



FEN BİLİMLERİ VE MATEMATİKTE ARAŞTIRMA VE DEĞERLENDİRMELER

MAYIS, 2021

CİLT II



EDİTÖRLER

PROF. DR. HASAN AKGÜL
PROF. DR. HASAN HÜSEYİN DOĞAN
DOÇ.DR. MEHMET YÜKSEL
DR. ONUR KARAMAN

YAZARLAR

NAKİ KAYA
SEMA NUR GÜNGÖR
H.NAZAN ÇAĞLAR
SUDE AKBULUT
ÖZLEM ALPTEKİN

ASLI GÖÇENOĞLU SARIKAYA
SİNEM ÇOLAK
GÖKHAN MUTLU
SEDA KUŞOĞLU GÜLTEKİN
İREM GÜLFEM ALBAYRAK

İmtiyaz Sahibi / Publisher • Yaşar Hız
Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • Eda Altunel
Kapak & İç T asarım / Cover & Interior Design • Gece Kitaplığı
Editörler / Editors • Prof. Dr. Hasan AKGÜL
Prof. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN
Doç. Dr. Mehmet YÜKSEL
Dr. Onur Karaman
Birinci Basım / First Edition • © Mayıs 2021
ISBN • 978-625-7411-81-3

© copyright

Bu kitabın yayın hakkı Gece Kitaplığı'na aittir.
Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir yolla
çoğaltılamaz.

The right to publish this book belongs to Gece Kitaplığı.
Citation can not be shown without the source, reproduced in any way
without permission.

Gece Kitaplığı / Gece Publishing
Türkiye Adres / Turkey Address: Kızılay Mah. Fevzi Çakmak 1. Sokak Ümit Apt.
No: 22/A Çankaya / Ankara / TR
Telefon / Phone: +90 312 384 80 40

w
e-m:  m
com

Baskı & Cilt / Printing & Volume
Sertifika / Certificate No: 47083

FEN BİLİMLERİ VE MATEMATİKTE ARAŞTIRMA VE DEĞERLENDİRMELER

Cilt II

EDİTÖR

PROF. DR. HASAN AKGÜL

PROF. DR. HASAN HÜSEYİN DOĞAN

DOÇ.DR. MEHMET YÜKSEL

DR. ONUR KARAMAN

gece
kitaplığı

İÇİNDEKİLER

Bölüm 10

SÜPERİLETKENLİKTE BAZI TEMEL KAVRAMLAR

Naki KAYA1

Bölüm 11

TÜRKİYE’DE FEN EĞİTİMİNDE TGA (TAHMİN-GÖZLEM-AÇIKLAMA) YÖNTEMİYLE İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALARIN ANALİZİ: BİR META-SENTEZ ÇALIŞMASI

Sema Nur GÜNGÖR19

Bölüm 12

LOKAL POLİNOMAL REGRESYON (LPR) VE DÜZGÜNLEŞTİRME

H.Nazan ÇAĞLAR.....39

Bölüm 13

HİDROLAZLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ VE İLAÇ ÖNCÜ BİLEŞİKLERİN SENTEZİNDE KULLANIMLARINA GENEL BİR BAKIŞ

Sude AKBULUT & Özlem ALPTEKİN55

Bölüm 14

AĞIR METAL BİYOSORPSİYONUNDA MANTARLARIN KULLANIMI

Aslı GÖÇENOĞLU SARIKAYA.....89

Bölüm 15

SIVI KROMATOGRASI ANALİZLERİNDE KULLANILAN TÜREVLENDİRME UYGULAMALARININ İNCELENMESİ

Sinem ÇOLAK103

Bölüm 16

KUANTUM GRAFLARA KISA BİR GİRİŞ

Gökhan MUTLU127

Bölüm 17

ÇAY AĞACI (MELALEUCA ALTERNİFOLIA) YAĞININ GENEL
ÖZELLİKLERİ

Seda KUŞOĞLU GÜLTEKİN & İrem Gülfem ALBAYRAK145

Bölüm 10

SÜPERİLETKENLİKTE BAZI TEMEL KAVRAMLAR

Naki KAYA¹

¹ Dr. Naki Kaya, İstanbul Arel Üniversitesi, MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Optisyenlik Programı, İstanbul, Türkiye, nakikaya06@gmail.com, Orcid: 0000-0003-2287-676X

GİRİŞ

Yaşamı kolaylaştıran teknolojik gelişmeler birtakım ön koşullar ile var olabilmektedir. Bu ön koşulların temelinde, teknolojilerin sürdürülebilirliğinin yegâne unsuru olan enerji eldesi yatmaktadır. Enerji ile beslenemeyen bir teknolojik sistemin sürdürülebilir olması güçtür. Enerji belirli kaynaklar ile elde edilebildiğinden ötürü enerjinin kullanımındaki verimlilik oldukça önemlidir.

Enerjinin elde edildiği kaynaktan, kullanılacağı sisteme ulaştırılması bir dizi transfer ağı ile gerçekleşmektedir. Enerjinin transferi esnasında ise istenmeyen enerji kayıpları yaşanabilmektedir. Bu durum enerjinin verimli kullanılmasının önünde büyük bir engel teşkil etmektedir. Bu bağlamda süperiletkenlik teknolojisi enerjinin verimli kullanılması noktasında önemli bir rol üstlenmektedir.

Normal bir metalden (süperiletken olmayan) akımın geçişi esnasında, yapı içerisindeki safsızlıklar, fonon titreşimleri, yapı kusurları gibi birçok farklı etmenden dolayı, akım bir elektriksel dirence maruz kalır. Bu durum sıcaklık artışı ile artma eğilimindedir. Bu olgu uzunca bir süre tüm metaller için geçerliliğini korumuş olsa da, 1911 yılında H. Kamerling Onnes'un cıvanın sıcaklığını 4,2 Kelvin değerine kadar soğutması ile alışılagelmiş elektriksel direnç tanımlamalarından farklı bir durumun ortaya çıktığı ve oldukça düşük sıcaklıklarda bazı metallerin var olandan farklı bir elektriksel direnç karakterine sergilediği görülmüştür (Onnes, 1911: 120, 126, 124).

Bu keşfe konu olan cıvanın 4,2 K sıcaklık değerinde elektriksel direncinin ortadan kalktığı belirlenmiştir. Bu durum süperiletkenlik konusuna geçişin ilk adımını oluşturmuştur. Bu tarihi keşiften sonra günümüzü de kapsayan bir süreçte birçok bilim insanı süperiletkenlik konusunda farklı çalışmalar yapmışlardır. Maglev trenlerden, hassas detektörlere, yüksek akım taşıma kapasiteli kablolardan NMR cihazlarına kadar birçok farklı sistemde süperiletken malzemeler kullanılmaktadır.

Süperiletken olarak isimlendirilen malzemeler; uygun şartlar altında elektriksel dirençleri ölçümü mümkün olmayacak seviyelerde, neredeyse sıfır olan malzemelerdir. Bu durum her malzeme için geçerli olmamaktadır. Çok iyi elektriksel iletkenlik özelliği olduğu bilinen birçok malzeme tüm şartlar denense de süperiletken faza geçememektedir.

1. TEMEL KAVRAMLAR

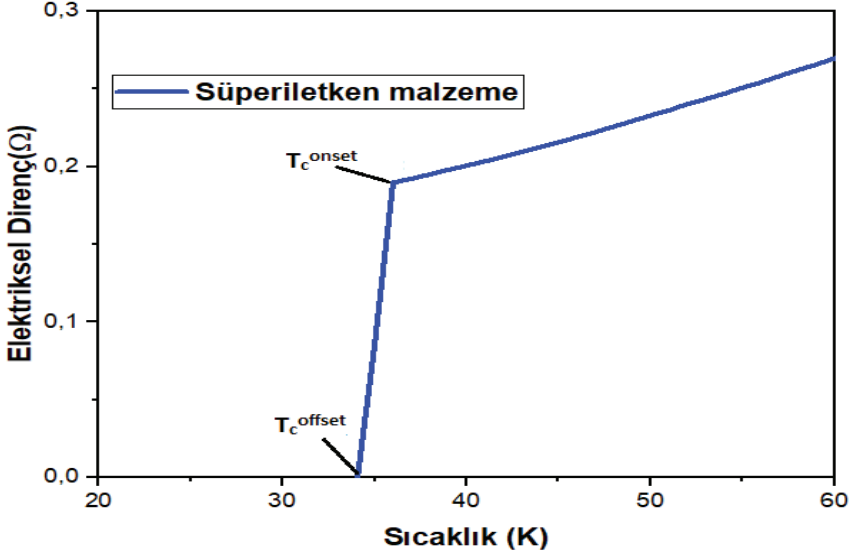
1.1. Kritik Geçiş Sıcaklığı (T_c)

Süperiletken duruma geçebilme özelliği barındıran malzemeler; belirli bir manyetik alanda, belirli bir eşik sıcaklık değerine kadar soğutulduklarında, elektriksel dirençlerini sıfıra düşürürler. Bu eşik sıcaklık değerine kritik geçiş sıcaklığı denir ve T_c ile gösterilir. Bu değer malzemenin süperiletken faza geçiş sıcaklığıdır.

Kritik geçiş sıcaklığı değeri malzemenin malzemeye değişiklik gösterdiği için, bu değer malzemeye özgü bir karakteristik değerdir. Örneğin MgB_2 ; 39 K (Nagamatsu, Nakagawa ve diğerleri, 2001:63-4), Nb_3Al ; 18,8 K (Willens ve diğerleri, 2002: 837-841), Nb_3Ge ; 17 K (Matthias ve diğerleri, 1965) sıcaklık değerinde süperiletken faza geçmeleri, kritik geçiş sıcaklığının karakteristik bir değer olmasının sonucudur.

Kritik geçiş sıcaklığına kadar bir malzemenin soğutulması belirli bir maliyet doğuracağından dolayı kritik geçiş sıcaklığının yüksek olması; hem süperiletken faza geçiş maliyetini azalttığından, hem de malzemenin teknolojik sistemlerde kullanım yaygınlığının artırılabilmesinden ötürü süperiletken malzeme için oldukça önemlidir. 4,2 K'den başlayan kritik geçiş sıcaklığı değerinden günümüzde oldukça yüksek değerlere kadar çıkmıştır. Bu gelişmenin yaşanmasında süperiletkenlik olgusunun popülaritesinin artması ve birçok araştırmacı tarafından süperiletkenlik çalışmalarının yapılmasının rolü yadsınamaz.

Oda sıcaklığında belirli bir elektriksel dirence sahip olan süperiletkenlik özelliği barındıran malzemenin, belirli bir manyetik alanda soğutulma ile beraber elektriksel direnci azalır ve belirli bir kritik geçiş sıcaklık değerinde ise bu malzemenin elektriksel direnci sıfıra düşer. Elektriksel direncin sıfıra düşme durumuna malzeme, Şekil 1'de olduğu gibi elektriksel dirençte ani bir azalış eğilimi ile ulaşır. Elektriksel direnç değerindeki düşüş eğiliminin başlangıç noktası T_c^{onset} , elektriksel direnç değerindeki düşüş eğiliminin bitiş noktası ise T_c^{offset} olarak adlandırılır. Bu iki değer arasındaki fark ise ΔT_c olarak bilinir ve bu fark değeri süperiletken faza geçişe dair bir dizi yorumlamaların ipuçlarını sunar.



Şekil 1. Süperiletken Bir Malzemede Temsili Bir Elektriksel Direnç-Sıcaklık Grafiği

1.2. Kritik Manyetik Alan (H_c)

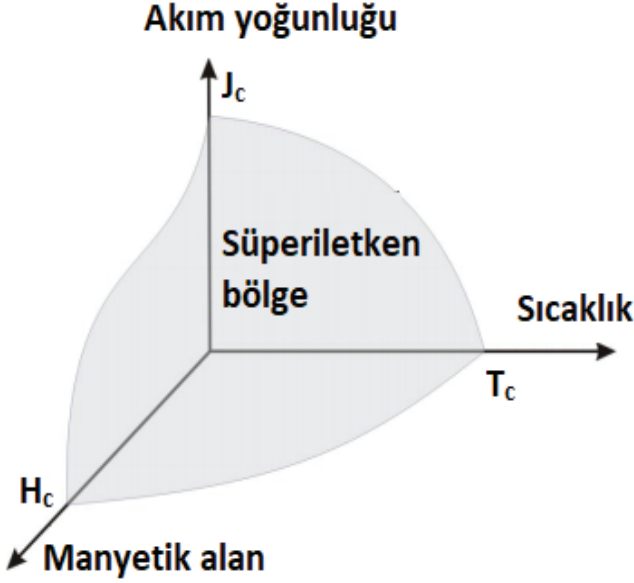
Süperiletkenlik özelliği taşıyan malzemeler belirli bir kritik geçiş sıcaklığında ve belirli bir manyetik alan değerinde süperiletkenlik özelliği gösterirler. Fakat malzemede süperiletkenlik halin korunabilmesi için bu değerler belirli seviyelerde tutulmalıdır. Süperiletken malzemenin manyetik alana karşı gösterdiği direncin kırıldığı ve malzemenin süperiletken özelliğinin kaybolmaya başladığı manyetik alan değeri kritik manyetik alan olarak adlanmaktadır. Bu değer malzemenin süperiletken halde kalabildiği eşik manyetik alan değeridir. Kritik manyetik alan değeri sıcaklığa bağlı olarak Denklem 1 yardımı ile hesaplanmaktadır (Orlando ve Delin, 1991:4).

$$H_c(T) = H_c(0) \left[1 - \left(\frac{T}{T_c} \right)^2 \right] \quad (1)$$

Denklem 1’de $H_c(T)$, T sıcaklığındaki kritik manyetik alan değeri; $H_c(0)$, $T=0$ K’deki kritik manyetik alan değeridir. Denklem 1’den anlaşıldığı gibi herhangi bir süperiletkenin, süperiletkenlik özelliğini koruması için gereken eşik sıcaklık değeri ve eşik manyetik alan değeri birbirleri ile bağlantılıdır.

1.3. Kritik Akım Yoğunluğu (J_c)

Akım transferinde, minimum düzeyde akım kaybı kadar önemli olan bir diğer husus, tek seferde taşınabilecek akım miktarının fazlalığıdır. Süperiletken malzemede santimetre kare başına düşen taşınabilir akım miktarına kritik akım yoğunluğu denilmektedir. Başka bir ifade ile süperiletken malzemede süperiletkenlik özelliği bozulmadan santimetre kare başına taşınabilen maksimum akım miktarına kritik akım yoğunluğu denmektedir. Bir malzemenin süperiletken özelliğini koruyabilmesi için kritik geçiş sıcaklığı, kritik manyetik alan ve kritik akım yoğunluğu değerleri söz konusu malzeme için aynı anda uygun değerlerde olmalıdır. Bu durum bir diyagram ile şekil 2’de ifade edilmektedir. (Goodrich and Bray, 1990: 667)



Şekil 2. Kritik Geçiş Sıcaklığı, Kritik Manyetik Alan ve Kritik Akım Yoğunluğu Arasındaki İlişki

Kritik akım yoğunluğu doğrudan deneysel ölçümler ile bulunabileceği gibi Denklem 2 ile ifade edilen Bean Yöntemi ile de hesaplanabilmektedir (Bean, 1962:250).

