho(Z_2, [Z_1, Z_3]) + \rho(Z_3, [Z_1, Z_2]) \end{aligned} \tag{25}$$

olarak verilir. $e_3 = \zeta$ alınarak ve Koszul's formülü uygulanarak aşağıdaki ifadeleri elde ederiz,

$$\begin{aligned}\widehat{\mathcal{D}}_{e_1} e_1 &= -e_3, \widehat{\mathcal{D}}_{e_1} e_2 = 0, \widehat{\mathcal{D}}_{e_1} e_3 = e_1, \\ \widehat{\mathcal{D}}_{e_2} e_1 &= 0, \widehat{\mathcal{D}}_{e_2} e_2 = -e_3, \widehat{\mathcal{D}}_{e_2} e_3 = e_2, \\ \widehat{\mathcal{D}}_{e_3} e_1 &= 0, \widehat{\mathcal{D}}_{e_3} e_2 = 0, \widehat{\mathcal{D}}_{e_3} e_3 = 0.\end{aligned}\quad (26)$$

Yukarıdaki denklemlerden kolaylıkla görülebilir ki (Φ, μ, ζ, ρ) , H üzerinde bir para-Sasakian yapıdır. Sonuç olarak, $(H, \Phi, \mu, \zeta, \rho)$, 3-boyutlu PS-manifoldudur (detaylar için bkz (Shukla & Shukla, 2010)).

Şimdi $\bar{\mathcal{D}}_{Z_1} Z_2 = \widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} Z_2 + \mu(Z_1)\mu(Z_2)\zeta$ ile tanımlanan PS-istatistiksel yapısını kabul edelim, burada $\bar{\mathcal{D}}$ torsiyonsuzdur ve (3) ile verilen Codazzi denklemini sağlar. (Yine PS- istatistiksel manifoldu için $\bar{\mathcal{D}}^*_{Z_1} Z_2 = \widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} Z_2 + \mu(Z_1)\mu(Z_2)\zeta$ ve $\kappa(Z_1, Z_2) = \mu(Z_1)\mu(Z_2)\zeta$ olduğu da bilinmektedir).

Böylece (26) dan,

$$\begin{aligned}\bar{\mathcal{D}}_{e_1} e_1 &= \bar{\mathcal{D}}^*_{e_1} e_1 = -e_3, \bar{\mathcal{D}}_{e_1} e_2 = \bar{\mathcal{D}}^*_{e_1} e_2 = 0, \\ \bar{\mathcal{D}}_{e_1} e_3 &= \bar{\mathcal{D}}^*_{e_1} e_3 = e_1, \\ \bar{\mathcal{D}}_{e_2} e_1 &= \bar{\mathcal{D}}^*_{e_2} e_1 = 0, \bar{\mathcal{D}}_{e_2} e_2 = \bar{\mathcal{D}}^*_{e_2} e_2 = -e_3, \\ \bar{\mathcal{D}}_{e_2} e_3 &= \bar{\mathcal{D}}^*_{e_2} e_3 = e_2,\end{aligned}\quad (27)$$

$$\bar{\mathcal{D}}_{e_3} e_1 = \bar{\mathcal{D}}^*_{e_3} e_1 = 0, \bar{\mathcal{D}}_{e_3} e_2 = \bar{\mathcal{D}}^*_{e_3} e_2 = 0, \bar{\mathcal{D}}_{e_3} e_3 = \bar{\mathcal{D}}^*_{e_3} e_3 = e_3$$

ifadelerine sahip oluruz. Gerçekten (27) den kolayca görülebilir ki tüm $i, j, k = 1, 2, 3$ için $\bar{T}(e_i, e_j) = 0$ ve $(\bar{\mathcal{D}}_{e_i} \rho)(e_j, e_k) = 0$ sağlanır. Böylece, $(\bar{\mathcal{D}}, \rho)$ bir istatistiksel yapıdır ve tüm $i, j = 1, 2, 3$ için $\kappa(e_i, \Phi e_j) + \Phi \kappa(e_i, e_j) = 0$ sağlandığından H üzerinde $(\bar{\mathcal{D}}, \rho, \Phi, \mu, \zeta)$, bir PS-istatistiksel yapıdır.

3. PS-İstatistiksel Manifoldların Değişmez (İnvariant) Altmanifoldları

Bu bölümde PS-istatistiksel manifoldların değişmez (invariant) altmanifoldları verilmektedir.

$(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\mathcal{D}}^*, \bar{\rho})$, bir PS-istatistiksel manifold ve $(H, \mathcal{D}, \mathcal{D}^*, \rho^*)$, \bar{H} nin bir istatistiksel altmanifoldu olsun. (Vos, 1989) ten, $\forall Z_1, Z_2 \in \Gamma(TH)$ and $v \in \Gamma(TH^\perp)$ olmak üzere H altmanifoldu için Gauss ve Weingarten formülleri

$$\bar{\mathcal{D}}_{Z_1} Z_2 = \mathcal{D}_{Z_1} Z_2 + h(Z_1, Z_2) \quad (28)$$

$$\bar{\mathcal{D}}^*_{Z_1} Z_2 = \mathcal{D}^*_{Z_1} Z_2 + h^*(Z_1, Z_2) \quad (29)$$

ve

$$\bar{\mathcal{D}}_{Z_1} V = A^*_V Z_1 + \mathcal{D}^\perp_{Z_1} V \quad (30)$$

$$\bar{\mathcal{D}}^*_{Z_1} V = -A_V Z_1 + \mathcal{D}^{*\perp}_{Z_1} V \quad (31)$$

ile verilir. Burada H üzerinde \mathcal{D} ve \mathcal{D}^* indirgenmiş istatistiksel konneksiyonları dualdir. Ayrıca, simetrik ve bilineer h ve h^* , sırasıyla $\bar{\mathcal{D}}$ ve $\bar{\mathcal{D}}^*$ için \bar{H} de H nın gömülmüş (embedding) eğrilik tensörleri olarak isimlendirilirler. Diğer taraftan, bilineer A_V ve A^*_V nin gömülmüş (embedding) eğrilik tensörleri ile ilişkileri

$$\rho(A_V Z_1, Z_2) = \rho(h(Z_1, Z_2), V) \quad (32)$$

ve

$$\rho(A^*_V Z_1, Z_2) = \rho(h^*(Z_1, Z_2), V) \quad (33)$$

ile verilir.

Tanım 2. $(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\rho}, \Phi, \mu, \zeta)$ bir PS-istatistiksel manifold ve (H, \mathcal{D}, ρ) , \bar{H} nın bir istatistiksel altmanifoldu olsun. Eğer $\zeta \in \Gamma(TH)$ yapı vektör alanı ve $\Phi Z_1, H$ ya teğet ise, yani $\forall p \in H$ için $\Phi T_p H \subset T_p H$ ise H , bir değişmez (invariant) altmanifold diye isimlendirilir.

(22) den, $Z_1, \zeta \in \Gamma(TH)$ için

$$\mathcal{D}_{Z_1} \zeta = \Phi Z_1 + \mu(\mathcal{D}_{Z_1} \zeta) \zeta \quad (34)$$

ifadesine sahibiz. (32) de (28) kullanılarak, $h(Z_1, \zeta) = 0$ elde ederiz. Benzer şekilde $h^*(Z_1, \zeta) = 0$ da elde edilebilir.