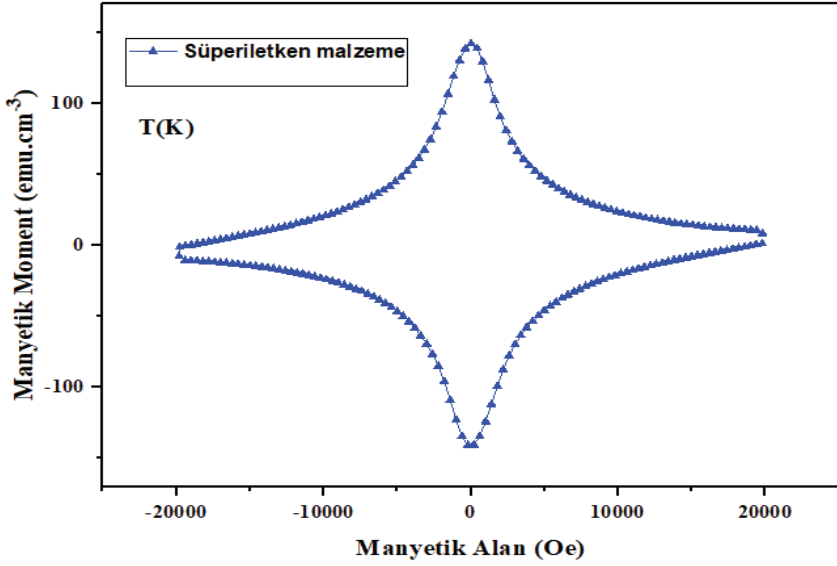
$$J_c = \frac{20\Delta M}{a\left(1 - \frac{a}{3b}\right)} \quad (2)$$

Bu denklemde ΔM ; manyetik alana karşı malzemenin göstermiş olduğu manyetik moment tepkisi grafiğinden elde edilen veriler ile

hesaplanan $(M_+)-(M_-)$ değeridir. a ve b değerleri ise malzemenin boyutlarıdır. Denklem 2, $a < b$ şartında kullanılmaktadır. Ancak $b < a$ şartı söz konusu olursa kritik akım yoğunluğu hesabı Denklem 3 kullanılarak hesaplanmalıdır.

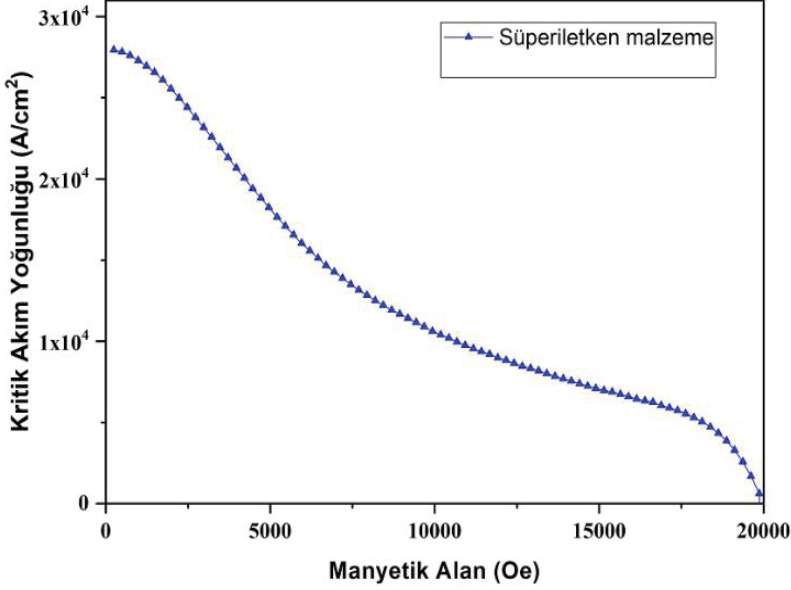
$$J_c = \frac{20\Delta M}{b\left(1-\frac{b}{3a}\right)} \quad (3)$$

Süperiletken bir malzeme titreşimli numune manyetometresi gibi bir sistem ile belli bir sıcaklık değerinde manyetik alana karşı göstermiş olduğu manyetik moment tepkisi ölçümüne tabi tutulursa; ölçüm sonucu elde edilen veriler kullanılarak Şekil 3’de gösterildiği gibi bir $M-H$ eğrisi çizilir. Elde edilen bu eğri süperiletkenliğe has diyamanyetik karakterin histeresiz eğrisidir. Bu eğri verileri ile elde edilen ΔM değeri ve numune ölçüleri ise Denklem 2’de yerine yazılarak kritik akım yoğunluğu hesabı yapılır.



Şekil 3. Süperiletken Bir Malzemede Temsili Bir Manyetik Alan-Manyetik Moment Grafiği

Yapılan kritik akım yoğunluğu hesabının ardından şekil 4’ te gösterildiği gibi bir grafik çizilebilir.



Şekil 4. Süperiletken Bir Malzemede Temsili Bir Kritik Akım Yoğunluğu-Manyetik Alan Grafiği

Birçok araştırmacı yapmış olduğu farklı çalışmalarla süperiletken malzemelerin kritik akım yoğunluğu değerini iyileştirme çalışmışlardır (Ye ve diğerleri, 2013:12, Ma, 2013:23-25, Patel ve diğerleri, 2014:160-165, Eğilmez ve diğerleri 2006:359-364).

Şekil 3'te görülen eğri iç alanın artmasının akı çivileme merkezlerinin sayısını arttıracığından ötürü kritik akım yoğunluğunu da arttırdığı düşünülür (Durán ve diğerleri, 2008:104). Bu açıdan bakıldığında da süperiletken malzemelerde manyetik özelliklerin kritik akım yoğunluğu değeri ile bağlantılı olduğu görülmektedir. Nitekim birçok araştırmacı süperiletken malzemelerin manyetik özelliklerini farklı çalışmalar ile incelemiş ve manyetik özelliklerin kritik akım yoğunluğu gibi parametrelere etkilerini araştırmışlardır (Collings ve diğerleri 2003:555-559; Kaya, 2020; Matsushita ve diğerleri, 2010:1406-1410; Nagamatsu ve diğerleri, 2001: 63-4; Mudgel ve diğerleri, 2008: 439-442).

1.4. Nüfuz Derinliği (λ)

Kritik değerler altında bulunan süperiletken malzemelerden manyetik alan dışarılanırken, süperiletken malzeme yüzeyinde belirli kalınlıkta perdeleme akımları meydana gelir. Bu akımlar zamanla malzemenin içerisine sızma eğilimi göstererek, malzeme içerisine belli bir miktar ilerler. Rose ve arkadaşları tarafından bulunan bu olguya nüfuz

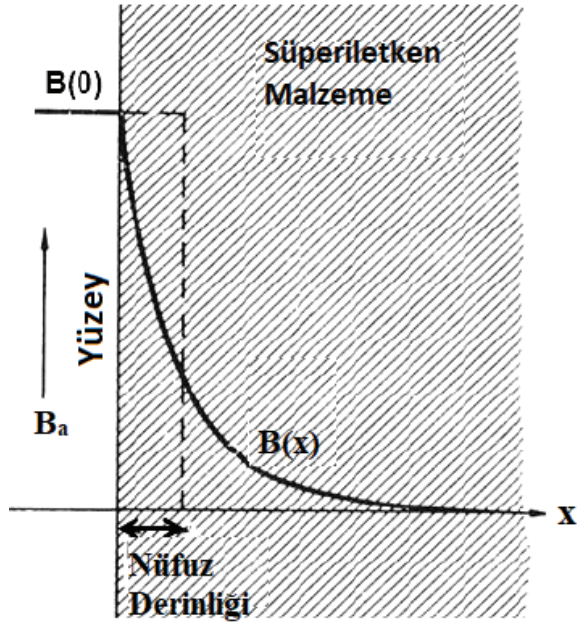
derinliği denilmektedir ve λ ile gösterilmektedir (Rose- Innes and Rhoderick, 1994). Sıcaklığa bağlı olarak nüfuz derinliği Denklem 4 yardımı ile bulunabilmektedir.

$$\lambda(T) = \lambda_0 \left[1 - \left(\frac{T}{T_c} \right)^2 \right]^{-\frac{1}{2}} \quad (4)$$

Aynı zamanda London kardeşler tarafından, nüfuz derinliği; akımın yüzeyden uzaklaşma miktarı (x) ve manyetik alan (H) ile ilişkilendirilerek Denklem 5 türetilmiştir (London, H. and London, F. 1935:71).

$$H(x) = H_0 e^{-\frac{x}{\lambda}} \quad (5)$$

Şekil 5 manyetik alanının numune yüzeyinden x uzaklığı ile değişimini temsil etmektedir (Flükiger, 2012:1-23).

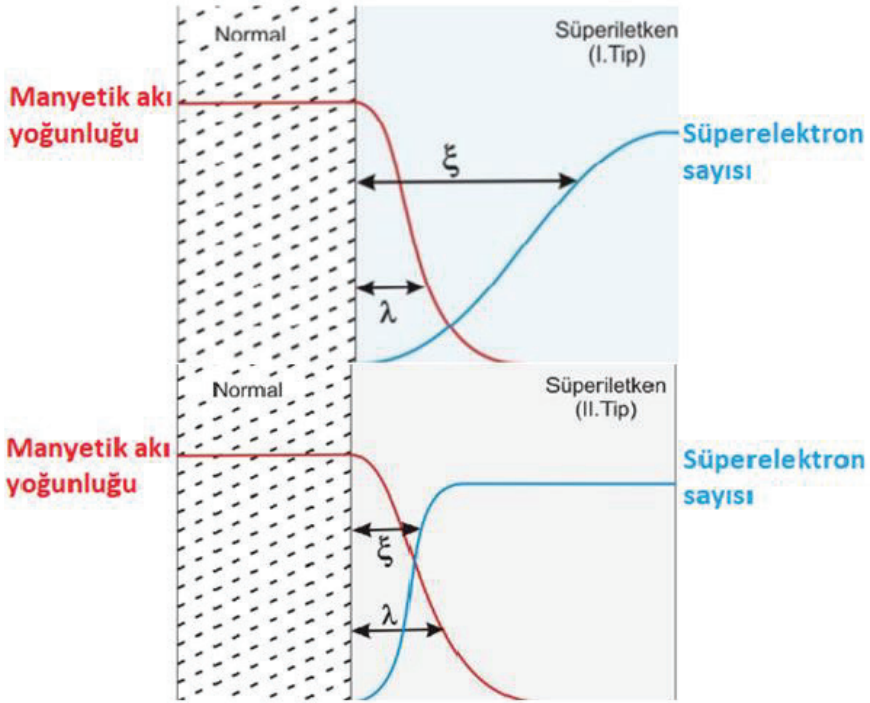


Şekil 5. Manyetik Alanının Numune Yüzeyinden x Uzaklığı ile Değişimi

1.5.Eş-Uyum Uzunluğu (ξ)

Süperiletken bir malzemeye, konuma bağlı olarak değişen bir manyetik alan uygulandığında, süperiletkenin elektron derişiminin yaklaşık olarak sabit kaldığı uzaklık ölçüsüne eş-uyum uzunluğu denmektedir (Kittel, 2013:3). Eş-uyum uzunluğu süperiletken malzeme

içerisinde, süperiletken fazlar ile normal fazlar arasındaki geçişin normal elektron ve süperelektronlar temelinde açıklamayı amaçlar. Bunun için normal ve süperiletken bölgelerdeki elektron yoğunluk derecesindeki değişim incelenir. Sonuç olarak malzeme içerisinde süperiletken faz bölgesinden normal faz bölgesine geçişin keskin olmayacağı sonucu ortaya çıkar. Bu durum, normal faz bölgesindeki süperelektronların yoğunluğunun, süperiletken bölgedeki süperelektron yoğunluğuna eş-uyum uzunluğu mesafesinde artarak ulaşmasının bir sonucudur (Babaoğlu, 2012:17). Şekil 6 bu durumun nüfuz derinliğine bağlı olarak 1. Tip ve 2. Tip süperiletkenler için çizilmiş temsili bir gösterimidir.



Şekil 6. 1. Tip ve 2. Tip Süperiletkenlerde Normal ve Süperiletken Sınırındaki Eş-Uyum Uzunluğu ve Girme Derinliği

Süperiletken malzemenin safsızlık durumu eş-uyum uzunluğunu etkileyen bir parametredir. Saf süperiletkenlerin karakteristik eş-uyum uzunluğu değerleri özgül eş-uyum uzunluğu (ξ_0) olarak adlandırılır ve Denklem 6 ile hesaplanır.

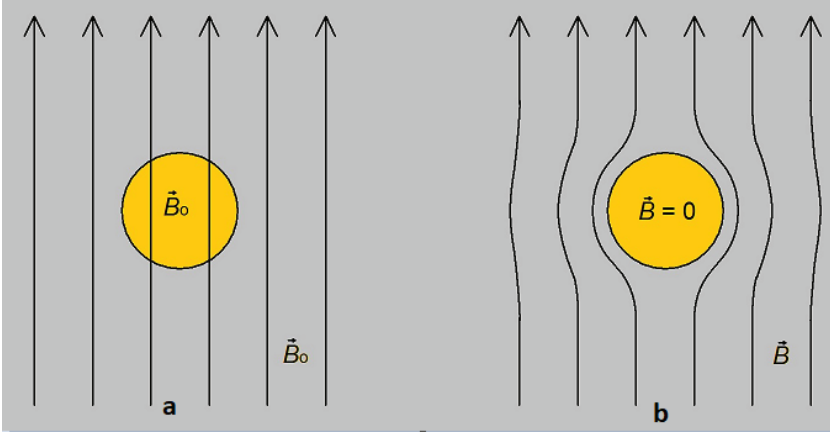
$$\xi_0 = \frac{2\hbar\theta_f}{\pi E_g} \quad (6)$$

1.6. Meissner Etki

Süperiletken malzemeler, kritik değerler altında elektriksel dirençlerinin sıfır olmasının yanında bir de mükemmel diyamanyetik özelliğe sahip olmaları ile bilinirler. Diyamanyetik özellik manyetik alınganlığın negatif değerde olma halidir. Manyetik duygunluk Denklem 7 ile ifade edilmektedir.

$$\chi = \frac{\mu_0 M}{B} \quad (7)$$

Süperiletken malzemeler dış manyetik alan altında, kritik geçiş sıcaklığı değerine kadar soğutulduklarında normal durumdan, süperiletken duruma geçiş yaparlar. Bu esnada malzeme içindeki manyetik alan dışarlanır ve malzemenin iç manyetik alanı sıfır olur. Bu durum Meissner etkisi olarak bilinmektedir ve Şekil 7 ile temsil edilmiştir (Meissner, and Ochsenfeld, 1933:21).



Şekil 7. a) Kritik Geçiş Sıcaklığı Üzerinde Bir Sıcaklık Değerinde Malzemenin Normal Fazı, b) Kritik Geçiş Sıcaklığında Malzemenin Süperiletken Fazı

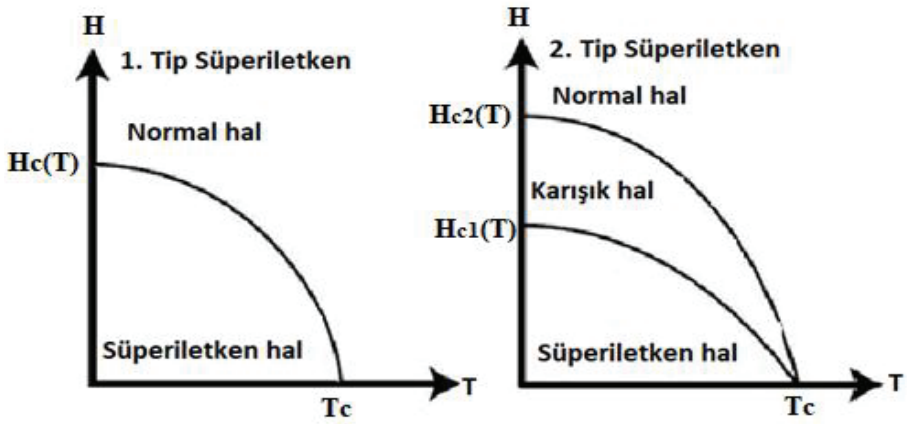
Şekil 7.a'da süperiletken bir malzemeye belli bir dış manyetik alan uygulanmakta fakat malzeme kritik geçiş sıcaklığının üzerinde bir sıcaklık değerinde olduğundan manyetik alan çizgileri malzemenin içerisine nüfuz edebilmektedir. Bu durumda malzeme süperiletken faza geçiş yapamamaktadır.

Şekil 7. b'de malzemeye belli bir dış manyetik alan uygulanırken malzeme kritik geçiş sıcaklığına kadar soğutuluyor. Bu durumda malzeme Meissner Etkisi gereği içeride bulunan manyetik alanı dışarıyor ve iç manyetik alanı sıfırlayarak süperiletken faza geçiş yapıyor.

1.7. 1.Tip ve 2.Tip Süperiletkenler

Manyetik alanın malzeme içerisinde dışarlanma halı; belirli bir kritik sıcaklık değeri ve belirli bir kritik manyetik alan değerlerinde söz konusudur. Bu değerlerin aşılması halinde malzeme içersine manyetik alan nüfuz etmeye başlar. Ancak bu durum süperiletken den süperiletkene farklılıklar göstererek oluşmaktadır.

Süperiletken malzemeler, manyetik alana karşı göstermiş oldukları farklı tepkilerine göre 1. Tip ve 2. Tip süperiletken olarak gruplanmaktadır (İnternet; süperiletkenlik, 2020). Bu durumun açıklanabilmesi açısından literatürde sıklıkla karşılaşılan Şekil 8; 1. Tip ve 2. Tip süperiletkenlerin faz diyagramlarını temsilen çizilmiştir.



Şekil 8. 1. Tip ve 2. Tip Süperiletkenlere Ait Faz Diyagramları

Şekil 8'den anlaşıldığı gibi, 1. Tip süperiletkenlerde H_{c1} 'e kadar tam Meissner Etkisi görülmektedir. Fakat 2. Tip süperiletkende ise H_{c1} 'e kadar tam Meissner Etkisi, H_{c1} ile H_{c2} arasında yapıda karışık hal denilen bir durum meydana gelir.

Be, Lu, Ir, Rh, Os, Mo, Zr, Cd, U, Ti, Zn, Al, Th, Rh gibi malzemeler 1. Tip süperiletkenlere örnek olarak verilirken NbTi, PbMoS, Nb₃Sn gibi malzemeler de 2. Tip süperiletkenlere örnek olarak verilebilmektedir.

1.8. Ginzburg-Landau Teorisi

Ginzburg-Landau Teorisi; süperiletkenliği makroskobik düzeyde açıklayabilmek için Ginzburg ve Landau tarafından 1950 yılında oluşturulan bir teoridir (Ginzburg and Landau, 1950). Temelde bu teori

süperelektron kütlesi (m^*), elektron yükü (e^*) ve elektron yoğunluğu (n^*) arasında bir dizi bağlar kurmaktadır.

$$m^* = 2m \quad (8)$$

$$e^* = \pm 2e \quad (9)$$

$$n_s^* = \frac{1}{2} n_s \quad (10)$$

Ginzburg-Landau Teorisine göre, malzemede kritik geçiş sıcaklığının altında bir sıcaklık değerinde, Gibbs serbest enerjisi Denklem 11'de olduğu gibi ifade edilebilir.

$$G_s[\emptyset] = G_n + \frac{1}{V} \int d^3 \mathbf{r} \left[\frac{1}{2m^*} \times (-i\hbar \nabla + \mathbf{e}^* \mathbf{A}) \emptyset^* \cdot (i\hbar \nabla + \mathbf{e}^* \mathbf{A}) \emptyset + \left(\frac{1}{2\mu_0} \right) B^2(r) - \mu_0 \mathbf{H}(r) \cdot \mathbf{M}(r) + a \emptyset \emptyset^* + \frac{1}{2} b \emptyset \emptyset^* \emptyset \emptyset^* + \dots \dots \right] \quad (11)$$

Bu denklemde G_n normal durum serbest enerji yoğunluğu, A manyetik vektör potansiyeli, a ve b sıcaklık fonksiyon parametresidir. Bu denkleme göre eğer malzeme normal durumda ise; $B = \mu_0 H$, $M = 0$ ve manyetik katkı; $\frac{1}{2} \mu_0 H^2$ olarak ifade edilirken, malzeme süperiletken durumda ise; $B = 0$, $M = -H$ ve manyetik katkı; $\mu_0 H^2$ olarak ifade edilmektedir (Poole ve diğerleri, 2007:143).

Malzeme kritik geçiş sıcaklığı değerine yakın değerlerinde sıcaklık fonksiyon değerleri Denklem 12 ve Denklem 13'de olduğu gibi yaklaşık değerlere sahip olmaktadır.

$$a(T) \approx a_0 \left[\frac{T}{T_c} - 1 \right] \quad (12)$$

$$b(T) \approx b_0 \quad (13)$$

Ginzburg-Landau Denklemleri kritik akım yoğunluğu hesaplamaları; süperiletken malzemede, eş-uyum uzunluğu ve nüfuz derinliği değerinden faydalanılarak Denklem 14 yardımı ile hesaplanabilmektedir.

$$J_c = \frac{\Phi_0}{3\sqrt{3}\pi\mu_0\lambda_L^2\xi} \quad (14)$$

Ginzburg-Landau Teorisi süperiletken malzemenin 1. Tip veya 2. Tip olma durumunu açıklamaktadır. Bunu gerçekleştirirken nüfuz derinliği ve eş-uyum uzunluğu parametrelerinden yararlanmaktadır. Ginzburg-Landau Teorisi bu iki parametreyi oranlayarak Ginzburg-Landau Terimi (χ_{G-L}) elde eder. Ginzburg-Landau nüfuz derinliği

Denklem 15 ile Ginzburg-Landau eş-uyum uzunluğu ise Denklem 16 ile bulunur.

$$\lambda = \sqrt{\frac{m}{4\mu_0 e^2 \psi_0^2}} \quad (15)$$

$$\xi = \sqrt{\frac{\hbar^2}{2m|a|}} \quad (16)$$

Denklem 15, Denklem 16'ya bölünürse Ginzburg-Landau Terimi Denklem 17'de gösterildiği hali ile bulunur.

$$\chi_{G-L} = \sqrt{\frac{\lambda}{\xi}} \quad (17)$$

Hesaplamalar sonucunda Ginzburg-Landau Terimi 0,707'den küçük ise ($\chi_{G-L} < \frac{1}{\sqrt{2}}$) malzeme 1. Tip süperiletkendir ve yüzey enerjisi pozitifdir, 0,707'den büyük ise ($\chi_{G-L} > \frac{1}{\sqrt{2}}$) malzeme 2. Tip süperiletkendir ve yüzey enerjisi negatiftir, sonucuna varılır (Koralay, 2007).

1.9. London Denklemleri

Süperiletkenlikte elektrodinamiğin anlaşılabilmesi için 1935 yılında London Kardeşler tarafından ortaya konulan matematiksel yaklaşımlar London Denklemleri olarak bilinmektedir [28]. London Denklemleri; yapı içerisindeki süperelektronların (n_s) ve normal elektronların (n_e) davranışları temelinde çıkarımlar yapmaktadır.

Süperiletken malzeme içerisindeki toplam elektron yoğunluğunun; süperelektronlar ve normal elektronların toplamı olarak kabul eden bu denklemlerde, 0 K sıcaklığında tüm elektronların süperelektron, kritik geçiş sıcaklığı değerinde ise tüm elektronların normal elektron olduğunu iddia eder (Safran, 2010:14).

London kardeşler konumdan bağımsız bir nüfuz derinliği ile Birinci London Denklemini (Denklem 18) ve İkinci London Denklemini (Denklem 19) türetmişlerdir.

$$\mathbf{E} = \mu_0 \lambda_L^2 \frac{d}{dx} \mathbf{J} \quad (18)$$

$$\mathbf{B} = -\mu_0 \lambda_L^2 \nabla \times \mathbf{J} \quad (19)$$

London Denklemleri Ginzburg-Landau Denklemlerinden de elde edilebilmektedir. London Denklemleri yardımı ile konumdan bağımsız nüfuz derinliği değeri Denklem 20 ile hesaplanabilmektedir.

$$\lambda_L = \left(\frac{m_e}{\mu_0 n_s e^2} \right)^{-\frac{1}{2}} \quad (20)$$

1.10. BCS Teorisi

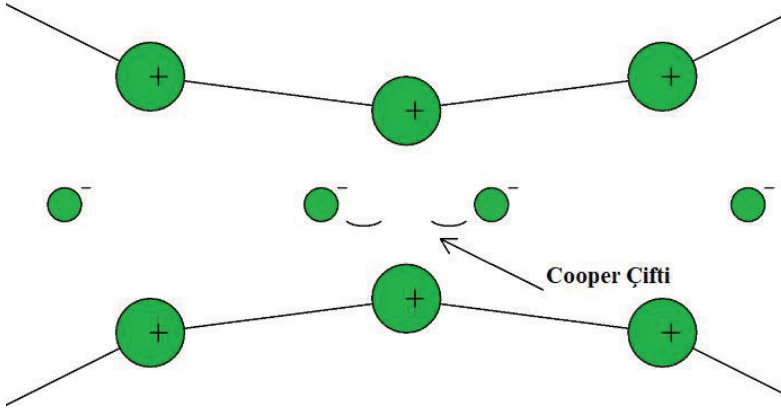
1957 yılında, Bardeen, Cooper ve Schrieffer isimli araştırmacıların, isimlerinin baş harfleri ile adlandırdıkları süperiletkenliğin mikroskobik teorisi BCS Teorisi olarak bilinmektedir. Bu teori düşük sıcaklık süperiletkenlerini açıklamada oldukça başarılıdır. BCS teorisinin açıklanabilmesinin temelinde Cooper çiftleri yatmaktadır.

Süperiletken yapıda, kristal örgü bileşenleri dış bir etkiye maruz kalmadığı sürece, konumlandığı yerlerde bulunmaktadırlar. Fakat kristal örgüden elektron geçişi esnasında, kristal örgüde şeklen bir bozulma meydana gelerek, lokal olarak kristal örgü bileşenleri konumlarında kaymalar meydana gelir. Elektron geçişi pozitif yük yoğunluğu konsantrasyonu lokalize olarak bozulduğundan ötürü, yapı içerisindeki elektronlar arasında az miktarda potansiyel enerji farkları meydana gelir. Bu enerji farkı ise elektronları spin ve momentum yönünden zıt hale dönüştürür. Spin ve momentumu zıt iki elektron bir araya gelerek bir çift oluşturur ve bu çifte Cooper Çifti denilir.

Cooper Çiftinin oluşumunda elektron, örgü içerisinde pozitif yükleri yaklaştırarak bir nevi elektron-örgü-elektron etkileşimi gerçekleştirir. Bu oluşum süperiletkenlikte elektriksel iletimin temelidir. Bir yapı eğer elektron-örgü-elektron etkileşimini sağlayamıyorsa, ne kadar iyi bir iletken olursa olsun süperiletken faza geçememektedir. Schrödinger Denklemini baz alan Denklem 21 çözümlendiğinde, elektronların potansiyel enerjileri hakkında bilgilere ulaşılabilir.

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m} (\nabla_1^2 + \nabla_2^2) + V(r_1, r_2) \right] \Psi(r_1, r_2) = (E + 2E_F) \Psi(r_1, r_2) \quad (21)$$

Şekil 9. Örgü içindeki elektron-örgü-elektron etkileşimi temsilen çizilmiştir.



Şekil 9. Örgü içindeki elektron-örgü-elektron etkileşimi temsilen çizimi

BCS Teorisi birtakım sonuçlar sunmaktadır.

- BCS teorisi; kritik geçiş sıcaklığı (T_c) ve $E_g=2\Delta$ değerlerini, Debye sıcaklığı (Θ_D), Fermi seviyesinde durum yoğunluğu ($D(E_F)$) ve elektron-fonon etkileşim enerjisi (V) bağıntıları ile Denklem 22 ve Denklem 23 ile tanımlamaktadır.

$$E_g \approx 3.5k_B T_c \quad (22)$$

$$k_B T_c \approx k_B \Theta_D \cdot \exp\left(-\frac{1}{\frac{1}{2}D(E_F) \cdot V}\right) \quad (23)$$

- Elektronlar arasında meydana gelen çekici etkileşim, taban durumu ve uyarılmış durumlar arasında bir enerji aralığının ortaya çıkmasına yol açar.
- Taban durum oluşması için tüm elektronlar çift oluşturmalıdır.
- BCS Teorisi nüfuz derinliği ve eş-uyum uzunluğu kavramlarını türetmiştir.
- Yüksek sıcaklıklarda yapı içerisinde istenmeyen fonon yoğunluğu oluşacağına, süperiletkenlik durumuna geçiş düşük sıcaklıklarda meydana gelmektedir.
- Elektron ile fonon arasındaki güçlü etkileşim sonucu süperakımlar meydana gelir.

KAYNAKLAR

- Babaoğlu, G. M. (2012). Aromatik hidrokarbon katkılı MgB_2 süperiletkenlerin elektromanyetik karakterizasyonu. Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı*, s:17. Ankara.
- Bean, C. P. (1962). Magnetization of hard superconductors. *Physical Review Letters*, 8(6):250.
- Collings, E., W., Lee, E., Sumption, M. D., Tomsic, M., Wang, X. L., Soltanian, S., Dou, S. X. (2003). Continuous- and batch-processed MgB_2/Fe strands—transport and magnetic properties. *Physica C: Superconductivity and its Applications*, 386, 555–559.
- Durán, A., Verdín, E., Galván, D. H., Romero-Salazar, C., Morales, F., Adem, E., ... & Escudero, R. (2008). Magnetic instability in irradiated MgB_2 dense samples. *Journal of Applied Physics*, 104(9), 093917.
- Egilmez, M., Ozyuzer, L., Tanoglu, M., Okur, S., Kamer, O., & Oner, Y. (2006). Electrical and mechanical properties of superconducting MgB_2/Mg metal matrix composites. *Superconductor Science and Technology*, 19(4), 359-364.
- Flükiger, R. (2012). Overview of Superconductivity and Challenges in Applications. *Reviews of Accelerator Science and Technology*, 05:1-23. DOI:10.1142/S1793626812300010.
- Ginzburg, V. L. and Landau, D. L. (1950). *Zh. Exsp. Theor. Fiz.* 20, 10064.
- Goodrich, L. and Bray, S. L. (1990). *Cryogenics*, 30: 667.
- Kaya, N. (2020). Çok duvarlı karbon nanotüp katkılı MgB_2 süperiletkeninin elektriksel, manyetiksel ve yapısal özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı*, Ankara.
- Kittel, C. (2013). *Katıhal Fiziğine Giriş. (Sekizinci Basımdan Çeviri)*. Palme Yayınları, s: 277. ISBN: 978-605-355-225-3.
- Koralay, H. (2007). Farklı oranlarda vanadyum katkısı yapılmış bi-tabanlı yüksek sıcaklık süperiletkenlerinin üretimi, yapısal ve fiziksel özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı*, Ankara.
- London, H., London, F. (1935). The electromagnetic equations of the superconductors. *Proceeding of Royal Society*. A149, 71.
- Ma, Y. (2013). Superconducting properties of PIT processed MgB_2 wires and tapes. *ACASC, Cappadocia, Turkey*, Oct, 23-25.
- Matsushita, T., Kiuchi, M., Otabe, E. S., Yamamoto, A., Shimoyama, J., Kishio, K. (2010). Critical current properties at high magnetic fields in polycrystalline MgB_2 superconductors. *Physica C: Superconductivity and its Applications*, 470 (20), 1406-1410.
- Matthias, B. T., Geballe, T. H., Willens, R. H., Corenzwit E., Hull, Jr. G. W. (1965). Superconductivity of Nb_3Ge . *Phys. Rev.* 139, A1501.
- Meissner, W. and Ochsenfeld, R. (1933). Superconductivity. *Naturwiss.*21.
- Mudgel, M., Awana, V. P. S., Bhalla, G. L., & Kishan, H. (2008). Superconductivity of non-stoichiometric intermetallic compound NbB_2 . *Solid state communications*, 147(11-12), 439-442.