Böylece aşağıdaki sonuç verilebilir:

Önerme 1. $(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\rho}, \Phi, \mu, \zeta)$ bir PS-istatistiksel manifold ve (H, \mathcal{D}, ρ) , \bar{H} nın bir invariant istatistiksel altmanifoldu olsun. Bu durumda $Z_1, Z_2, \zeta \in \Gamma(TH)$ için

$$h(Z_1, \zeta) = 0, \quad h^*(Z_1, \zeta) = 0 \quad (35)$$

$$A_V \zeta = 0, \quad A^*_V \zeta = 0 \quad (36)$$

$$h(Z_1, \Phi Z_2) = \Phi h^*(Z_1, Z_2) = h(\Phi Z_1, Z_2), \quad (37)$$

$$h^*(Z_1, \Phi Z_2) = \Phi h(Z_1, Z_2) = h^*(\Phi Z_1, Z_2), \quad (38)$$

$$\Phi A_V Z_1 = A^*_{\Phi V} Z_1 = -A_V \Phi Z_1, \quad (39)$$

$$\Phi A^*_V Z_1 = A_{\Phi V} Z_1 = -A^*_V \Phi Z_1, \quad (40)$$

dır.

İspat. (36) denklemi, (32) ve (33) denklemlerinden açıktır. $(\mathcal{D}^*)^* = \mathcal{D}$ olduğu göz önüne alınır ve (28) ile (29) denklemleri (21) de kullanılırsa, (37) ve (38) denklemlerini elde ederiz. Ayrıca, (21) denkleminde (30) ve (31) denklemleri kullanılırsa (38) ve (40) denklemleri elde edilir.

Teorem 3. $(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\rho}, \Phi, \mu, \zeta)$ bir PS-istatistiksel manifold ve (H, \mathcal{D}, ρ) , \bar{H} nın bir invaryant istatistiksel altmanifoldu olsun. Eğer H nın ikinci temel formu h , paralel ise bu durumda H, \mathcal{D}^* distribüsyonuna göre tamamen geodeziktir.

İspat. Açıkça bilinir ki eğer $\mathcal{D}h = 0$ ise manifold paralel ikinci temel forma sahiptir. Bu durumda $h(Z_2, \Phi Z_1) = 0$ dır. Dolayısıyla (35) denklemi düşünüldüğünde $\Phi h^*(Z_1, Z_2) = 0$ elde edilir ki bu ispatı tamamlar.

Sonuç 1. $(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\rho}, \Phi, \mu, \zeta)$ bir PS-istatistiksel manifold ve (H, \mathcal{D}, ρ) , \bar{H} nın bir invaryant istatistiksel altmanifoldu olsun. Eğer H nın ikinci temel formu h^* paralel ise bu durumda H, \mathcal{D} distribüsyonuna göre tamamen geodeziktir.

İspat. İspat, Teorem 2 nin ispatına benzer şekildedir.

Teorem 4. $(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\rho}, \Phi, \mu, \zeta)$ bir PS-istatistiksel manifold ve (H, \mathcal{D}, ρ) , \bar{H} nın bir invaryant istatistiksel altmanifoldu olsun. Eğer H , tamamen umbilik ise bu durumda then H, \mathcal{D} distribüsyonuna (benzer şekilde \mathcal{D}^* distribüsyonuna) göre tamamen geodeziktir

İspat. (33) ten, $h(Z_1, \zeta) = 0$ (benzer şekilde $h^*(Z_1, \zeta) = 0$) dır. $Z_1 = 0$ alarak $h(\zeta, \zeta) = 0$ (benzer şekilde $h^*(\zeta, \zeta) = 0$) elde ederiz. Kabul edelim ki N tamamen umbilik olsun, bu durumda $h(\zeta, \zeta) = \lambda \rho(\zeta, \zeta) = 0$ olur ki bu $\lambda = 0$ olması anlamına gelir. Bu durumda, $Z_1, Z_2 \in \Gamma(TH)$ için $h(Z_1, Z_2)$ (benzer şekilde $h^*(Z_1, Z_2)$) ifadesine sahip oluruz. Böylece ispat tamamlanır.

Teorem 5. $(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\rho}, \Phi, \mu, \zeta)$ bir PS-istatistiksel manifold ve (H, \mathcal{D}, ρ) , \bar{H} nın bir semi-paralel invaryant istatistiksel altmanifoldu olsun. H nın \mathcal{D} (benzer şekilde \mathcal{D}^*) ye göre tamamen geodezik olması için gerek ve yeter koşul $Z_2, \zeta \in \Gamma(TH)$ için $(\hat{\mathcal{D}}_{\zeta} \mathcal{K})(Z_2, \zeta) = (\hat{\mathcal{D}}_{Z_2} \mathcal{K})(\zeta, \zeta)$ olmasıdır, burada $\hat{\mathcal{D}}$, Levi-Civita konneksiyonudur.

İspat. Kabul edelim ki H bir semi-paralel invaryant istatistiksel altmanifoldu olsun. Bu durumda herhangi $\forall Z_1, Z_2, Z_3, W \in \Gamma(TH)$ için

$$\begin{aligned} \mathcal{R}_{\text{crv}}^\perp(Z_1, Z_2)h(W, Z_3) - h(\mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)W, Z_3) \\ - h(W, \mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)Z_3) = 0 \end{aligned} \quad (41)$$

ifadesine sahip oluruz. Ayrıca

$$\begin{aligned} \mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2)\zeta = \mu(Z_2)Z_1 - \rho(Z_1, Z_2)\zeta + (\widehat{\mathcal{D}}_\zeta \mathcal{k})(Z_1, Z_2) - \\ (\widehat{\mathcal{D}}_{Z_1} \mathcal{k})(\zeta, Z_2) + \mathcal{k}(\zeta, \mathcal{k}(Z_1, Z_2)) - \mathcal{k}(Z_1, \mathcal{k}(\zeta, Z_2)) \end{aligned} \quad (42)$$

denkleminin varlığını biliyoruz (benzer şekilde $\mathcal{R}_{\text{crv}}^*(Z_1, Z_2)\zeta$ denklemi de ifade edilebilir). Bu denklemler kullanılarak ve $Z_1 = Z_3 = \zeta$ alınarak $h(W, \mathcal{R}_{\text{crv}}(\zeta, Z_2)\zeta) = 0$ elde ederiz. Böylece, (35) ve (42) den, $h(W, Z_2) = 0$ (similarly $h^*(W, Z_2) = 0$) olur. O halde ispat tamamlanır.

Teorem 6. $(\bar{H}, \bar{\mathcal{D}}, \bar{\rho}, \Phi, \mu, \zeta)$ bir PS-istatistiksel manifold ve (H, \mathcal{D}, ρ) , \bar{H} nın bir pseudo-paralel invaryant istatistiksel altmanifoldu olsun. H nın \mathcal{D} (benzer şekilde \mathcal{D}^*) ye göre tamamen geodezik olması için gerek ve yeter koşul $Z_2, \zeta \in \Gamma(TH)$ için $(\widehat{\mathcal{D}}_\zeta \mathcal{k})(Z_2, \zeta) = (\widehat{\mathcal{D}}_{Z_2} \mathcal{k})(\zeta, \zeta)$, $\mathcal{L} \neq -1$, olmasıdır, burada $\widehat{\mathcal{D}}$, Levi-Civita konneksiyonudur.

İspat. H bir semi-paralel invaryant istatistiksel altmanifoldu olsun. Bu durumda herhangi $\forall Z_1, Z_2, Z_3, W \in \Gamma(TH)$ için $(\mathcal{R}_{\text{crv}}(Z_1, Z_2) \cdot h)(W, Z_3) = \mathcal{L}Q(\rho, h)(W, Z_3; Z_1, Z_2)$ dir. Burada, $Z_1 = Z_3 = \zeta$ alınırsa

$$\begin{aligned} \mathcal{R}_{\text{crv}}^\perp(\zeta, Z_2)h(W, \zeta) - h(\mathcal{R}_{\text{crv}}(\zeta, Z_2)W, \zeta) \\ - h(W, \mathcal{R}_{\text{crv}}(\zeta, Z_2)\zeta) \\ = \mathcal{L}\{-\rho(Z_2, W)h(\zeta, \zeta) + \rho(\zeta, W)h(Z_2, \zeta) \\ - \rho(Z_2, \zeta)h(W, \zeta) + \rho(\zeta, \zeta)h(Z_2, W)\}. \end{aligned} \quad (43)$$

olur. (35) ten,

$$(\mathcal{L} + 1)h(W, Z_2) + h(W, (\widehat{\mathcal{D}}_\zeta \mathcal{k})(Z_2, \zeta) - (\widehat{\mathcal{D}}_{Z_2} \mathcal{k})(\zeta, \zeta)) = 0, \quad (44)$$

elde ederiz ki bu ispatı tamamlar.

4 Kaynakça

- Amari, S. (1985). *Differential-Geometrical Methods in Statistics*. New York: Springer.
- Balgeshir, M. B. (2022). On Submanifolds of Sasakian Statistical Manifolds. *Bol. Soc. Paran. Mat.*, 1-6.
- Furuhata, H. (2009). Hypersurfaces in Statistical Manifolds. *Differential Geometry and its Applications*, 420-429.

- Furuhata, H., Hasegawa, I., Okuyama, Y., & Sato, K. (2017). Kenmotsu Statistical Manifolds and Warped Product. *J. Geom.*, DOI 10.1007/s00022-017-0403-1.
- Furuhata, H., Hasegawa, I., Okuyama, Y., Sato, K., & Shahid, M. (2017). Sasakian Statistical Manifolds. *Journal of Geometry and Physics*, 179-186.
- Kazan, A. (2019). Conformally-Projectively Flat Trans-Sasakian Statistical Manifolds. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 22441.
- Kazan, S. (2022). Some Characterizations of PS-Statistical Manifolds. *Turkish Journal of Science*, 116-131.
- Kazan, S., & Kazan, A. (2018). Sasakian Statistical Manifolds with Semi-Symmetric Metric Connection. *Universal Journal of Mathematics and Applications*, 226-232.
- Kurose, T. (1990). Dual Connections and Affine Geometry. *Math. Z.* , 115-121.
- Sasaki, S. (1960). On Differentiable Manifolds with Certain Structures which are Closely Related to Almost Contact Structure. I., *The Tohoku Mathematical Journal*, 459-476.
- Sato, I. (1976). On a Structure Similar to the Almost Contact Structure. *Tensor New Series*, 219-224.
- Shukla, S., & Shukla, M. (2010). On ϕ -Symmetric Para-Sasakian Manifolds. *Int. Journal of Math. Analysis*, 761-769.
- Vos, P. (1989). Fundamental Equations For Statistical Submanifolds With Applications To The Bartlett Correction. *Ann.Inst.Statist. Math.*, 429-450.

BÖLÜM 39

PİRİMİDİN ANTİMETABOLİTLERİ

*Handenur ÖZGENÇ¹
Dr Öğr. Üyesi Gülay DİLEK²*

¹ Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
ORCID: 0009-0006-0400-3809

² Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
ORCID: 0000-0001-6562-2554

Kontrolsüz hücre bölünmesi ve çoğalmasıyla karakterize kanser hastalığı, çağımızın en önemli sağlık sorunlarından birisidir¹. Sebebi bilinen ölümler arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır². Dünya Sağlık Örgütü'nün son verilerine göre dünya çapında yaklaşık 19.3 milyon kanser hastası bulunmaktadır; 10 milyon kişi bu hastalık nedeniyle hayatını kaybetmiştir³. 2040 yılında vaka sayısının yüzde 28.4 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir⁴.

Kanserin ekonomik etkileri de hastalığın dünya için yadsınamaz bir problem olduğunu göstermektedir. Hastane ve ilaç masrafları gibi doğrudan giderler ile işle ilgili kayıplardan doğan dolaylı giderler de göz önüne alındığında, kanser tedavisi sadece hastalar için değil, toplum açısından da maliyetli bir süreçtir. Kanser maliyeti ülkeden ülkeye büyük farklılıklar göstermekle birlikte, tüm dünyada istikrarlı bir şekilde artmaktadır. 2021 yılında 187 milyar dolara ulaşan küresel onkoloji harcamalarının 2027 yılında 377 milyar dolar olacağı öngörülmektedir⁵. Tüm bu nedenlerden dolayı kanser tedavisinde daha etkin bir mücadele gerekmektedir.

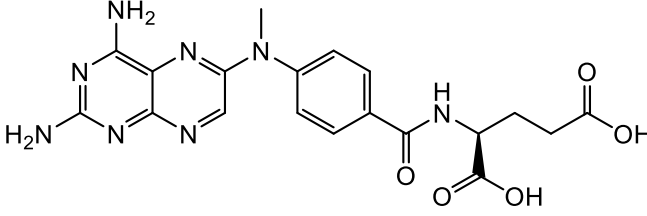
Günümüzde kanserle mücadelede en yaygın olarak cerrahi işlem, kemoterapi ve radyoterapi gibi yöntemler kullanılmaktadır⁶. Radyoterapi ve cerrahi yöntemler tümörün yok edilmesinde başarı gösterse de tedavi sonrasında kalan gözle görülmeyen tümör hücreleri tümörün çıkarıldığı bölgede kanserin nüksetmesine sebep olabilmektedir. Bu nedenle bu yöntemlerin yanında kemoterapi de uygulanmaktadır. Ancak kemoterapide kullanılan mevcut ilaçlar yeterince seçici olmadıklarından kanserli hücrelerle beraber sağlıklı hücreler de zarar görebilmektedir⁷. Uzun süreli ilaç kullanımı ile tümör hücrelerinde ilaca karşı direnç de gelişebilmektedir. Bu durum kullanılan ilaçların başarı şansını azaltmaktadır. Bu nedenle kanserle mücadelede yeni ilaç moleküllerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır⁸.

1. Antimetabolitler

Antimetabolitler; DNA, RNA, proteinler ve diğer temel hücre komponentlerinin sentez zincirinin değişik basamaklarında substrat veya koenzim olarak rol oynayan metabolitlerin analoglarıdır. Doğal metabolitlerin yapılarına benzerliklerinden dolayı bu substratları kullanan enzimler üzerindeki özgül bağlanma noktalarına karşı onlarla yarışır ve substratların bağlanmalarını bloke ederek enzimin çalışmasını engellerler. Bunlardan bazıları işlevini metabolit ile enzimin düzenleyici veya allosterik noktasına karşı yarışarak ve böylece substrat durumundaki esas metabolitin yerini alıp enzimin bloke olmasını

sağlayarak yerine getirirken, bazıları da işlevini enzime kovalent bağlanıp geri-dönüşsüz inhibisyona neden olarak yerine getirir⁹.

Aminopterin ilk antimetabolit ilaçtır (Şekil 1). İlk olarak 1947 yılında Dr. Farber tarafından akut lösemili çocukların tedavisinde kullanılmıştır¹⁰. Hastalıkta gerileme sağladığının gözlenmesi, antimetabolitlerin tümör hücrelerinin yok edilmesinde kullanılabileceği fikrinin ortaya çıkmasına neden olmuştur¹¹.