- Nagamatsu, J., Nakagawa, N., Muranaka, T., Zenitani, Y., & Akimitsu, J. (2001). Superconductivity at 39 K in magnesium diboride. *Nature*, 410(6824), 63-64.
- Onnes, H.K. (1911). *Leiden Commun.* 120, 126, 124c.
- Orlando, T. P. and Delin, K. A. (1991). Foundations of Applied Superconductivity, *Addison Welsey Publishing Company*, S: 4.
- Patel, D., Al Hossain, M. S., Motaman, A., Barua, S., Shahabuddin, M., & Kim, J. H. (2014). Rational design of MgB_2 conductors toward practical applications. *Cryogenics*, 63, 160-165.
- Poole Jr, C. P., Farach, H. A., Creswick, R. J., Prozorov, R. (2007) (Second edition), Superconductivity, *Elsevier Ltd*. ISBN: 978-0-12-088761-3. S: 143.
- Rose-Innes, A. C., Rose-Innes, A. C., Rhoderick, E. H., & Rhoderick, E. H. (1978). *Introduction to superconductivity* (Vol. 6). Pergamon.
- Safran, S. (2010). MgB_2 süperiletken tellerde alternatif akım kaybı ve akı perçinleme mekanizmaları. Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı*, Ankara. S:14.
- Ye, S., Song, M., Matsumoto, A., Togano, K., Takeguchi, M., Ohmura, T., Kumakura, H. (2013). High-performance MgB_2 superconducting wires for use under liquid-helium-free conditions fabricated using an internal Mg diffusion process. *Superconductor Science and Technology*, 26:12.
- Willens, R. H., Geballe, T. H., Gossard, A. C., Maita J. P., Menth, A., Hull Jr, G. W., Soden, R. R. (2002). Superconductivity of Nb_3Al . *Solid State Communications*, 7(11): 837-841.
- İnternet:süperiletkenlik, <http://lampx.tugraz.at/~hadley/ss2/problems/super/s.pdf>.

Bölüm 11

TÜRKİYE'DE FEN EĞİTİMİNDE TGA
(TAHMİN-GÖZLEM-AÇIKLAMA) YÖNTEMİYLE
İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALARIN
ANALİZİ: BİR META-SENTEZ
ÇALIŞMASI

Sema Nur GÜNGÖR ¹

¹ Sema Nur GÜNGÖR, Dr., Bursa Uludağ Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, ORCID: 0000-0001-5755-4280

Fen öğretiminde öğrencilerin fen konularında bilimsel olmayan çeşitli düşüncelere ve alternatif kavramlara sahip oldukları bilinmektedir (Özkara & Aydın, 2010). Öğrencilerin, bu alternatif kavramları değiştirmeye direnç gösterdikleri ve geleneksel öğretim yöntemlerinin bu probleme cevap vermede etkili olmadığı görülmektedir. Bu noktada bir öğrenme konusu ile ilişkili problem çözme, kritik düşünme ve öğrencilerin kendi öğrenmelerinden sorumlu olduğu aktif öğretim yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu yöntemlerden biri de öğrencilerin bilgiyi bireysel olarak oluşturduğu, yorumladığı ve yeniden organize ettiği yapılandırmacı yaklaşımı temel alan TGA yöntemidir.

TGA yönteminin, öğrencilerin önbilgisini etkinleştiren, gözlemlerine ilişkin çelişki durumunun çözümünü öğrenciye bırakan, çalışma aşamalarının atlanmadan gerçekleştirilmesini sağlayan, uygulanabilirliği yüksek ve kolay olması açısından da tercih edilen bir yaklaşım olduğu belirtilmektedir (Yıldırım, Nakiboğlu & Sinan, 2004; Tekin, 2008). Yöntem, deneysel ve uygulamalı derslerdeki bir kısım konu ve kavramların öğretimi için oldukça uygundur.

Yöntem, öğrencilerin kendilerinin ve akranlarının bilimsel görüşlerini bildirmelerine, yeni ve ortak anlayışlar üzerinde düşünmelerine, ifade biçimlerini tartışmalarına ve birbirlerine yansıtma olanağı sağlamaktadır. TGA yöntemi, bu açıdan öğrencilerin herhangi bir konudaki görüşlerini ortaya çıkarmak için kullanılan etkili bir araç, öğrenme için de öğrencilere sağlanan büyük bir fırsat olarak görülmektedir (Kearney, 2004; Akgün & Deryakulu, 2007; Bilen & Aydoğdu, 2012; Akgün, Tokur & Özkara, 2013). Ayrıca, yöntem olayın doğasını sorguladığı için geleneksel öğretim yöntemlerine göre çok daha güçlü bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır. TGA yöntemi üç aşamada uygulanmaktadır.

Tahmin aşaması; bu aşamada öğrencilere sonucunu henüz gözlemlenemedikleri bir deney ya da etkinlik hakkında bilgi verilir. Bu deney ya da etkinlik sonucunda neler olabileceğine ilişkin tahminde bulunmaları ve tahminlerinin nedenlerini yazmaları istenir. Tahmin aşamasında öğrencinin hâlihazırdaki bilgisini ortaya çıkarmak amaçlanmaktadır. Bu aşamada öğrencilerin arkadaşlarından etkilenmeden kendi tahminlerini yazmaları için öğretmen tarafından uygun sınıf ortamı oluşturulmalıdır. Aksi takdirde öğrenci tahminlerini ve olası nedenlerini yazmaktan çekinebilir. Bu düşüncenin yanı sıra öğrencinin kendi bilişsel yetersizliklerinden ve özgüven eksikliğinden kaynaklanan yanlış tahminde bulunma korkusu da öğrencilerin tahmin yapmama nedenleri arasında sayılabilir. Tahmin basamağı öğrencileri olaya ilişkin tahminler yürütmeye zorlayarak, onları üst düzey düşünmeye yöneltir. Ayrıca tahmin aşaması onların hayal güçlerini kullanmalarına ve burada yapılandırdıkları düşünceleri rahatça açıklamalarına olanak verir, öğrencilerin ifade etme

becerilerini geliştirir. Tüm bunlar dikkate alındığında tahmin aşamasının, yöntemin en önemli basamağı olduğu görülmektedir.

Gözlem aşaması; yöntemin ikinci aşamasında öğrencilere tahminde bulundukları deney ya da etkinlik yaptırılır ve sonucu gözlemlmeleri istenir. Doğru bir gözlem gerçekleştirebilmek için gerekirse olay tekrarlanabilir. Bu aşamada öğrencilerin tahminleri ile gözlemleri arasında zihinsel çelişki oluşması beklenir. Öğrenciler gözlem yaparken bir yandan gözlem sonuçlarını not etmelidir.

Açıklama aşaması; bu basamak, karmaşık, parçalı, dağınık düşünme ve yaklaşım tarzlarından anlaşılır bütünlere ulaşma aşamasıdır. Açıklama aşamasında, öğrencilerden tahminleri ile gözlem sonuçlarını karşılaştırmaları istenir. Tahmin ve gözlemleri arasında benzerlik ve farklılıklar olup olmadığı, varsa bunun nedenlerini açıklamaları beklenir. Bu aşamada öğrenciler, aslında tüm olayların, onların tahmin ettiği gibi gerçekleşmeyebileceğini ve olayların her zaman beklenen sonuçları vermeyebileceğini öğrenir. Açıklama aşaması öğrencilerin mevcut kavram yanlışlarını giderme ve tam öğrenmenin gerçekleşmesinde sürece katkı sağlayacaktır. Öğrenciler en çok bu aşamada zorlanmaktadır. Bunun nedenleri arasında tahmin ile gözlem arasında ilişki kurmada sorun yaşamaları, yorum yapma, temel ve üst düzey bilimsel süreç becerilerinin yetersiz olması sayılabilir.

TGA'nın tüm basamaklarındaki sorumluluklarını yerine getiren öğrencilerin, her bir basamakta verdikleri cevaplara ve açıklamalara bakarak konunun anlaşılıp anlaşılamadığı hakkında yorum yapılabilir. Bu yöntem dersin ihtiyaç duyulan bir bölümünde veya tüm konunun öğretiminde kullanılabileceği gibi, bireysel olarak ya da birkaç öğrenciden oluşan öğrenci gruplarına da uygulanabilmektedir. Yöntemin, özellikle tahminlerin nedenlerle birlikte açıklandığı bir basamağının varlığından dolayı, öğretim açısından oldukça etkili olduğu belirtilmektedir (Kearney & Treagust, 2001). Etkili bir öğretimde öğrenciler; kendi düşüncelerini açıklamaya teşvik edilmeli, düşüncelerine ters düşen durumlarla karşı karşıya bırakılmalı, olaylara alternatif açıklamalar getirmek için fikir üretmeli ve hipotez kurmaları sağlanmalıdır. Öğrencilerin edindikleri bilgilerin yararlarını anlamaları için, bunları çeşitli durumlarda kullanmalarına fırsat verilmelidir.

TGA yönteminin uygulanmasında hem motorik becerilerin ve hem de bilişsel becerilerin gelişimine katkı yanında, olay, olgu, konu ve kavramlara ilişkin düşüncelerini ifade etmek suretiyle her evredeki yanlış ve yanlış anlamaların daha açık biçimde tespitine olanak vermektedir. TGA yönteminin faydaları dikkate alındığında eğitim-öğretim sürecinde etkin kullanımının gerekli olduğu görülmektedir. Böylece deneysel etkinliklerle,

öğrencilerin günlük hayatlarında karşılaştıkları olgulara, olaylara veya problemlere bakış açıları değişecek, problem çözme sürecinde, fen derslerindeki kavramları öğrenme ve bilimsel yöntemi uygulamaya yönelik olumlu tutumlar geliştireceklerdir. Bu süreç öğrencilerin günlük yaşamlarıyla, fen kavramları arasındaki ilişkiyi görmelerini sağlayacak şekilde tasarlanabilirse, anlamlı öğrenmenin gerçekleşmesine olumlu etkileri olacaktır. Uygulamalarla desteklenmiş ve bir kısım sonuçların da nesnel bir şekilde öne çıkarılmış olması, hem kavram ve konuların anlam bütünlüğüne kavuşturulmasını ve hem de etkisinin kalıcı olmasını sağlayacaktır.

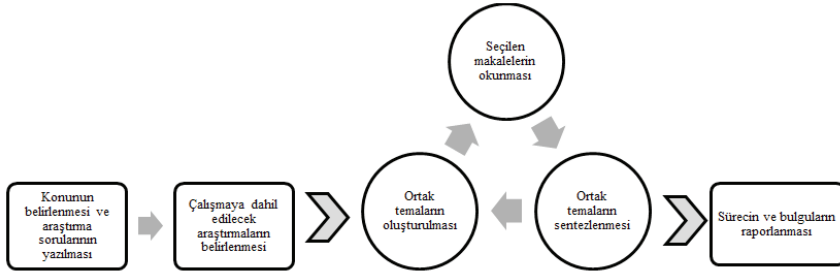
Yöntem

Bu çalışmada, nitel araştırma deseni olan “meta-sentez” araştırma yöntemi kullanılmıştır. Meta-sentez aynı konu üzerine yapılan araştırmaların tema veya ana şablonlar oluşturularak eleştirel bir bakış açısıyla sentezlenmesi ve yorumlanmasını içermektedir. Böylece, bütünsel bir bakış açısıyla araştırılan konunun genel yapısının derinlemesine anlaşılmasına ve öncelikli alanların belirlenmesine yardımcı olur. Bu yöntemde amaç kavramsal bir çözümleme yaparak araştırmaların benzer ve farklı yönlerini ortaya koymaktır (Çalık & Sözbilir, 2014; Sözbilir & Gül, 2015).

Verilerin Toplanması ve Analizi

Veri toplama aşamasında “TGA, tahmin-gözlem-açıklama, Prediction-Observe-Explanation, POE” anahtar kavramları kullanılarak Google Akademi, TÜBİTAK ULAKBİM DergiPark, Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi ve diğer veri tabanlarında literatür taraması yapılmıştır. Ulaşılan çalışmalardan fen eğitimi ile ilgili olan ve Türkiye’de 2017-2021 yılları arasında yayınlanan araştırmanın konusuna ve amacına uygun olabilecek 59 çalışma belirlenmiş bunların içinden 19 adet makale ve 14 adet yüksek lisans tezi araştırma kapsamına alınmıştır. Çalışmalar seçilirken araştırma modelinin, örneklem grubunun (ilkokul, ortaokul, lise, öğretmen ve öğretmen adayları), kullanılan tüm veri toplama araçlarının ve analiz yöntemlerinin açıkça belirtilmiş ve TGA yönteminin çeşitli değişkenler üzerindeki (akademik başarı, bilimsel süreç becerisi, tutum, kavram öğretimi, kavram yanılgısı, öğrenmelerin kalıcılığı vb.) etkilerinin incelenmiş olmasına dikkat edilmiştir.

Bu çalışmada incelenen çalışmalardan elde edilen bulgular, temaların amacına uygun olarak tablo ya da grafikler halinde sunulmuştur. Tablo ve grafiklerde istatistiki olarak yalnızca frekans ve % değerlere yer verilmiştir. Veri analiz sürecinde izlenen aşamalar sırasıyla Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Meta-sentez aşamaları (Polat & Ay, 2016).

Kodlama yöntemi

Araştırmaya dâhil edilen çalışmalarda ele alınan temalar, nitel ve nicel bulguların tamamı incelenerek belli bir kodlama ile sunulmuştur (Tablo 1). Araştırmada incelenen makaleler $M_1, M_2, M_3, \dots, M_{19}$, tezler ise $T_1, T_2, T_3, \dots, T_{14}$ (Ek 1) şeklinde kodlanmış ve araştırmada bu kodlar kullanılmıştır.

Tablo 1. İncelenen çalışmaların tema ve tema kodları

Temalar	Tema Kodları
Akademik Başarı	AB
Bilimsel Süreç Becerilerine Etkisi	BSB
Sorgulama Becerilerine Etkisi	SB
Problem Çözme Becerileri Üzerine Etkisi	PB
Üst Biliş Farkındalıklarına Etkisi	ÜF
Kavram Öğretimi	KÖ
Kavramsal Anlama Düzeyi	KAD
Kavram Yanılgısı Belirleme	KY
Bilgi Düzeyini Belirleme	BD
Bir Konuyu Açıklayabilme Düzeyini Belirleme	AD
Öğrenmelerin Kalıcılığı	ÖK
Metaforik Algı	MA
TGA'ya Göre Düzenlenmiş Etkinliklerin Etkililiğini Belirleme	EEB
TGA'ya Yönelik Katılımcı Görüşleri	KG
Kaygı Düzeyine Etkisi	KD
Davranışa Etkisi	D
Tutuma Etkisi	T

Araştırmaya dâhil edilen çalışmaların kodu, yazar/ları, yayın yılı, araştırma modeli, örneklem grubu, veri toplama araçları, analiz yöntemleri, konu alanı ve tema kodu Tablo 2’de sunulmuştur. Tablo 2’ye göre incelenen çalışmaların 14’ünün (%42,4) yüksek lisans tezi, 19’unun (%57,6) ise makale olduğu görülmektedir.