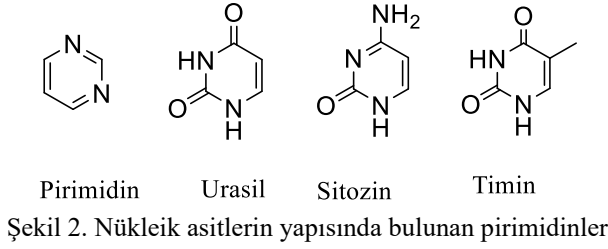


Şekil 1. Aminopterin molekül yapısı

1.1. Pirimidin Antimetabolitleri

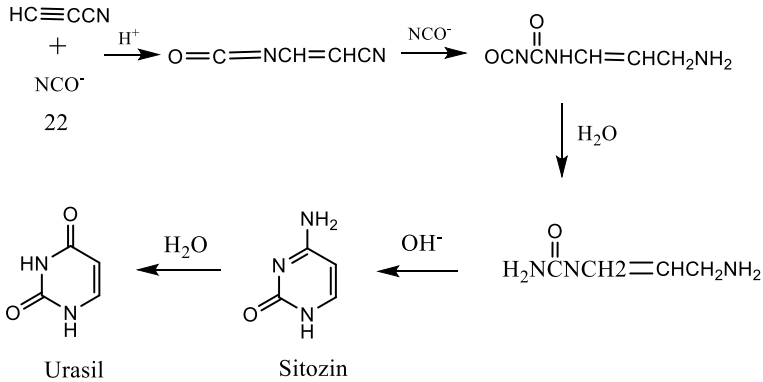
Nükleik asitler ilk kez Miescher tarafından keşfedilmiştir¹². Kalıtım, gen ekspresyonu ve hücre farklılaşması gibi hücrel aktiviteler ile yaşlanma, hastalık ilerlemesi ve epidemiyoloji gibi biyolojik süreçlerde rol oynamaktadır¹³. Çok az sayıda küçük molekülün tekrar tekrar bağlanmasıyla oluşan çok uzun polimerik molekülüdür. Nükleik asitlerin deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) olmak üzere iki sınıfı vardır ve bunlar hem yapı hem de işlev olarak farklıdır. Bununla birlikte, özdeş olmasa da benzer kimyasal yapılardan oluşmaktadırlar. Temel yapı taşları nükleotidlerdir¹⁴.

Nükleotidler; azotlu bir baz, bir pentoz şekeri ve bir veya daha fazla fosfat grubundan oluşmaktadır¹⁵. Nükleotid bir nükleositin fosfat esteridir; mono-, di- veya trifosfat formlarını içerir. Pentoz molekülüne pürin veya pirimidin bazının bağlanmasıyla nükleosit oluşur. Yapıda yer alan pirimidin altı üyeli bir heterohalkadır. Pirimidin, üzerinde taşıdığı fonksiyonel gruplara bağlı olarak urasil, sitozin veya timin adını alır (Şekil 2)¹⁶. Sitozin hem DNA'nın hem de RNA'nın yapısında bulunurken; urasil sadece RNA'nın, timin de sadece DNA'nın yapısında bulunur¹⁴.



Pirimidinler, organik kimya tarihinde ürik asidin parçalanma ürünleri olarak bilinmekteydi¹⁷. Alloksan izole edilen ilk pirimidin türevidir. 1818 yılında Brugnatelli tarafından ürik asidin nitrik asit ile oksidatif bozunması yoluyla elde edilmiştir¹⁸. Pirimidin adını ilk kez Pinner kullanmıştır. Pinner, aynı zamanda, pirimidinlerin benzen, piridin ve *s*-triazin ile yapısal benzerliğine ve halka sisteminin düzenli bir altıgen şekline de dikkat çekmiştir¹⁷.

İlk pirimidin sentezi, bir siyano bileşiğine dayanan sitozin sentezidir (Şekil 3). Sitozin urasile kolayca hidrolize edildiğinden sentez sırasında kullanılan reaktiflere dikkat edilmelidir¹⁷.



Şekil 3. İlk pirimidin sentezi

Nükleosit veya nükleobaz analogları; kanser ve viral hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılır¹⁹. Pirimidin antimetabolitleri, doğal pirimidin olan urasil, timin ve sitozinin baz ve nükleosit analoglarından oluşmaktadır²⁰. Doğal nükleotidlere yapısal benzerlik göstermektedir²¹. Yapısal farklılıklar genellikle pirimidin halkasının karbonlarından birindeki değişiklik ya da pirimidin veya şeker halkasına bağlı hidrojenlerden birindeki değişiklik olarak gözlenmektedir. Farklılıklara rağmen bu analoglar yine de hücrelere alınabilir ve daha sonra

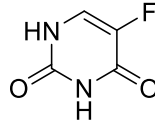
pirimidinler tarafından kullanılan anabolik veya katabolik yollar yoluyla metabolize olabilmektedir²⁰.

Pirimidin antagonistleri ön ilaçlardır ve sitotoksik metabolitler üretmek için hücre içi sitotoksik nükleosidlere ve nükleotidlere dönüşmeleri gerekmektedir²¹.

Pirimidin analoglarının tedavide öneminin artması, hem yaygın kanserlerin tedavisinde uygulanacak yeni bileşiklerin geliştirilmesinden hem de bu bileşiklerin etkilerini artırmak için gereken etki mekanizmalarının anlaşılmasından kaynaklanmaktadır²².

Vücudumuzdaki doğal nükleosit veya nükleobazların yapısında değişiklikler yapılarak birçok yeni analoglar sentezlenmiştir. Modifikasyonlar baz, şeker veya fosfat kısmı üzerinden yapılmaktadır²³.

1954 yılında yapılan araştırmalarda farelerdeki karaciğer tümörlerinin radyoaktif urasili normal karaciğer hücrelerinden daha kolay aldığı keşfedilmiştir. Charles Heidelberger florun hücrelerde hayati bir enzimi inhibe ettiğini ve hayati fonksiyonları engellediğini bulmuştur. Heidelberger yapılan araştırmaların sonuçlarına dayanarak 5-florourasil adı verilen bileşiği sentezlemiştir (Şekil 4)²⁴.



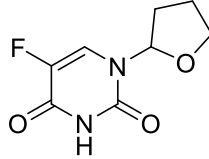
Şekil 32. 5-Florourasil

5-Florourosil kolon, meme ve cilt kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan antitümör ajanlardan biridir²⁵. Ancak tümör hücrelerini seçiciliği zayıftır. Bu nedenle terapötik kullanımı yüksek kemik iliği, gastrointestinal sistem ve merkezi sinir sistemi toksisitesi insidansı ile sonuçlanmaktadır. Bu etkileri sebebiyle yapıda çok sayıda değişiklik yapılmıştır²⁶.

5-Florourosilin 1 nolu azot atomuna tetrahidrofuran halkasının iki konumundan bağlanması ile tegafur elde edilmiştir (Şekil 5)²⁷. Tegafur 5-florourosilin yavaş salınan bir formülasyondur²⁸. 5-Florourosilden daha güçlü ve daha az toksiktir²⁷.

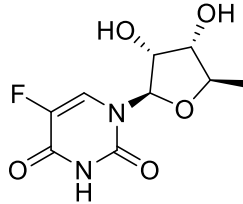
Tegafur urasil ise; fluorourasilin ön ilacı olan tegafur ile urasilin 4:1 molar oranda birleştirilmesi ile oluşmaktadır. Oral kemoterapötik ajan tegafur urasil, dihidropirimidin dehidrojenaz inhibitörü adı verilen yeni bir antikanser ilaç sınıfının ilkidir. Tegafur urasilin yapısındaki urasil, hem plazmada hem de

tümörde florourasil konsantrasyonunun aynı seviyelerde kalmasını sağlamaktadır^{29,30}. Tegafur urasil kapsülleri iştah kaybı, mide bulantısı ve kusma gibi olumsuz üst gastrointestinal yan etkileri beraberinde getirdiğinden doz azaltılması veya tedavinin kesilmesi gerekebilir. Bu nedenle enterik kaplı formülasyonlar kullanılmaya başlamıştır. Tegafur urasilinin toksik etkileri arasında ciddi karaciğer fonksiyon bozukluğu ve diyare bulunmaktadır³¹.



Şekil 33. Tegafur urasil

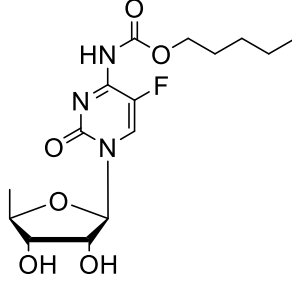
Bir diğer pirimidin analogu ise doksifluridindir. Doksifluridinin moleküler yapısı da urasil nükleotidinde benzerdir. Yapıda pirimidin halkasının 1 nolu azot atomuna bağlı bir 2-metiltetrahidrofuran-3,4-diol bulunmaktadır (Şekil 6). Oral olarak kullanılan doksifluridin, timidin fosforilaz varlığında 5-florourasile dönüşmektedir³². Doksifluridin meme, gastrointestinal malignitelerin ve diğer katı tümörlerin tedavisinde kullanılır³³. Doksifluridinin kullanımı sonucu ortaya çıkan diyare doz sınırlayıcı toksisiteyi oluşturmaktadır³⁴.



Şekil 34. Doksifluridin

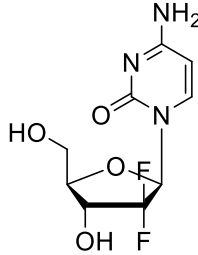
Kapesitabin, doksifluridine benzer bir pirimidin antimetabolitidir. Tek fark doksiflurindeki 4 nolu karbon atomundaki okso grubunun yerine kapesitabinde pentil karbamat grubunun bulunmasıdır (Şekil 7). Kapesitabin 5-florourasil'in bir ön ilacıdır ve tümör dokusunda hızla 5-florourasile dönüşmektedir²⁷. Kapesitabin, paklitaksel veya antrasikline dirençli meme kanseri tedavisinde kullanılan, oral yoldan uygulanan bir floropirimidin karbamat türevidir³⁵. Kapesitabin monoterapisi alan hastalarda meydana gelen en yaygın yan etkiler

arasında lenfopeni, anemi, diyare, el-ayak sendromu, bulantı, yorgunluk, hiperbilirubinemi, dermatit ve kusma yer almaktadır³⁶.



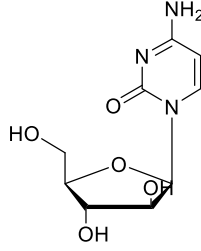
Şekil 7. Kapesitabin

Gemsitabin DNA sentezi ve onarımı için gerekli deoksिनükleotitlerin üretilmesinden sorumlu ribonükleotid redüktazı inhibe eden bir pirimidin antimetabolitidir (Şekil 8)³⁷. İlerlemiş pankreas kanseri olan hastalarda yapılan çalışmalarda gemsitabin, sağ kalım süresi ve genel klinik durum açısından, fluorourasilden daha etkin bulunmuştur³⁸. Gemsitabin iyi tolere edilir ve hafif bir toksisite profiline sahiptir³⁹.



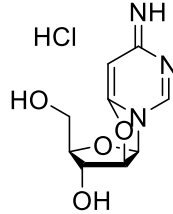
Şekil 35. Gemsitabin

Sitarabin DNA sentezinin S evresinde antitümör etkinlik gösteren bir sitozin analogudur (Şekil 9). Antiviral ve immünosupresan özelliklere de sahiptir⁴⁰. Hematolojik malignitelerin tedavisinde kullanılmaktadır⁴¹. Etkisi, inaktif metaboliti olan urasil arabinoside hızlı deaminasyonu ile sınırlıdır⁴². Deaminasyonu önlemek için yeni pirimidin türevleri sentezlenmiştir. Bunlardan ansitabin ve enositabin Japonya'da klinik olarak kullanılmaktadır⁴².



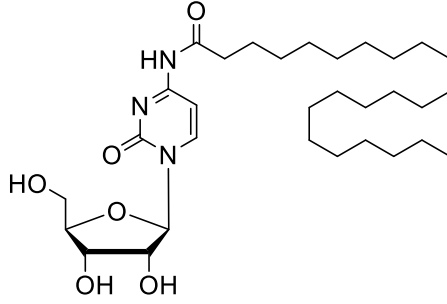
Şekil 36. Sitarabin

Ansitabin hidroklorür antineoplastik aktiviteye sahip bir sitarabin türevidir (Şekil 10)^{43,44}. Uygulanmasından sonra; önce sitarabine dönüşen ansitabin, daha sonra hücre içinde trifosfat formuna dönüşür. Situdin ile yarışarak DNA'nın yapısına katılır. Yapıdaki arabinoz şekeri molekülün DNA içindeki dönüşünü sterik olarak engellediği için hücre döngüsünün S fazında replikasyonu durdurur. Ansitabinin sitarabine hidrolizi yavaştır. Bu nedenle, sitarabine kıyasla daha uzun terapötik etkinlik süresine sahiptir⁴⁵. Akut vasküler instabilite ve parotis ağrısı kullanımını sınırlandıran yan etkilerdir⁴⁶.



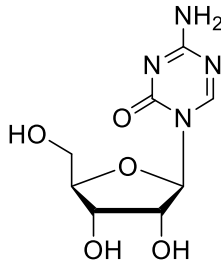
Şekil 37. Ansitabin

Enositabin, sitarabinin 4 nolu azot atomunda 1-oksodokosan grubu bulunduran bir pirimidin antimetabolitidir (Şekil 11). Yapıdaki lipofilik grup molekülün deaminasyona dirençli olmasını sağlamaktadır⁴². Enositabin akut miyelid lösemi kombine tedavisinde ilk seçenek ajanlardan biridir^{47,48}.



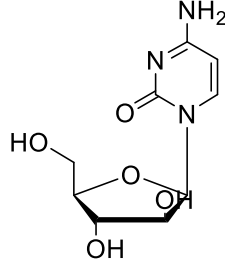
Şekil 38. Enositabin

Azasitidin DNA metilasyonunu inhibe ederek anti-kanser etkinlik gösteren bir sitidin analogudur (Şekil 12)⁴⁹. Myelodisplastik sendrom tedavisinde kullanılmaktadır^{50,51}.



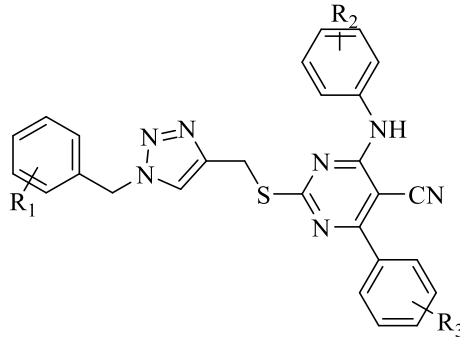
Şekil 12. Azasitidin

Desitabin azasitidinin deoksi türevidir (Şekil 13). Pliml ve Sorm tarafından sentezlenmiştir⁵². Metiltransferaz enzimine geri dönüşümsüz kovalent bağlanarak DNA sentezinin bloke eder; böylece hücre proliferasyonu inhibe edilmiş olur. Düşük dozlarda kullanıldığında hipometilasyonu indükleyerek hücre farklılaşmasını, tümör baskılayıcı genlerin yeniden ekspresyonunu, bağışıklık mekanizmalarının uyarılmasını ve tümör büyümesinin baskılanmasını destekler⁵³. Desitabin, miyelodisplastik sendromlu hastaları ve akut miyeloid lösemili yaşlı hastaları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır⁵⁴.