Tablo 2. İncelenen Çalışmalar ve Kodları

Çalışma Kodu	Yazar/lar	Yıl	Araştırma Modeli Örneklem Grubu Veri Toplama Aracı Analiz Yöntemleri	Konu alanı	Tema*
M ₁	Kasım, F. & Çobanoğlu, E. O.	2021	Karma 62 ortaokul öğrencisi Başarı testi Shapiro-Wilks, t-Testi, Betimsel analiz	Biyoloji	AB ÖK
M ₂	Güleşir, T., Aydemir, K., Kuş, S., Uzel, N., & Gül, A.	2020	Nitel 12 öğretmen adayı TGA çalışma yapırları Dereceli puanlama anahtarı (rubrik)	Biyoloji	BSB
M ₃	Yaşar, Ş. & Baran, M.	2020	Nitel 32 lise öğrencisi Başarı testi ve Tam yapılandırılmış görüşme formu t-Testi, ANOVA, ANCOVA, İçerik analizi	Fizik	AB
M ₄	Karadeniz, A., Koçak Altundağ, C. & Yücel, S.	2020	Karma 99 lise öğrencisi Bilişötesi Farkındalık Envanteri, MANOVA, t-Testi, İçerik analizi	Kimya	ÜF
M ₅	Öner Sünkür, M. & Arıbaş, S.	2020	Nitel 78 ortaokul öğrencisi Başarı testi, Bilimsel süreç beceri testi (BSB), Davranış ölçeği, Tutum ölçeği t-Testi, ANCOVA	Kimya	AB ÖK BSB D T
M ₆	Arslan, M. & Emre, İ.	2020	Nitel 32 ilkokul öğrencisi Başarı testi, BSB testi, Tutum ölçeği Shapiro-Wilk, t-Testi	Fen Bilimleri	AB BSB T
M ₇	Şendur, G., Otman, T., Kafadar, F., Aktaş, E. & Kaya, M.	2020	Nitel 52 öğretmen adayı Açık uçlu sorular, Çalışma yaprağı Mann Whitney-U	Kimya	AB
M ₈	Nalkıran, T. & Karamustafaoğlu, S.	2020	Nitel 6 lise öğrencisi Yarı yapılandırılmış görüşme formu, Başarı testi, Kavram haritası ve Kavram karikatürü Wilcoxon Signed Rank Test, İçerik analizi	Fizik	AB KÖ
M ₉	Kıryak, Z. & Özdelek, Z.	2019	Nitel 17 ortaokul öğrencisi Açık uçlu sorular, Çalışma yaprağı Betimsel analiz	Fen bilimleri	KAD

M ₁₀	Kıvılcım, H. & Öztuna Kaplan, A.	2019	Nitel 7 ortaokul öğrencisi TGA çalışma yapırları, Yarı yapılandırılmış görüşme formu Açık kodlama	Fen bilimleri	KAD
M ₁₁	Yenice, N., Alpak Tunç, G. & Candarlı, F.	2019	Nicel 47 ortaokul öğrencisi Problem çözme envanteri ANCOVA	Fen bilimleri	PB
M ₁₂	Sarı, S. & Şengül, Ü.	2018	Nicel 42 öğretmen adayı Başarı testi, TGA çalışma yapırları Mann-Whitney U	Kimya	AB
M ₁₃	Tereci, H., Karamustafaoğlu, O., & Sontay, G.	2018	Nitel 12 öğretmen Yarı yapılandırılmış görüşme formu İçerik analizi	Fizik	KG
M ₁₄	Köklükaya, A. N. & Güven Yıldırım, E.	2018	Nitel 63 öğretmen adayı TGA etkinlik formu Betimsel analiz	Fizik	AD
M ₁₅	Laçın-şimşek, C., Öztuna-Kaplan, A., Çorapçıgil, A. & Mısır, M.	2018	Nitel 33 öğretmen adayı TGA formları ve Sınıf içi tartışma kayıtları İçerik ve betimsel	Fizik	BD KY
M ₁₆	Uyanık, G.	2017	Nicel 64 ilkokul öğrencisi Başarı testi t-Testi	Kimya	AB ÖK
M ₁₇	Tiftikçi, H. İ., Yüksel, İ., Koç, A. & Sert Çıbık, A.	2017	Nicel 57 öğretmen adayı Kavram testi ANCOVA, t-Testi	Fizik	AB KY
M ₁₈	Kozcu Çakır, N., Güven, G. & Özdemir, O.	2017	Karma 58 öğretmen adayı TGA formu ve Kazanım Testi t-Testi, Betimsel analiz	Biyoloji	AB BSB
M ₁₉	Bozdemir, H., Ezberci Çevik, E., Candan Helvacı, S. & Kurnaz, M. A.	2017	Nicel 80 öğretmen adayı Gözlem formu Betimsel analiz	Fizik	KAD
T ₁	Barut, D.B.	2020	Nicel 35 öğretmen adayı Tutum ölçeği, Kaygı Ölçeği, BSB testi, Görüş formu, Mann Whitney-U, t-Testi	Fizik	BSB KD T
T ₂	Kasım, F.	2020	Karma 62 ortaokul öğrencisi Başarı testi Shapiro-Wilks, t-Testi, Betimsel analiz	Fen bilimleri	AB ÖK

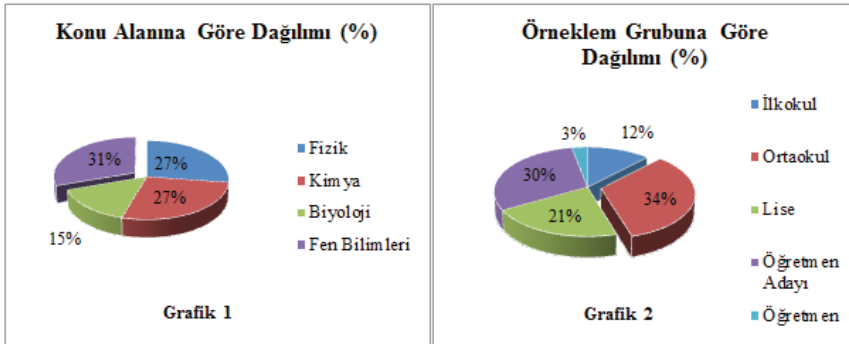
T ₃	Özsoy, S.	2020	Karma 100 lise öğrencisi TGA yöntemine uygun etkinlikler, Başarı testi, Tutum ölçeği, Yarı yapılandırılmış görüşme formu ANOVA, ANCOVA, MANOVA, t-Testi, Betimsel analiz	Kimya	AB T
T ₄	Tetik, S.	2019	Nicel 90 lise öğrencisi Başarı testi Shapiro-Wilk, t-Testi, ANOVA	Kimya	AB
T ₅	Baladın Duman, B.	2019	Nicel 36 ortaokul öğrencisi Başarı testi, TGA çalışma yapırları, Tutum ölçeği, Görüşme formları MannWhitney-U , Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi, t-Testi, Betimsel analiz	Biyoloji	AB ÖK EEB T
T ₆	Yaşar, Ş.	2019	Nicel 32 lise öğrencisi Başarı testi, Metaforik algı formu, Görüş formu ANOVA, ANCOVA, t- Testi, İçerik analizi	Fizik	AB MA
T ₇	Karadeniz, A.	2019	Karma 99 lise öğrencisi Bilişötesi farkındalık envanteri MANOVA, t-Testi, Betimsel analiz	Kimya	ÜF
T ₈	Özçelik, H.	2019	Nicel 63 ortaokul öğrencisi Sorgulama becerileri ölçeği, BSB ölçeği ve Kavram öğrenme testi ANOVA, Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi, t-Testi	Fen bilimleri	BSB SB KAD
T ₉	Erdem Özcan, G.	2019	Nicel 60 ilkokul öğrencisi Başarı testi, Tutum ölçeği t-Testi	Fen Bilimleri	AB T
T ₁₀	Çalış, D.	2019	Nicel 62 ortaokul öğrencisi Başarı testi, Davranış ölçeği, Tutum ölçeği t-Testi	Fen bilimleri	AB D T
T ₁₁	Bayçelebi, Z.	2019	Nicel 10 ilkokul öğrencisi Kelime ilişkilendirme testi, Kavramsal anlama testi ve TGA çalışma yapırları Wilcoxon İşaretli sıralar testi, Betimsel analiz	Fen bilimleri	KAD
T ₁₂	Yurtyapan, E.	2018	Karma 79 öğretmen adayı Başarı testi, Üst biliş etkinlik düzeyi ölçeği, Görüşme formu t-Testi, İçerik analizi	Biyoloji	AB ÜF

T ₁₃	Alp, F.	2017	Nicel 90 ortaokul öğrencisi Başarı testi, Sorgulayıcı öğrenme becerileri algısı ölçeği, Tutum ölçeği ANOVA, t-Testi	Fen bilimleriAB SB T
T ₁₄	Sarı, S.	2017	Nicel 42 öğretmen adayı Başarı testi, BSB testi, Çalışma yapıları Mann-Whitney-U, t-Testi	Kimya AB BSB

*AB: Akademik Başarı, BSB: Bilimsel Süreç Becerilerine Etkisi, SB: Sorgulama Becerilerine Etkisi, PB: Problem Çözme Becerileri Üzerine Etkisi, ÜF: Üst Biliş Farkındalıklarına Etkisi, KÖ: Kavram Öğretimi, KAD: Kavramsal Anlama Düzeyi, KY: Kavram Yanılgısı Belirleme, BD: Bilgi Düzeyini Belirleme, AD: Bir Konuyu Açıklayabilme Düzeyini Belirleme, ÖK: Öğrenmelerin Kalıcılığı, MA: Metaforik Algı, EEB: TGA'ya Göre Düzenlenmiş Etkinliklerin Etkililiğini Belirleme, KG: TGA'ya Yönelik Katılımcı Görüşleri, KD: Kaygı Düzeyine Etkisi, D: Davranışa Etkisi, T: Tutuma Etkisi

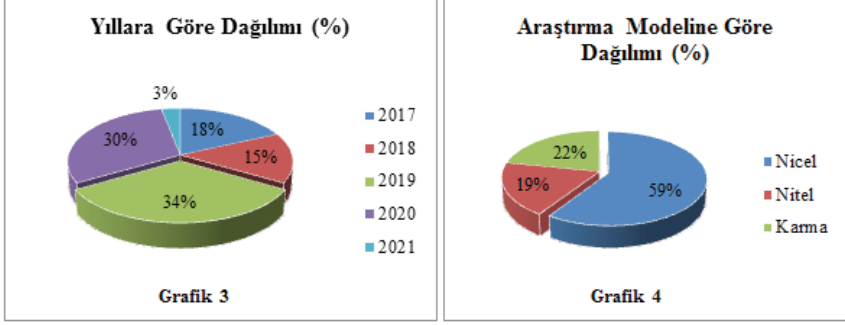
BULGULAR

Araştırmaya dâhil edilen çalışmaların konu alanına, örneklem grubuna, yıllara ve araştırma modeline göre dağılımı incelenmiş ve elde edilen veriler pasta grafiği şeklinde sunulmuştur. Buna göre çalışmaların %31'inin Fen Bilimleri, %27'sinin Fizik, %27'sinin Kimya ve %15'inin Biyoloji konu alanıyla ilgili olduğu görülmektedir (Grafik 1). Çalışmaların örneklem grubunun %34'ünün ortaokul öğrencisi, %30'unun öğretmen adayı, %21'inin lise öğrencisi, %12'sinin ilkokul öğrencisi ve %3'ünün de öğretmen olduğu tespit edilmiştir (Grafik 2).



Araştırmaya dâhil edilen çalışmaların %34'ünün 2019, %30'unun 2020, %18'inin 2017, %15'inin 2018 ve %3'ünün de 2021 yılında yayınlandığı belirlenmiştir (Grafik 3). Çalışmaların araştırma modeline göre dağılımı incelendiğinde %59'unun nicel, %22'sinin karma ve %19'unun nitel olduğu görülmektedir (Grafik 4). Nitel araştırma modelindeki çalışmaların 4'ünde (M_{10} , M_{13} , M_{14} , M_{15}) fenomenoloji (olgu bilim) deseni, 2'sinde (M_2 , M_9) durum çalışması (case study), nicel

araştırma modelindeki çalışmaların 16'sında (M_3 , M_6 , M_7 , M_{11} , M_{12} , M_{16} , M_{17} , M_{19} , T_1 , T_4 , T_5 , T_8 , T_9 , T_{10} , T_{13} , T_{14}) yarı deneysel model, 4'ünde (M_5 , M_8 , T_6 , T_{11}) gerçek deneysel model kullanılmıştır.



Araştırmaya dâhil edilen çalışmalarda kullanılan analiz yöntemleri incelendiğinde %30,4 t-Testi, %15,9 Betimsel analiz, %10,1 İçerik analizi, %8,7 ANOVA, %8,7 ANCOVA kullanıldığı görülmektedir. Çalışmalarda kullanılan diğer analiz yöntemleri Tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. İncelenen Çalışmalarda Kullanılan Analiz Yöntemleri

Analiz Yöntemi	f	%
t-Testi	21	30,4
Betimsel	11	15,9
İçerik	7	10,1
ANOVA	6	8,7
ANCOVA	6	8,7
Mann Whitney-U	5	7,2
Wilcoxon	4	5,8
Shapiro-Wilk	4	5,8
MANOVA	3	4,3
Diğer	2	2,9

Araştırmaya dâhil edilen çalışmalarda kullanılan veri toplama araçları incelendiğinde %25 başarı testi, %15,3 TGA çalışma yaprağı, %13,9 görüşme formu, %11,1 tutum ölçeği, %6,9 bilimsel süreç beceri testi kullanıldığı görülmektedir. Çalışmalarda kullanılan diğer veri toplama araçları Tablo 4'te sunulmuştur.

Tablo 4. İncelenen Çalışmalarda Kullanılan Veri Toplama Araçları

Veri Toplama Araçları	f	%
Başarı Testi	18	25
TGA Çalışma Yaprağı	11	15,3
Görüşme Formu	10	13,9
Tutum Ölçeği	8	11,1
Bilimsel Süreç Beceri Testi	5	6,9

Kavramsal Anlama Testi	3	4,2
Envanter	3	4,2
Açık Uçlu Sorular	2	2,8
Davranış Ölçeği	2	2,8
Kelime İlişkilendirme Testi	1	1,4
Kavram Haritası	1	1,4
Kavram Karikatürü	1	1,4
Video-ses Kaydı	1	1,4
Gözlem Formu	1	1,4
Diğer Ölçekler	5	6,9

Meta-sentez yönteminin basamaklarına uygun olarak incelenen araştırmaların benzer ve farklı yönlerini ortaya koyan anahtar ifadeler ve kavramlar Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. *Temalara İlişkin Anahtar İfadeler ve Kavramlar*

Tema	Anahtar İfadeler ve Kavramlar	f	%
Akademik Başarı	TGA yönteminin öğrencilerin akademik başarıları üzerinde olumlu etkisi vardır.	19	27,5
	TGA yönteminin öğrencilerin akademik başarıları üzerinde önemli bir etkisi görülmemiştir.	1	1,5
Tutuma Etkisi	TGA yönteminin öğrencilerin tutumu üzerine olumlu etkisi vardır.	6	8,7
	TGA yönteminin öğrencilerin tutumu üzerinde önemli bir etkisi görülmemiştir.	1	1,5
	TGA yöntemi öğrencilerin tutumunu değiştirmemiştir.	1	1,5
Bilimsel Süreç Becerilerine Etkisi	TGA yönteminin öğrencilerin bilimsel süreç becerileri üzerinde olumlu etkisi vardır.	6	8,7
	TGA yönteminin öğrencilerin tahmin ve gözlem bilimsel süreç becerilerinin gelişiminde önemli bir etkisinin olmadığı ancak açıklama bilimsel süreç becerilerini geliştirdiği görülmüştür.	1	1,5
Öğrenmelerin Kalıcılığı	TGA yönteminin öğrenmelerin kalıcılığı üzerinde olumlu etkisi vardır.	4	5,8
	TGA yönteminin öğrenmelerin kalıcılığı üzerinde önemli bir etkisi görülmemiştir.	1	1,5
Kavramsal Anlama Düzeyi	TGA yönteminin öğrencilerin kavramsal anlama düzeyleri üzerinde olumlu etkisi vardır.	4	5,8
	TGA yöntemi öğrencilerin bazı bilgilere ilişkin kavramalarını geliştirirken bazalarına ilişkin belirgin bir değişim oluşturmamıştır.	1	1,5
Üst Biliş Farkındalıklarına Etkisi	TGA yönteminin öğrencilerin üst bilişsel farkındalıklarını artırdığı görülmüştür.	3	4,3
Kavram Yanılgısı Belirleme/Giderme	TGA yönteminin öğrencilerin kavram yanılgılarını belirlemede etkili olduğu görülmüştür.	5	7,2
	TGA yönteminin öğrencilerin kavram yanılgılarını gidermede etkili olduğu görülmüştür.	3	4,3

Sorgulama Becerilerine Etkisi	TGA yönteminin öğrencilerin sorgulama becerilerini olumlu yönde etkilediği görülmüştür.	2	2,9
Davranışa Etkisi	TGA yönteminin öğrencilerin akademik risk alma davranışları üzerinde olumlu etkisi vardır.	1	1,5
	TGA yönteminin öğrencilerin davranışları üzerinde olumlu etkisi vardır.	1	1,5
Kavram Öğretimi	TGA yönteminin kavram öğretimi üzerinde olumlu etkisi vardır.	1	1,5
Problem Çözme Becerileri Üzerine Etkisi	TGA yönteminin öğrencilerin problem çözme becerileri üzerinde olumlu etkisi vardır.	1	1,5
TGA'ya Yönelik Katılımcı Görüşleri	TGA yönteminin faydalı olduğu düşünülmektedir.	1	1,5
	Öğretmen adayları TGA yöntemini ileride meslek hayatlarında kullanmak istediklerini belirtmiştir.	1	1,5
Bir Konuyu Açıklayabilme Düzeyini Belirleme	TGA yönteminin öğrencilerin bir konu ya da kavramı açıklayabilmeleri üzerinde olumlu etkisi vardır.	1	1,5
Bilgi Düzeyini Belirleme	TGA yönteminin öğrencilerin bilgi eksikliklerini belirlemede olumlu etkisi vardır.	1	1,5
Kaygı Düzeyine Etkisi	TGA yönteminin öğrencilerin kaygılarını gidermede olumlu etkisi vardır.	1	1,5
Metaforik Algı	TGA yöntemi öğrencilerde olumlu metaforik algı oluşturmıştır.	1	1,5
TGA'ya Göre Düzenlenmiş Etkinliklerin Etkililiğini Belirleme	Öğrenciler TGA destekli çalışma yapraklarını eğlenceli bulmuşlardır.	1	1,5

TGA yöntemiyle ilgili yapılan çalışmalarda genellikle yöntemin akademik başarı üzerindeki etkisine ($M_1, M_3, M_5, M_6, M_7, M_8, M_{12}, M_{16}, M_{17}, M_{18}, T_2, T_3, T_4, T_5, T_6, T_9, T_{10}, T_{12}, T_{13}, T_{14}$) bakılmış ve çalışmaların %27,5'inde yöntemin öğrenci başarısı üzerinde olumlu etkisinin olduğu belirlenmiştir.