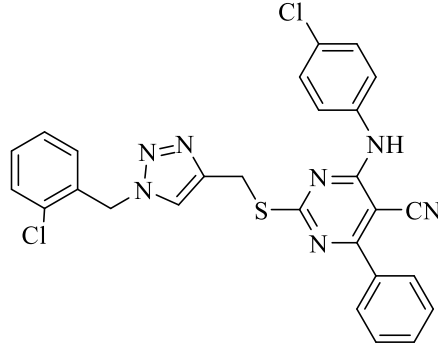


Şekil 13. Desitabin

Hibridizasyon, farmakolojik etkinliğe sahip iki veya daha fazla bileşiğin kovalent olarak birleştirilmesidir. Oluşan yeni bileşik, iki farmakoforun ayrı ayrı gösterdiği farmakolojik etkinliğe göre daha fazla potansiyele sahip olabilir. Ayrıca bu yöntemle istenmeyen yan etkiler de azaltılabilmektedir. Yapılan çalışmalar 1,2,3-triazol ile ditiyokarbamat gruplarının aynı yapıda yer aldığı bileşiklerin daha fazla antikanser etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalardan yola çıkarak 1,2,3-triazol ve pirimidin hibrit bileşiklerinin etkinlikleri araştırılmıştır. Ma ve ark. bazı 1,2,3-triazol pirimidin hibrit bileşiklerini sentezlemiştir. Bileşiklerin yapısında pirimidin halkasına bağlı arilamin grubu da yer almaktadır. Çalışmada arilaminin elektron veren gruplar taşıması halinde bileşiğin daha fazla antikanser aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca gruplar *meta*- konumu yerine *para*- konumunda yer aldığında etkinlik daha fazladır (Şekil 14) Örneğin arilaminin para konumunda klor olması durumunda etkinlik 5-fluorosile kıyasla yedi kat daha fazladır (Şekil 15). Bileşikler hücre döngüsünün G₂/M fazında hücre bölünmesini durdurarak kanser hücrelerinin proliferasyonunu engellemektedir⁵⁵.

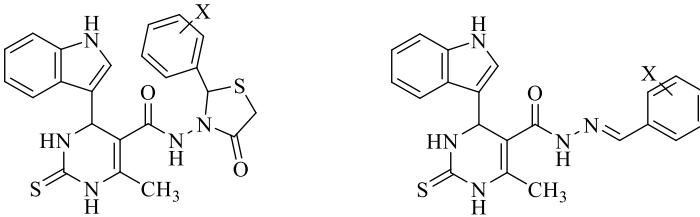


Şekil 14. 1,2,3-Triazol pirimidin hibriti



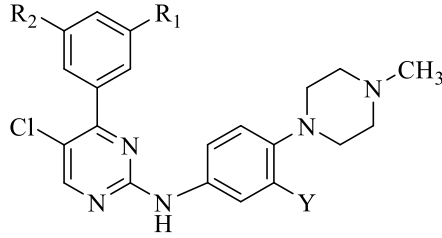
Şekil 15. 5-Fluorosilden daha fazla etkinliğe sahip pirimidin türevi

2021 yılında pirimidin ve indol içeren hibrit bileşikler sentezlenmiştir (Şekil 16). Sentezlenen indolil pirimidinler göğüs, karaciğer, kolon ve akciğer fibroblastına karşı *in vitro* antiproliferatif aktiviteleri açısından taranmıştır. Referans ilaç olarak hem erlotinib hem de 5-fluorourasil kullanılmıştır. Bileşiklerin antiproliferatif aktivite göstermiştir. Benzen halkasında elektron çekici gruplar olduğunda sitotoksik aktivite artmaktadır⁵⁶.



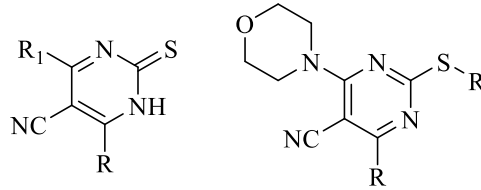
Şekil 16. İndol pirimidin hibritleri

2013 yılında bir dizi PAK₁ kinaz inhibitörü olan 2-arilamino-4-aril-pirimidin türevleri sentezlenmiştir (Şekil 17). PAK (P₂₁ aktif kinazlar) çeşitli onkogenik sinyal yollarında yer alan serin/treonin kinaz enzimidir. Yapılan çalışmada pirimidin halkasına bağlı -NH grubunun aktivite için gerekli olduğu gözlenmiştir. Yapıdaki piperizin halkasının 3 konumunda metil grubunun olması hücrel aktiviteyi artırmaktadır. Yapıda X ile belirtilen kısımda halojen olarak -Br olduğunda potensiyel etkinlik biraz daha artmaktadır⁵⁷.



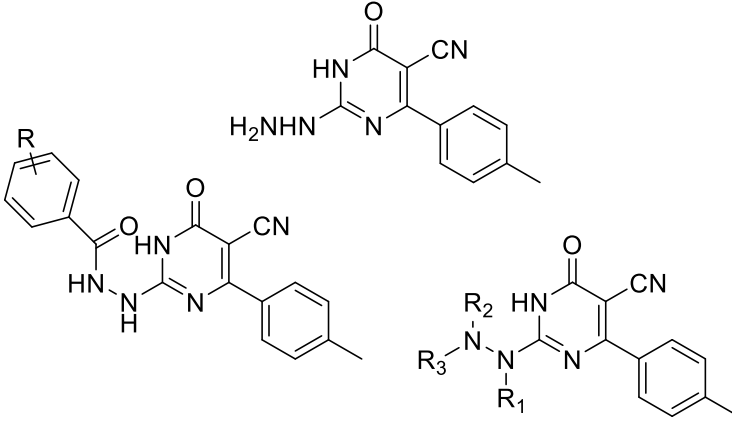
Şekil 17. 2-Arilamino-4-aril-pirimidin türevlerinin genel yapıları

2013 yılında Fargualy ve ark. bazı pirimidin-5-karbonitriller sentezlemiştir. Çalışmada yapıya 4 konumundan bağlanan morfolinin antiproliferatif etkinliği artırdığı tespit edilmiştir. Morfolin yerine lineer veya halkalı alkilamino grupları olması durumunda aktivitenin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 18)⁵⁸.



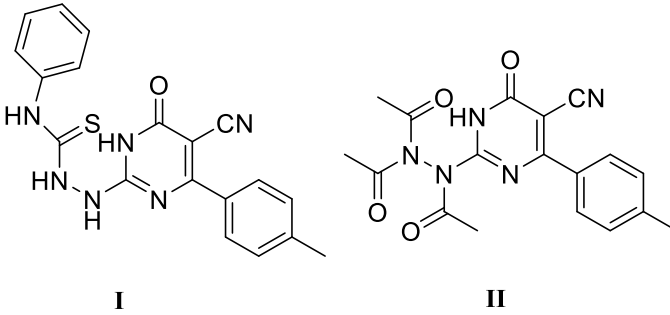
Şekil 18. Pirimidin-5-karbonitriller

Timidilat sentaz enzimi DNA replikasyonu için gerekli bir enzimdir. Kanser tedavisinde hedefe yönelik tedavide “hedef” yapılardan biridir. Bu amaçla 2019 yılında Amin ve ark. tarafından 6-aril-5-siyanopirimidin türevleri sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir (115). 6-Aril-5-siyanopirimidin bileşiklerindeki pirimidin yapı iskelesinin 2. konumuna hidrazit veya benzohidrazid gruplarının eklenmesi antikanser aktivitede belirgin bir artışa yol açmıştır. Benzen halkası üzerinde *p*-kloro veya *p*-nitro grupları olan bileşikler süstitüent içermeyen bileşiklere göre daha yüksek etkinliğe sahiptir. Elektron çeken grupların para konumunda ikamesinin aktivite için gerekli olduğu bulunmuştur. Hidrazid grubu yerine feniltiyosemikarbazid grubu olması durumunda çok daha fazla antikanser aktivite elde edilmiştir (Şekil 19)⁵⁹.