İncelenen çalışmaların %8,7'sinde TGA yönteminin öğrencilerin fen dersine yönelik tutumlarını olumlu yönde etkilediği ($M_5, T_1, T_3, T_9, T_{10}, T_{13}$), %1,5'inde tutumlarını değiştirmede (M_6) görülmektedir.

TGA yöntemiyle ilgili yapılan çalışmaların %8,7'sinde, yöntemin öğrencilerin bilimsel süreç becerileri üzerinde olumlu etkileri olduğu ($M_5, M_6, M_{18}, T_1, T_8, T_{14}$) belirlenmiştir. M_2 kodlu çalışmada, yöntemin öğrencilerin bilimsel süreç becerilerinden tahmin ve gözlem becerilerinin gelişiminde önemli bir etkisinin olmadığı ancak açıklama becerilerini geliştirdiği görülmektedir.

İncelenen çalışmaların %5,8'inde TGA yönteminin öğrenmelerin kalıcılığı üzerinde olumlu etkilerinin (M_1, M_5, M_{16}, T_2) olduğu, %1,5'inde ise önemli bir etkisinin olmadığı (T_5) belirlenmiştir.

TGA yönteminin öğrencilerin üst bilişsel farkındalıklarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmaların tamamında (%4,3) yöntemin olumlu etkilerinin olduğu görülmektedir (M_4 , T_7 , T_{12}).

Tahmin basamağında öğrencilerin çok azının bilimsel bilgi içeren cümleler kurduğu, büyük çoğunluğunun ise yüzeysel bilgi içeren cümleler ile kavram yanılgısı içeren cümleler kurduğu görülmüştür. Yapılan analizlerde TGA yönteminin öğrencilerdeki mevcut kavram yanılgılarını tespit etmede (M_2 , M_{10} , M_{14} , M_{15}) ve gidermede (M_8 , M_{17} , T_{11}) etkili olduğu belirlenmiştir.

İncelenen çalışmalarda TGA yönteminin öğrencilerin akademik risk alma (M_5) ve psiko-motor davranışları üzerinde (T_{10}) olumlu etkilerinin olduğu görülmektedir.

Tablo 5'e göre TGA yönteminin; öğrencilerin sorgulama (T_8) ve problem çözme becerilerine (M_{11}), kavram öğretime (M_8), kaygı düzeyine (T_1) etkisinin olumlu yönde olduğu, bir konuyu açıklayabilme (T_1) ve bilgi düzeyini belirlemede (M_{15}), olumlu metaforik algı (T_6) geliştirmede etkili olduğu, TGA'nın özellikle fizik derslerini sıkıcı olmaktan çıkardığı, öğrencilerde merak ve ilgi uyandırdığı (M_8), TGA'ya göre düzenlenmiş etkinliklerin öğrenciler tarafından eğlenceli bulunduğu (T_5) belirlenmiştir.

Sonuç ve Öneriler

Yapılan meta-sentez çalışması, fen eğitiminde TGA yöntemi üzerine yapılacak araştırmalar için yol gösterici bir çalışma olarak görülmektedir. Bu amaç doğrultusunda 2017-2021 yılları arasında Türkiye'de fen eğitiminde TGA yöntemiyle ilgili yapılan 33 çalışma incelenmiştir.

İncelenen çalışmalara bakıldığında özellikle 2019 yılında TGA yönteminin kullanıldığı araştırma sayısının fazla olması, yonteme olan eğilimin 2019 yılında arttığını göstermektedir. Örneklem grubuna daha çok ortaokul öğrencilerinin dâhil edilmesine bağlı olarak hazırlanan çalışma yapılarının da fen bilimleri konu alanıyla ilgili olduğu görülmektedir. 2017-2021 yılları arasında incelenen çalışmalarda Fen Bilimlerinden sonra genellikle Fizik ve Kimya ağırlıklı çalışmaların olması ve Biyoloji alanında henüz bu yöntemin kullanımının yaygın olmaması bir eksiklik olarak göze çarpmaktadır. Fen eğitiminde temel kavramların verildiği ve anlamlı öğrenmenin mutlak gerekli olduğu ilkökul seviyesinde ve yine öğrencilerine uygulama yaptıırma imkânı olan öğretmenlerle yeterince çalışılmamış olması da önemli bir eksiklik olarak görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda nicel araştırma yöntemlerinin sıklıkla tercih edildiği ve analiz yöntemi olarak da en çok t-testinin kullanıldığı belirlenmiştir. Nitel yöntem, uygulama sahasını daha bütüncül bir şekilde ortaya koymasına rağmen, uygulayıcılara sağladığı kolaylıklar, özellikle

ölçek geliştirme çalışmalarında hedeflenen örneklem büyüklüğüne ulaşmak ve daha objektif veriler elde etmek için nicel yöntemin tercih edildiği düşünülmektedir. Yine çalışmalarda daha çok akademik başarının belirlenmesinin hedeflendiği dolayısıyla da veri toplama araçları içerisinde en çok başarı testinin kullanıldığı görülmektedir. Her iki grup çalışma da (makale ve tez) göstermektedir ki, fen eğitiminde oldukça önemli olan bilimsel süreç becerileri gelişim durumu, ilgili akademik çalışmalarda henüz yeterince konu olmamıştır.

Temalara ilişkin oluşturulan anahtar ifadeler ve kavramlar incelendiğinde TGA yönteminin öğrencilerin akademik başarı, bilimsel süreç becerileri, tutumları, öğrenmelerin kalıcılığı, kavramsal anlama düzeyi, üst biliş farkındalıkları, sorgulama ve problem çözme becerileri, kavram öğretimi üzerinde, bir konuyu açıklayabilme ve bilgi düzeyini belirlemede olumlu etkiye sahip olduğu sonuçlarına ulaşılmıştır. Ayrıca TGA yönteminin öğrencilerin ön bilgilerini kullandığı tahmin aşamasında ortaya çıkan kavram yanlışlarını belirleme ve gidermede etkili olduğu vurgulanmıştır.

İncelenen çalışmalarda örneklem gruplarının yönetime yönelik görüşleri alınmış ve TGA yönteminin faydalı olduğu, öğrencilerin derse aktif katılımını sağladığı, bu tür etkinliklerle dersi daha istekli işledikleri, deneylerin daha iyi anlaşılmasını sağladığı ve mesleğe başladıklarında bu yöntemi etkin biçimde kullanacaklarını ifade ettikleri belirlenmiştir. Bu noktada TGA yöntemine göre düzenlenmiş etkinlik ve uygulamaların eğitim-öğretim faaliyetleri içerisinde sıklıkla kullanılması gerektiği önemli görülmektedir.

Araştırmaya dâhil edilen çalışmalar incelendiğinde, TGA yönteminin 5E modeli ve geleneksel yöntemlerle kıyaslandığı ancak bu tür araştırmaların sayıca daha az olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, TGA ile birleştirilmiş örnek olay yönteminin, yansıtıcı düşünmeye dayalı etkinliklerin, proje tabanlı yöntemin ve oyunlarla, kavram ağları, kavram karikatürü ve modelleme destekli TGA uygulamalarının yer aldığı araştırmalara olan eğilimin artmış olması olumlu bir gelişme olarak görülmektedir.

Kuramsal ders işleyişi yerine uygulamalı olmasının öğrenmeye katkısı, yaparak yaşayarak öğrenme ve bireysel katılım sağlama, öğrencideki değişimi somut olarak inceleme fırsatı sunması, bilişsel yönden eksiklerin tespit edilmesi, verimli bir öğrenme ortamı sağlama, tahminle gözlem sonuçlarının yorumlanarak doğru ve yanlış bilinenleri karşılaştırma olanağı sunma ve tahminle açıklamaların karşılaştırılması yoluyla etkili öğrenmeyi sağlama gibi öğretimsel boyutları dikkate alındığında, TGA yönteminin diğer yöntem ve tekniklerle bütünlük bir şekilde her öğretim düzeyinde uygulanması önerilmektedir.

Kaynaklar

- Akgün, O. E. & Deryakulu, D. (2007). Düzeltici metin ve tahmin-gözlem-açıklama stratejilerinin öğrencilerin bilişsel çelişki düzeyleri ve kavramsal değişimleri üzerindeki etkisi. *Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 40(1),17-40.
- Akgün, A., Tokur, F. & Özkara, D. (2013). TGA stratejisinin basınç konusunun öğretimine olan etkisinin incelenmesi. *Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 2(2), 348-369.
- Bilen, K. & Aydoğdu, M. (2012). TGA (tahmin et-gözle-açıkla) stratejisine dayalı laboratuvar uygulamalarının öğrencilerin bilimsel süreç becerileri ve bilimin doğası hakkındaki düşünceleri üzerine etkisi. *Gaziantep Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi* 11(1),49-69.
- Çalık, M. & Sözbilir, M. (2014). İçerik analizinin parametreleri. *Eğitim ve Bilim*, 39 (174), 33-38.
- Kearney, M. (2004). Classroom use of multimedia supported predict-observe-explain tasks in a social constructivist learning environment. *Research in Science Education*, 34(4), 427-453.
- Kearney M. & Treagust, D. F. (2001). Constructivism as a referent in the design and development of a computer program using interactive digital video to enhance learning in physics. *Australian Journal of Educational Technology*, 17(1), 64-79.
- Özkara, D. & Aydın, M. (2010). İlköğretim öğrencilerinin “şimşek”, “yıldırım” ve “gök gürültüsü” kavramları ile ilgili yanlışlarının ve bilgi eksikliklerinin incelenmesi. IX. Ulusal Fen Bilimleri ve Matematik Eğitimi Kongresi, s. 175, İzmir.
- Polat, S. & Ay, O. (2016). Meta-sentez: Kavramsal bir çözümleme. Eğitimde Nitel Araştırmalar Dergisi- *Journal of Qualitative Research in Education*, 4(1), 52-64.
- Sözbilir, M. & Gül, Ş. (2015). Thematic content analysis of scale development studies published in the field of science and mathematics education. *Education And Science*, 40(178), 85-102.
- Tekin, S. (2008). Kimya laboratuvarının etkililiğinin aksiyon araştırması yaklaşımıyla geliştirilmesi. *Kastamonu Eğitim Fakültesi*, 16 (2), 567-576.
- Yıldırım, O., Nakiboğlu, C. & Sinan, O. (2004). Fen bilgisi öğretmen adaylarının difüzyon ile ilgili kavram yanlışları. *BAU-Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6, (1), 79-99.

Ek 1. Araştırma Kapsamında İncelenen Çalışmalar

- M1. Kasım, F. & Çobanoğlu, E. O. (2021). The effects of outdoor educational activities supported by prediction - observation - explanation in the teaching of the living world unit on students' academic achievement and learning retention. *International Journal of Eurasian Education and Culture* , 6(12), 461-500.
- M2. Güleşir, T., Aydemir, K., Kuş, S., Uzel, N.& Gül, A. (2020). Fizyoloji deneyleri kapsamında alternatif bir değerlendirme yöntemi: TGA çalışma yapıları. *e-Kafkas Journal of Educational Research*, 7 (2), 84-99
- M3. Yaşar, Ş , & Baran, M. (2020). Oyunlarla desteklenmiş TGA (Tahmin Et-Gözle-Açıkla) yöntemine dayalı etkinliklerin 10.sınıf öğrencilerinin fizik başarısına etkisi. *Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Eğitim Bilimleri Dergisi*, 52 (52), 420-441 DOI: 10.15285/maruaebd.651074
- M4. Karadeniz, A., Koçak Altundağ, C. & Yücel, S. (2020). Tahmin et - gözle - açıkla yöntemi destekli etkinliklerin lise öğrencilerinin üst biliş farkındalıklarına etkisinin araştırılması. *Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 20 (4) , 1881-1898 . DOI: 10.17240/aibuefd.2020.20.58249-648859
- M5. Öner Sünkür, M. & Arıbaş, S. (2020). Fen ve teknoloji/fen bilimleri dersinde tahmin et-gözle-açıkla yöntemi ile desteklenmiş yansıtıcı düşünmeye dayalı etkinlik uygulamalarının başarı, kalıcılık, madde ve değişim öğrenme alanına yönelik tutum, bilimsel süreç becerileri ve akademik risk alma davranışlarına etkisi. *Elektronik Sosyal Bilimler Dergisi*, 19(76), 1789-1809.
- M6. Arslan, M. & Emre, İ. (2020). The effect of predict-observe-explain strategy on students' academic achievement, scientific process skills and attitude towards science. *İnönü Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7 (14) , 79-89. DOI: 10.29129/inujgse.786351
- M7. Şendur, G., Otman, T., Kafadar, F., Aktaş, E. & Kaya, M. (2020). Modelleme destekli TaTGA etkinliklerinin organik kimya dersindeki etkinliğinin incelenmesi: Rezonans konusu. *Fen Matematik Girişimcilik ve Teknoloji Eğitimi Dergisi*, 3 (3) , 197-218. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/fmgtd/issue/60204/787053>
- M8. Nalkıran, T. & Karamustafaoğlu, S. (2020). Tahmin-gözlem-açıklama (POE) yöntemi ve “iş, enerji, güç” kavramlarının öğretiminde etkisi. *International Journal of Assessment Tools in Education*, 7 (3), 497-521.
- M9. Kırıyak, Z. & Özdilek, Z. (2019). Tahmin-açıklama-gözlem-açıklama yönteminin sekizinci sınıf öğrencilerinin asit yağmurları konusundaki kavramsal anlama düzeylerine etkisi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 51, 216-240

- M10. Kırılcım, H. & Öztuna Kaplan, A. (2019). 5. sınıf öğrencileriyle yüzme-batma üzerine bir tahmin-gözlem-açıklama çalışması. *Anadolu Öğretmen Dergisi*, 3(1), 1-15. DOI: 10.35346/aod.553335
- M11. Yenice, N., Alpak Tunç, G. & Candarlı, F. (2019). Fen eğitiminde TGA uygulamasının 6. sınıf öğrencilerinin problem çözme becerileri üzerindeki etkisinin incelenmesi. *İnönü Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6 (11) , 16-27, DOI: 10.29129/inujgse.455848
- M12. Sarı, S. & Şengül, Ü. (2018). Tahmin-gözlem-açıklama ile birleştirilmiş örnek olay yönteminin genel kimya deneylerinde kullanılmasının fen bilgisi öğretmen adaylarının akademik başarısına etkisi. *KSBD*, 10 (18), 175-194
- M13. Tereci, H., Karamustafaoğlu, O. & Sontay, G. (2018). Manyetizma konusunda tahmin-gözlem-açıklama stratejisine dayalı alternatif bir deney etkinliği ve fizik öğretmenlerinin görüşleri. *Gazi Eğitim Bilimleri Dergisi*, 4(1), 1-20.
- M14. Köklükaya, A. N. & Güven Yıldırım, E. (2018). Fen bilgisi öğretmen adaylarının suyun genleşmesi konusunu tahmin-gözlem-açıklama yöntemi ile açıklayabilme Düzeyleri. *Journal of Multidisciplinary Studies in Education*, 2(1), 16-27
- M15. Laçin-Şimşek, C., Öztuna-Kaplan, A., Çorapçıgil, A. & Mısır, M. (2018). Fen bilgisi öğretmenliği 3. sınıf öğrencilerinin basınç-kaynama noktası ilişkisine yönelik düşünceleri: Bir TGA Uygulaması. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, 26 (5) , 1679-1690, DOI: 10.24106/kefdergi.2204
- M16. Uyanık, G. (2017). Fen bilimleri öğretiminde tahmin-gözlem-açıklama yönteminin akademik başarı ve kalıcılığa etkisi. *Uluslararası Sosyal Bilimler Eğitimi Dergisi*, 3 (1), 1-13
- M17. Tiftikçi, H. İ., Yüksel, İ., Koç, A. & Sert Çıbık, A. (2017). Tahmin gözlem açıklama yöntemine dayalı laboratuvar uygulamalarının elektrik akımı konusundaki kavram yanlışlarının giderilmesine ve başarıya etkisi. *Ahi Evran Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 18, Özel Sayı, 19-29
- M18. Kozcu Çakır, N., Güven, G. & Özdemir, O. (2017). TGA stratejisinin genel biyoloji laboratuvar uygulamalarında etkililiğine ilişkin bir araştırma. *Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 17 (4), 2014-2035, DOI: 10.17240/aibuefd.2017.17.32772-363988
- M19. Bozdemir, H., Ezberci Çevik, E., Candan Helvacı, S. & Kurnaz, M. A. (2017). TGA (Tahmin Et-Gözle-Açıkla) yöntemine dayalı teleskop gözlemlerinin fen bilgisi öğretmen adaylarının bazı astronomi kavramlarını anlamalarına etkisi. *International Journal Of Eurasia Social Sciences*, 8 (28), CLXXXVIII-CCVI
- T1. Barut, D.B. (20209). *Kavram ağlarıyla desteklenmiş TGA etkinliklerinin fen bilgisi öğretmen adaylarının laboratuvar tutumlarına, kaygılarına ve*

bilimsel süreç becerilerine etkisi. Yüksek lisans tezi. Gazi Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- T2. Kasım, F. (2020). *Canlılar dünyası ünitesinin öğretiminde tahmin-gözlem-açıklama ile desteklenmiş sınıf dışı eğitim etkinliklerinin öğrencilerin akademik başarılarına ve öğrenmenin kalıcılığına etkisi.* Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Samsun.
- T3. Özsoy, S. (2020). *Tahmin et-gözle-açıkla (TGA) yöntemiyle desteklenen etkinliklerin lise 10. sınıf öğrencilerinin kimyaya yönelik tutumları ve başarıları üzerine etkisi.* Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- T4. Tetik, S. (2019). *9. sınıf kimya dersi sıvılar konusunun 5e modeli ve TGA tekniği (tahmin-gözlem-açıklama) ile öğretiminin öğrencilerin başarısına etkisi.* Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- T5. Baladın Duman, B. (2019). *Besin içerikleri ve sindirim sistemi konularında tga yöntemine dayalı olarak geliştirilen etkinliklerin değerlendirilmesi.* Yüksek Lisans Tezi. Trabzon Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Trabzon.
- T6. Yaşar, Ş. (2019). *Oyunlarla desteklenmiş TGA (tahmin et-gözle - açıkla) yöntemine dayalı etkinliklerin 10.sınıf öğrencilerinin fizik (basınç ve kaldırma kuvveti ünitesi) başarısına ve fiziğe yönelik metaforik algılarına etkisi.* Yüksek Lisans Tezi. Dicle Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- T7. Karadeniz, A. (2019). *TGA (tahmin et-gözle-açıkla) yöntemi destekli etkinliklerin lise öğrencilerinin üst biliş farkındalıkları üzerine etkisinin araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- T8. Özçelik, H. (2019). *Kavram karikatürleri ile desteklenen tahmin et-gözle-açıkla (TGA) yönteminin ortaokul öğrencilerinin sorgulama becerileri, bilimsel süreç becerileri ve kavram öğrenmelerine etkisi.* Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- T9. Erdem Özcan, G. (2019). *İlkokul dördüncü sınıftan bilimleri dersinde tahmin gözlem açıklama stratejisine dayalı öğretimin akademik başarı tutum ve kalıcılığa etkisi.* Yüksek Lisans Tezi. Kastamonu Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Kastamonu.
- T10. Çalış, D. (2019). *Tahmin gözlem açıklama destekli proje tabanlı çevre eğitiminin ortaokul 8. sınıf öğrencilerinin çevreye yönelik tutum, davranış ve başarısına etkisi.* Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- T11. Bayçelebi, Z. (2019). *Sağlıklı besinler konusuna yönelik tahmin-gözlem-açıklama çalışma yapılarının geliştirilmesi ve uygulanması.* Yüksek Lisans Tezi. Trabzon Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Trabzon.

- T12. Yurtyapan, E. (2018). *Fen bilgisi öğretmen adaylarının biyoloji konularına yönelik kavram karikatürü destekli tahmin-gözlem-açıklama uygulamalarının başarı ve üst biliş becerilerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Amasya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Amasya.
- T13. Alp, F. (2017). *Sekizinci sınıf “yaşamımızdaki elektrik” ünitesinin tahmin-gözlem-açıklama tekniği ile öğretilmesinin, öğrencilerin bilişsel ve duyuşsal davranışlarına etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- T14. Sarı, S. (2017). *Tahmin-gözlem-açıklama ile birleştirilmiş örnek olay yönteminin genel kimya laboratuvar deneylerinde kullanılmasının fen bilgisi öğretmen adaylarının akademik başarısı ve bilimsel süreç becerilerine etkisinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Giresun.

Bölüm 12

LOKAL POLİNOMAL REGRESYON (LPR) VE DÜZGÜNLEŞTİRME

H.Nazan ÇAĞLAR¹

¹ Dr.Öğr.Üyesi , İstanbul Kültür Üniversitesi,İİBF,ncaglar@iku.edu.tr, ORCID No: 0000-0003-2152-8747

1. Giriş

İstatistikte verilerin modellenmesinde regresyon analizi önemli bir yere sahiptir. Verilere ait regresyon modelinin bulunmasında bir çok matematiksel fonksiyon kullanılır. Uygulamalı istatistikte düzgünleştirilmiş fonksiyonların elde edilmesi önemli bir alandır. Bu amaçla kullanılan bir çok popüler yöntem vardır. Bunların en çok kullanılanları smoothing spline, kernel smoothers ve lokal polinomal regresyondur (LPR) . Lokal polinomlar , parametrik olmayan regresyon modelleri için de önemli bir yere sahiptir. Uygun optimal ağırlık fonksiyonlarının seçimiyle smoothing işlemlerinde kullanılır. (Seifert & Gasser , 1996) Lokal polinomların band seçimi üzerine yapılmış bir çok çalışma vardır . (Linton et al., 2001) .

En iyi bilinen parametrik olmayan regresyon tahminçileri Nadarya-Watson ve Gasser-Muller Kernel tahminçileri, Smoothing spline ve Lokal polinomlardır. Bu polinomların özellikleri (Simonoff ,1996) ayrıntılı incelenmektedir. Zaman serileri, Çapraz tabloların (Contingency table) düzgünleştirme işlemlerinde Lokal polinomlar kullanılmaktadır. Ayrıca matematik ,fizik, biyoloji gibi bilimsel alanlarda özellikle diferansiyel denklemlerin sayısal çözümlerinde LPR yöntemi etkin olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada LPR nin etkinliği farklı alanlardan alınan örnekler üzerinde incelenmiştir.

2. LOKAL POLİNOMAL REGRESYON

$(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)$ gözlemleri için aşağıdaki fonksiyonel modeli düşünelim.

$$y_i = f(x_i) + \varepsilon_i$$

Burada x_i bağımsız değişken, y_i ler bağımlı değişken ve ε_i hata terimidir.

Taylor seri açılım yaklaşımı ile x_i noktası civarında $f(x)$ fonksiyonunu seriye açalım,

$$f(x_i) = f(x) + f'(x)(x_i - x) + \dots + \frac{f''(x)(x_i - x)^2}{2!}$$

$f(x)$ fonksiyonunun bulunması lokal polinomal regresyon olarak bilinir. Kernel yaklaşımı kullanılarak aşağıdaki denklem en küçük kareler optimizasyonu ile çözülür.

$$\min(\beta) \sum_{i=1}^n [y_i - \beta_0 - \beta_1(x_i - x) - \beta_2(x_i - x)^2 - \dots - \beta_p(x_i - x)^p]^2 K\left(\frac{x_i - x}{h}\right) \quad (1)$$

Lokal polinomların β_j tahmincileri yukarıda verilen toplamın minimize edilmesi sonucunda elde edilir.

$\beta = (\beta_0, \dots, \beta_p)'$ tahmin edilecek parametrelerdir.

x_1 : 0 ile 1 arasında bir nokta ,

K : negatif olmayan ağırlık fonksiyonu (Kernel Function)

h : band genişliği

x_0 : Lokal polinom içinde herhangi bir nokta (orta nokta)

$$X = \begin{bmatrix} 1 & (x_1 - x_1) & \dots & (x_1 - x_1)^p \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & (x_n - x_1) & \dots & (x_n - x_1)^p \end{bmatrix}, \quad Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix}, \quad W = \text{diag} \left(K \left(\frac{x_i - x_0}{h} \right) \right)$$

$$\hat{\beta} = (X' W X)^{-1} X' W Y \quad (2)$$

Olarak bulunur. Sonuç olarak Lokal polinomal yaklaşımda y tahmin değerleri

$$\hat{y} = \sum_{j=0}^p \hat{\beta}_j (x - x_1)^j \quad (3)$$

formülünden hesaplanır.

Kernel fonksiyonu (Yang & Yue , Nov.2014) olarak Tablo1 de verilen fonksiyonlar seçilebilir. Çalışmalarda Epanechnikov Kernel fonksiyonu kullanılmıştır. Polinomun derecesi tahminler için önemli bir

faktördür. Polinom derecesi 3 den büyük olduğunda tahminlerdeki yanlışlık azalmaktadır. Tek dereceden polinomlar daha etkin sonuçlar vermektedir. Kernel seçimi ve bant genişlikleri (h) de tahminler için bir diğer faktördür.

Tablo 1. Kernel Fonksiyonları

Kernel	K(t)
Epanechnikov	$\frac{3}{4} \left(1 - \frac{1}{5} t^2\right) / \sqrt{5}, \quad t < \sqrt{5}$ 0 diğer durumlar
Biweight	$\begin{cases} \frac{15}{16} (1 - t^2)^2, & t < 1 \\ 0 & \text{diğer durumlar} \end{cases}$
Triangular	$\begin{cases} 1 - t , & t < 1 \\ 0 & \text{diğer durumlar} \end{cases}$
Gaussian	$\frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-(1/2)t^2}$
Rectangular	$\begin{cases} 1/2, & t < 1 \\ 0 & \text{diğer durumlar} \end{cases}$

Problem 2.1. Aşağıdaki gözlem değerleri için farklı polinom derecelerinde LPR modeli kurularak hata kareleri toplamı (HKT = $\sum (y_i - \hat{y}_i)^2$) tablo 2 de verilmektedir. Ayrıca polinom derecesi 3 için LPR modelin grafiği Şekil 1 de sunulmaktadır. LPR metodu aşağıdaki datalar için Matlab kullanılarak uygulanmıştır ve Matlab kodu Ek1 de paylaşılmıştır. Tablo 2 den polinom derecesi yükseldikçe HKT düştüğü görülmektedir bu da yöntemin etkinliğini göstermektedir. Şekil 1 den metodun etkinliği görülmektedir.

Gözlem	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
x	2	5	7	10	14	19	26	31	34	38	45	52	53	60	65
y	54	50	45	37	35	25	20	16	18	13	8	11	8	4	6

Datalar için oluşturulan çözüm matrisleri aşağıda verilmektedir.

$$Y = [54 \ 50 \ 45 \ 37 \ 35 \ 25 \ 20 \ 16 \ 18 \ 13 \ 8 \ 11 \ 8 \ 4 \ 6]'$$

$$W = \text{diag} (0.32)$$

$$X = \begin{bmatrix} 1 & -5,32 & 28,30 & -150,53 \\ 1 & -2,32 & 5,38 & -12,48 \\ 1 & -0,32 & 0,10 & -0,03 \\ 1 & 2,68 & 7,18 & 19,26 \\ 1 & 6,68 & 44,63 & 298,14 \\ 1 & 11,68 & 136,43 & 1593,59 \\ 1 & 18,68 & 348,96 & 6518,71 \\ 1 & 23,68 & 560,76 & 13279,12 \\ 1 & 26,68 & 711,85 & 18992,37 \\ 1 & 30,68 & 941,29 & 28879,18 \\ 1 & 37,68 & 1419,82 & 53499,29 \\ 1 & 44,68 & 1996,34 & 89197,44 \\ 1 & 45,68 & 2086,70 & 95321,51 \\ 1 & 52,68 & 2775,23 & 146200,29 \\ 1 & 57,68 & 3327,03 & 191904,76 \end{bmatrix}$$

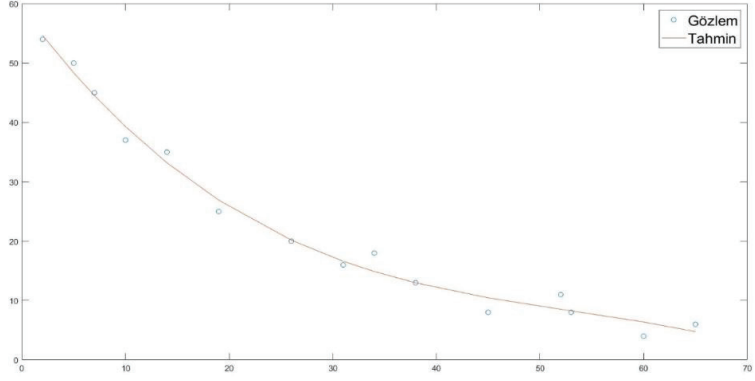
β_j tahmincileri ise $\hat{\beta} = [43.9389 \ -1.824 \ 0.0342 \ -0.0002]'$ olarak hesaplanır. Y tahmin değerleri ise

$$\hat{y} = [54.65 \ 48.36 \ 44.52 \ 39.29 \ 33.2 \ 26.9 \ 20.18 \ 16.62 \ 14.89 \ 12.98 \ 10.46 \ 8.52 \ 8.27 \ 6.38 \ 4.76]'$$

Olarak hesaplanır.