Şekil 19. 6-Aril-5-siyanopirimidinler

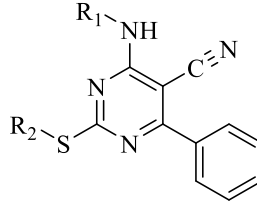
6-Aril-5-siyanopirimidin türevleri karaciğer, meme, kolon kanserleri hücre hatları üzerinde test edilmiş, bileşiklerin etkinlikleri 5-florourasil ile karşılaştırılmıştır. Bileşikler aynı zamanda timidilat sentaz inhibisyonu açısından da değerlendirilmiştir. Bileşik **I** antikanser etkinlik gösterenlerin en potensidir. **II** ise en yüksek timidilat sentaz inhibisyonu gerçekleştiren bileşiktir (Şekil 20).



Şekil 20. Antikanser etkinliğe sahip Bileşik I ve timidilat sentaz inhibisyonu gerçekleştiren Bileşik II

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) sinyal yolu, kanserin hedefe yönelik tedavisinde önemli bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir⁶⁰. EGFR yolunun bloke edilmesi ile kanser tedavisinde önemli bir gelişim kaydedilmiştir. Bu amaçla 2020 yılında Nasser ve ark. EGFR tirozin kinaz inhibitörlerini taklit eden yeni bir dizi pirimidin-5-karbonitril türevleri sentezlemişlerdir (Şekil 21). Bu bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri kolorektal karsinom, hepatosellüler karsinom, meme kanseri ve küçük hücreli akciğer kanseri tümör hücre üzerinde

test edilmiştir. Bileşikler test edilen hücre hatlarına karşı orta düzeyde antiproliferatif aktivite sergilemiştir. Bileşikler hücre bölünmesini G₂/M fazında durdurmaktadır. Bunların EGFR inhibitörü olarak erlotinibden daha aktif oldukları da gözlenmiştir⁶¹.



Şekil 21. EGFR hedefleyen pirimidin-5-karbonitriller

Viral, inflamatuvar, bakteriyel ve psikotik hastalıklar başta olmak üzere pek çok hastalığın tedavisi için klinikte kullanılan ilaçların moleküler yapılarında yer alan pirimidinler kanser tedavisinin de merkezinde bulunmaktadır. Uzun süreden beridir üzerinde çalışılmalar yapılmış olsa dahi hala keşfedilmesi muhtemel birçok özelliği de bünyesinde barındırmaktadır. Hiç şüphe yok ki, kanser patogenezinde rolü olan molekülleri hedefleyerek tümör büyümesini engellemesi için sentezlenen seçici anti-tümör bileşiklerin yapısında pirimidinler yer almaya devam edecektir. Hedefe yönelik tedavide pirimidin iskeleti oldukça umut verici bir yapı olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar bunu destekler niteliktedir.

Kaynaklar

- Zhou J. Advances and Prospects in Cancer Immunotherapy. *New Journal of Science*, 2014:1-13, 2014.
- Foye, W. O., Sengupta, S. K. *Cancer Chemotherapy. Principles of Medicinal Chemistry*. 4th edition, s.822-845, U.S.A., 1995.
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer, Global Cancer Observatory, Erişim adresi: <https://gco.iarc.fr/>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. Bray, F. *Global Cancer Statistics 2020. A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3):209-249, 2021.

- Projected spending and growth in the global oncology market between 2023 and 2027.
Erişim adresi: <https://www.statista.com/statistics/373946/global-spending-and-growth-in-oncology-market/>
- Gilman, A., Goodman, L. S. *Chemotherapy of Neoplastic Diseases. The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th edition, 1240-1306, Pergamon Press, U.S.A., 1991.
- Wayteck L., Breckpot K., Demeester J., De Smedt S. C., Raemdonck K. A Personalized View on Cancer Immunotherapy. *Cancer Letters*, 352(1):113-125, 2014.
- Kayaalp S. O. *Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Cilt 1, 8. basım, s.1007-1072, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1998.
- Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 1. Cilt, 13. Basım, s.332-362, Pelikan Kitabevi, Ankara, 2012.
- Temel M. K. Sitotoksik kemoterapötiklerin yirminci yüzyıldaki gelişimi. *Türk Onkoloji Dergisi*, 30(2):96-108, 2015.
- Kaye S. B. New antimetabolites in cancer chemotherapy and their clinical impact. *British Journal of Cancer*, 78(3):1-7, 1998.
- Wyatt G. R. The purine and pyrimidine composition of deoxyribose nucleic acids. *Biochemical Journal*, 48(5):584-590, 1951.
- Friedrich S. M., Zech H. C., Wang T. H. Analysis of single nucleic acid molecules in microand nano-fluidics. *Lab on a Chip*, 16(5):790-811, 2016.
- Rich A. Molecular structure of the nucleic acids. *Reviews of Modern Physics*, 31(1): 191-200, 1959.
- Pauling L., Corey, R. B. A proposed structure for the nucleic acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 39(2):84-97, 1953.
- Carver J. D., Walker WA. The role of nucleotides in human nutrition. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 6(2):58-72, 1995.
- Lagoja I. M. Pyrimidine as constituent of natural biologically active compounds. *Chemistry and Biodiversity*, 2(1):1-50, 2005.
- Tolba M. S., El-Dean K. M. A., Ahmed M., Hassanien R., Sayed M., Zaki R. M., Mohamed S. K., Zawam A. S., Abdel-Raheem S. A. A. Synthesis, reactions, and applications of pyrimidine derivatives. *Current Chemistry Letters*, 11(1):121-138, 2022.

- Galmarini, C. M., Mackey J. R., Dumontet C. Nucleoside analogues and nucleobases in cancer treatment. *The Lancet Oncology*, 3(7):415-424, 2002.
- Daher G. C., Harris B. E., Diasio R. B. Metabolism of pyrimidine analogues and their nucleosides. *Pharmacology and Therapeutics*, 48(2):189-222, 1990.
- Maring J. G., Groen H. J. M., Wachters F. M., Uges D. R. A., Vries E. G. E. Genetic factors influencing pyrimidine antagonist chemotherapy. *The Pharmacogenomics Journal*, 5(4):226-243, 2005.
- Galmarini C. M., Jordheim L., Dumontet C. Pyrimidine nucleoside analogs in cancer treatment. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 3(5):717-728, 2003.
- Jordheim L. P., Durantal D., Zoulim F., Dumontet C. Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(6):447-464, 2013.
- Allison J. D., Tanavin T., Yang Y., Birnbaum G., Khalid U. Various manifestations of 5-fluorouracil cardiotoxicity: A multicenter case series and review of literature. *Cardiovascular Toxicology*, 20(4):437-442, 2020.
- Diasio R. B., Harris B. E. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clinical Pharmacokinetics*, 16(4):215-237, 1989.
- Tian Z. Y., Du G. J., Xie S. Q., Zhao J., Gao W. Y., Wang C. J. Synthesis and bioevaluation of 5-fluorouracil derivatives. *Molecules*, 12(11):2450-2457, 2007.
- Alvarez P., Marchal J. A., Boulaiz H., Carrillo E., Vélez C., Rodríguez-Serrano F, Melguizo C, Prados J, Madeddu R, Aranega A. 5-Fluorouracil derivatives: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 22(2):107-123, 2012.
- Brade W. P., Herdrich K. Tegafur a Review of Pharmacology and Toxicology. *Contributions to Oncology*, 14:2-25, 1983.
- Hoff P. M., Lassere Y., Pazdur R. Tegafur/Uracil+ calcium folinate in colorectal cancer. *Drugs*, 58(3):77-83, 1999.
- Hamada C., Tanaka F., Ohta M., Fujimura S., Kodama K., Imaizumi M., Wada H. Meta-analysis of postoperative adjuvant chemotherapy with tegafur-uracil in non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 23(22):4999-5006, 2005.
- Ishikawa T. Chemotherapy with enteric-coated tegafur/uracil for advanced hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 14(18):2797-2801, 2008.
- Woo Y. A., Kim G. H., Jeong E. J., Kim C. Y. Simultaneous determination of doxifluridine and 5-fluorouracil in monkey serum by high performance

- liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 875(2):487-492, 2008.
- Sha J., Ma T., Zhao R., Zhang P., Sun R., Jiang G., Wan Y., He H., Yao X., Li Y., Li T., Ren B. The dissolution behaviour and apparent thermodynamic analysis of doxifluridine in twelve pure solvents at various temperatures. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 144:1-11, 2020.
- Ebi H., Sigeoka Y., Saeki T., Kawada K., Igarashi T., Usubuchi N., Ueda R., Sasaki Y., Minami H. Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of fluoropyrimidine derivatives, capecitabine and 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR). *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 56(2):205-211, 2005.
- Dooley M., Goa K. L. Capecitabine. *Drugs*, 58(1):69-76, 1999.
- Wagstaff A. J., Ibbotson T., Goa K. L. Capecitabine. *Drugs*, 63(2):217-236, 2003.
- Plunkett W., Huang P., Gandhi V. Preclinical characteristics of gemcitabine. *Anti-cancer Drugs*, 6:7-13, 1995.
- Noble S., Goa K. L. Gemcitabine. *Drugs*, 54(3):447-472, 1997.
- Aapro M. S., Martin C., Hatty S. Gemcitabine-a safety review. *Anti-cancer Drugs* 9(3):191-201, 1998.
- El-Subbagh H. I., Al-Badr A. A. Cytarabine. *Excipients and Related Methodology*, 34:37-113, 2009.
- Baker W. J., Royer G. L., Weiss R. B. Cytarabine and neurologic toxicity. *Journal of Clinical Oncology*, 9(4):679-693, 1991.
- Hamada A., Kawaguchi T., Nakano M. Clinical pharmacokinetics of cytarabine formulations. *Clinical Pharmacokinetics*, 41(10):705-718, 2002.
- Kirsch L. E., Notari R. E. Aqueous conversion kinetics and mechanisms of ancitabine, a prodrug of the antileukemic agent cytarabine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(7):896-902, 1984.
- Ibrahim I, T., Attallah K. M. Preparation of ^{99m}Tc -ancitabine as a possible tumor imaging agent. *Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications* 43(4):65-71, 2010.
- Antonelli R., Pimenta F. S., Tonhela M. A., de Toledo Fornazari A. L., Granato A. C., Malpass G. R. P. Degradation of cytarabine, creatinine, and urea in artificial urine by a photo-assisted sono-electrochemical process. *Research, Society and Development*, 9(8):1-18, 2020.
- Kirsch L. E., Notari R. E. Pharmacokinetic prodrug modeling: in vitro and in vivo kinetics and mechanisms of ancitabine bioconversion to cytarabine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(6):728-732, 1984.

- Ota K. Cytarabine. *Cancer and Chemotherapy*, 14(10):2983-2987, 1987.
- Tsushima F., Sakurai J., Harada H. A case of upper gingiva carcinoma with chronic graft-versus-host disease after allogenic bone marrow transplantation. *Australian Dental Journal*, 60(3):404-407, 2015.
- O'Dwyer K., Maslak P. Azacitidine and the beginnings of therapeutic epigenetic modulation. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 9(11):1981-1986, 2008.
- Issa J. P., Kantarjian H., Kirkpatrick P. Azacitidine. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4:6-7, 2005.
- Keating G. M. Azacitidine. *Drugs*, 72(8):1111-1136, 2012.
- Cashen A., Malik P. Decitabine in the treatment of acute myeloid leukemia in elderly patients. *Cancer Management and Research*, 6:53-61, 2014.
- Saba H. I. Decitabine in the treatment of myelodysplastic syndromes. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(5):807-817, 2007.
- Welch J. S., Petti A. A., Miller C. A., Fronick C. C., O'Laughlin M., Fulton R. S., Wilson R. K., Baty J. D., Duncavage E. J., Tandon B., Lee Y. S., Wartman L. D., Uy G. L., Ghobadi A., Tomasson M. H., Pusic I., Romee R., Fehniger T. A., Stockerl-Goldstein K. E., Vij R., Oh S. T., Abboud C. N., Cashen A. F., Schroeder M. A., Jacoby M. A., Heath S. E., Lubner K., Janke M. R., Hantel A., Khan N., Sukhanova M. J., Knoebel R. W., Stock W., Graubert T. A., Walter M. J., Westervelt P., Link D. C., DiPersio J. F., Ley T. J. TP53 and decitabine in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *New England Journal of Medicine*, 375(21):2023-2036, 2016.
- Ma L. Y., Pang L. P., Wang B., Zhang M., Hu B., Xue D. Q., Shao K. P., Zhang B. L., Liu Y., Zhang E., Liu H. M. Design and synthesis of novel 1, 2, 3-triazole-pyrimidine hybrids as potential anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 86:368-380, 2014.
- Ahmed N. M., Youns M. M., Soltan M. K., Said M. A. Design, synthesis, molecular modeling and antitumor evaluation of novel indolyl-pyrimidine derivatives with EGFR inhibitory activity. *Molecules*, 26(7):1-19, 2021.
- Xu Y., Foulks J. M., Clifford A., Brenning B., Lai S., Luo B., Parnell K. M., Merx S., McCullar M. V., Kanner S. B., Ho K. K. Synthesis and structure-activity relationship of 2-arylamino-4-aryl-pyrimidines as potent PAK1 inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(14):4072-4075, 2013.
- Farguay A. M., Habib N. S., Ismail K. A., Hassan A. M. M., Sarg M. T. M. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of some pyrimidine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 66:276-295, 2013.

- Amin L. H., Shaver T. Z., El-Naggar A. M., El-Sehrawi H. M. Design, synthesis, anticancer evaluation and docking studies of new pyrimidine derivatives as potent thymidylate synthase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 91:1-11, 2019.
- Ayati A., Moghimi S., Toolabi M., Foroumadi A. Pyrimidine-based EGFR TK inhibitors in targeted cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 221:1-19, 2021.
- Nasser A. A., Eissa I. H., Oun M. R., El-Zahabi M. A., Taghour M. S., Belal A., Saleh M. A., Mehany A. B. M., Luesch H., Mostafa A. E., Afifi W. M., Rocca J. R., Mahdy H. A. Discovery of new pyrimidine-5-carbonitrile derivatives as anticancer agents targeting EGFR WT and EGFR T790M. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 18(38):7608-7634, 2020.