Tablo 2. Polinom derecesine bağlı HKT

Derece	HKT
2	72.34
3	44.95
4	43.74
5	41.73

**Şekil 1.** Polinom derecesi üç için model grafiği

3. İKİ BOYUTLU TABLOLARDA (crosstabs) LOKAL POLİNOMAL YAKLAŞIMLA TAHMİN

RxC boyutlu bir tabloda hücrelerin düzgünleştirilmiş (smooth) frekansları lokal polinomal yaklaşımla tahmin edilebilir. Tablo 2 deki gözlem değerleri için sözü edilen yöntemle düzgünleştirilmiş tahminler, iki boyutlu tabloyu daha iyi açıklayıcı duruma getirir.

Yazılan bir bilgisayar programı ile literatürden (Simonoff ,1996) alınmış problem için lokal polinomal yaklaşımın iki boyutlu tablolar için uygulaması aşağıda açıklanmaktadır. Denklem 2 deki W matrisi çok değişkenli (problem 3.1 de 2 değişken kullanıldı) Kernel fonksiyonu kullanılarak bulunur.

Çapraz tablonun satır ve sütun numaraları X açıklayıcı değişken matrisini oluşturur. Tablonun hücre değerleri bağımlı değişken Y matrisini oluşturmaktadır.

Problem 3.1. 55 MBA öğrencisinin, İşletme eğitiminde, İstatistik ve Ekonomi nin önemi hakkında sorulara verdikleri yanıtlar Tablo 3 de görülmektedir. Bu tabloda satırlar **İstatistik** için verilen yanıtları, sütunlar ise **ekonomi** için verilen yanıtları içermektedir. Yanıtlar şu şekilde kodlanmıştır;

1= tamamen gereksiz , 2 = gereksiz , 3= az önemli , 4= tarafsız , 5=önemli , 6= çok önemli , 7= kesinlikle önemli

Tablo 3. MBA öğrencilerinin cevaplarına ait çapraz tablo

		Ekonomi						
		1	2	3	4	5	6	7
İstatistik	2	0	1	0	0	0	1	0
	3	0	0	0	1	0	0	0
	4	0	0	3	6	4	0	0
	5	0	0	1	4	7	4	0
	6	1	0	0	2	6	10	1
	7	0	0	0	0	0	2	1

Bu data'lara ait yoğunluğa bağlı renklendirilmiş grafik şekil 2 de görülmektedir. Tablo 3 verilerine lokal polinomal regrseyon uygulanarak düzgünleştirilmiş yoğunluklar şekil 3 de görülür. Ekonomi ve İstatistiğin işletme eğitiminde oldukça önemli olduğu (koyu renkli kısımdan) görülmektedir.

0	1	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0	0
0	0	3	6	4	0	0
0	0	1	4	7	4	0
1	0	0	2	6	10	1
0	0	0	0	0	2	1

Şekil 2. Tablo 3 datalara ait grafik

-0,2	0,1	0,4	0,7	1,0	1,3	1,6
0,0	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8
0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8	2,1
0,6	0,8	1,1	1,4	1,7	2,0	2,3
0,8	1,1	1,4	1,7	2,0	2,3	2,5
1,1	1,4	1,6	1,9	2,2	2,5	2,8

Şekil 3. Tablo 3 datalarına LPR uygulanmış grafiği

Örnekten , yorumlanması zorluk gösteren tabloların LPR ile daha iyi açıklanabilir hale geldiği görülmektedir .

4. ZAMAN SERİLERİNİN LOKAL POLİNOMAL YAKLAŞIMLA DÜZGÜNLEŞTİRİLMESİ

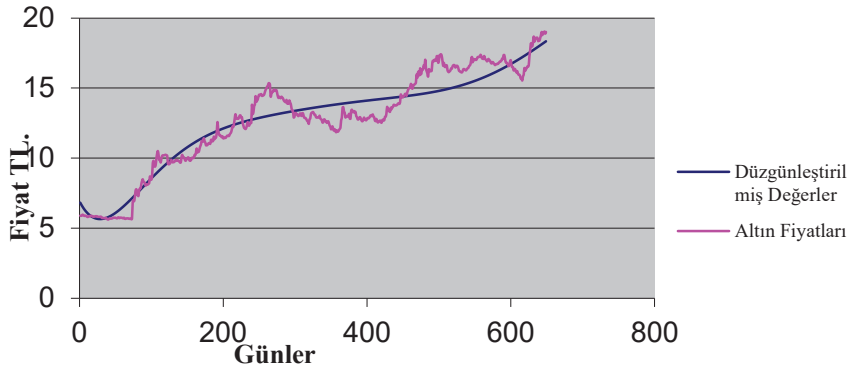
Zaman serilerinin modellenmesinde özellikle stokastik trendin bulunması büyük önem taşır. Bu amaçla kullanılan bir çok yöntem vardır. Stokastik trendin elde edilmesinde ,düzgünleştirme problemlerinde kullanılabilecek alternatif bir yöntemde Lokal Polinomal yaklaşımdır. Özellikle son yıllarda bu alanda yapılan bilimsel çalışmalarda Kernel fonksiyonları çok geniş yer tutmaktadır.

Problem 4.1.

Bu bölümde stokastik trend bulmak için Türkiye’deki altın fiyatları kullanılarak lokal polinomal yaklaşım kullanılmıştır (Çağlar vd, 2004) . Analizde 678 gözlem kullanılmıştır. Formül (3) deki $\hat{\beta}$ değerleri Matlab programı yardımıyla bulunmuştur ve Matlab kodu Ek1 de paylaşılmıştır

grafik olarak Şekil 4 de altın fiyatlarının düzgünleştirilmiş eğrisi görülmektedir.

Lokal polinomal yaklaşımla bulunan zaman serisinin stokastik trendi şekilden görülmektedir. Düzgünleştirilmiş stokastik trendin elde edilmesinde local polinomal yaklaşımın etkin bir yöntem olduğu söylenebilir. Farklı Kernel'ler seçilerek MSE (Mean Square Error) ler karşılaştırılarak optimum kernel seçimi yapılabilir.

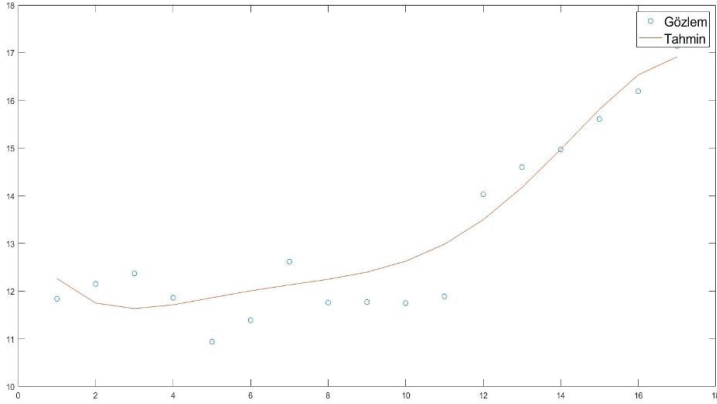


Şekil 4. Altın fiyatlarının değişim grafiği (düzgünleştirme öncesi ve sonrası)

Problem 4.2. Tüik den alınan 2019 –2021 yılları arasındaki aylık TÜFE oranları kullanılarak polinom derecesi beş için LPR ile bulunan stokastik trend Şekil 5 de görülmektedir. Matlab kodu Ek1 de paylaşılmıştır. Ayrıca Tablo 4 de HKT farklı polinom dereceleri için verilmiştir. Tablo 4 den polinom derecesi yükseldikçe HKT düştüğü görülmektedir bu da yöntemin etkinliğinin bir kez daha görülmesini sağlamaktadır.

Tablo 4. Polinom derecesine bağlı HKT

Derece	HKT
2	4.473
3	4.463
4	3.619
5	3.618



Şekil 5. Tüfe aylık oranlarının değişim grafiği

5. LPR ‘nin İNTEGRAL DENKLEMLERE UYGULANMASI

Bu bölümde, demografi , malzeme, sigortacılık alanlarında birçok uygulaması bulunan Volterra integral denklemini (Delves & Mohamed, 1985) LPR yaklaşımı ile çözelim.

Denklemin genel formu aşağıda verilmektedir.

$$x(t) + \lambda \int_a^t k(t, s)x(s)ds = y(t), \quad a \leq t \leq b, a \leq s \leq b \quad (4)$$

Denklem (3) denklem (4) ün yaklaşık çözümü olsun.

$$\sum_{j=0}^p \beta_j (t - t_0)^j + \lambda \sum_{j=0}^p \beta_j \int_a^t k(t, s)(s - t_0)^j ds = y(t),$$

$$a \leq t \leq b, a \leq s \leq b \quad (5)$$

matris formunda yazılırsa,

$$X = \begin{bmatrix} 1 & (t_1 - t_0) + \lambda \int_a^t k(t, s)(s - x_0)ds & \dots & (t_1 - t_0)^p + \lambda \int_a^t k(t, s)(s - x_0)^p ds \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & (t_n - t_0) + \lambda \int_a^t k(t, s)(s - x_0)ds & \dots & (t_n - t_0)^p + \lambda \int_a^t k(t, s)(s - x_0)^p ds \end{bmatrix}$$

$$Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix}$$

$$K(u) = \begin{cases} \frac{15}{16}(1 - u^2)^2 & \text{if } |u| \leq 1 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

Kernel fonksiyonu olarak quartic kernel kullanılmıştır.

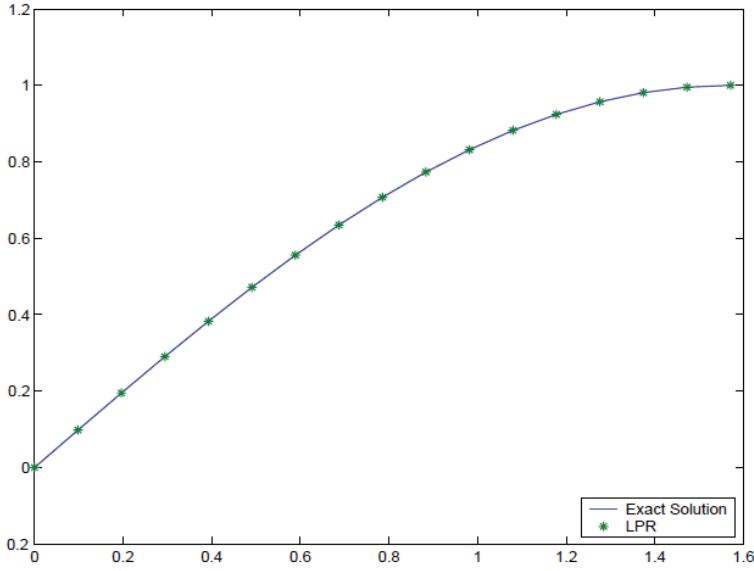
(6) denklem (2) de yerine yazılırsa β_i değerleri matris sistemi çözülerek elde edilir. Böylece verilen denklemin yaklaşık çözümü elde edilmiş olur.

Problem 5.1.

Aşağıda verilen integral denklemin (Çağlar vd, 2008) LPR ile sayısal çözümünü bulalım.

$$x(s) = \sin(s) - s + \int_0^{\frac{\pi}{2}} stx(t)dt, \quad 0 \leq t \leq \frac{\pi}{2}$$

Denklemin teorik çözümü $x(s) = \sin(s)$ olarak bilinmektedir. Sayısal çözüm değerleri Tablo 5 de verilmekte ve Şekil 6 de gösterilmektedir. LPR yöntemin integral denklemini çözmekte iyi bir yakınsaklık sağladığı görülmektedir. Yöntem aynı zamanda farklı bant genişliği ve Kernel fonksiyonları için denenebilir.



Şekil 6. $x(s)=\sin(s)$ ve LPR çözümü

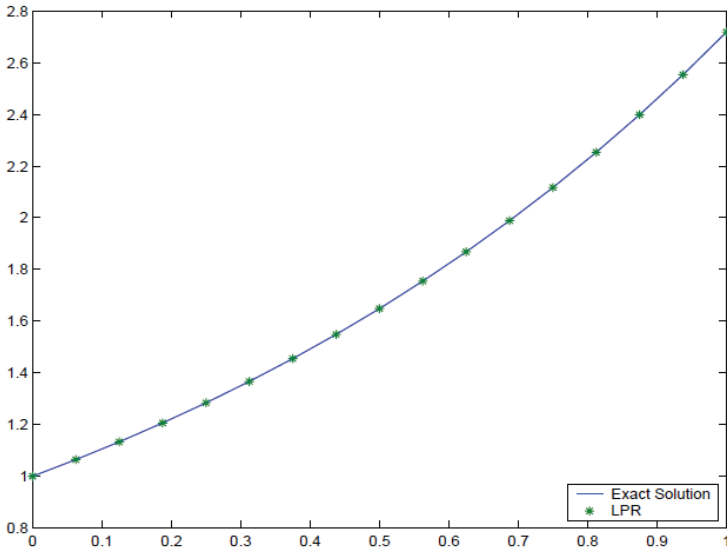
Tablo 5. y_i teorik çözüm, Y_i LPR çözümü

y_i	Y_i
0	-0.000000000120664
0.09801714032956	0.09801716335287
0.19509032201613	0.19509030895861
0.29028467725446	0.29028466194663
0.38268343236509	0.38268343573862
0.47139673682600	0.47139675044662
0.55557023301960	0.55557023796561
0.63439328416365	0.63439327155392
0.70710678118655	0.70710675890148
0.77301045336274	0.77301043768579
0.83146961230255	0.83146961261548
0.88192126434835	0.88192127296150
0.92387953251129	0.92387952957580
0.95694033573221	0.95694031039742
0.98078528040323	0.98078525344602
0.99518472667220	0.99518473630261
1.00000000000000	0.9999998107762

Problem 5.2.

Teorik çözümü $x(s) = e^s$ olan aşağıdaki denkleminin çözümü grafik olarak Şekil 7 de görülmektedir. Şekilden teorik çözüme yakınsama çok net görülmektedir.

$$x(s) = e^s - \frac{e^{s+1}-1}{s+1} + \int_0^1 e^{st}x(t)dt, 0 \leq t \leq 1$$



Şekil 7. $x(s) = e^s$ ve LPR çözümü

6. SONUÇ

Local polinomal regresyon yöntemi , mühendislik, istatistik ve matematik alanlarında yaygın kullanılmaktadır. Yaklaşım fonksiyonun bulunmasında en küçük kareler yöntemi uygulama kolaylığına sahip olmakla birlikte yöntemin kodları Matlab veya farklı bir progama dilinde kolaylıkla yazılabilir. Çalışmada Lokal polinomların teorisi anlatıldıktan sonra çapraz tablolar, zaman serileri ve mühendislik denklemlerinde uygulamaları ele alınmıştır. Farklı polinom derceleri , Kernel ve bant seçimlerine bağlı olarak optimal düzgünleştirme sağlanabildiği görülmüştür. Sonuç olarak , LPR nin farklı alanlardaki problemlerin sayısal çözümlerinin elde edilmesinde , düzgünleştirme işlemlerinde ve çapraz tablolarda yoğunluk alanlarının belirlenmesinde oldukça etkili bir yöntem olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Çağlar H. ,Çağlar N. (2008). Numerical solution of integral equations by using local polynomial regression. *Journal of Computational Analysis and Applications* 10(2), 187-195.
- Çağlar N ,Çağlar H. (2004). Stokastik trendin lokal polinomal yaklaşım ve üstel düzgünleştirme ile bulunmasında hata kareleri ortalamasının karşılaştırılması. *Öneri*, 6(22), 301-304.
- Delves, L.M. and Mohamed,J.L.(1985) Computational Methods for Integral Equations. Cambridge University Press.
- Linton O.,Mammen E., Nielsen J,Tanggaard C. (Nov 2001) Yield curve estimation by Kernel smoothing methods. *Journal of Econometrics*, 105(1).
- Seifert B. And Gasser T. (March 1996) Finite-Sample variance of local polynomials : analysis and solutions. *Journal of American Statistical Association*. 91(433).
- Simonoff J.S. Smoothing Methods in Statistics . (1996) Springer-Verlag New York.
- Yang F.,Yue Z. (Nov.2014). Kernel density estimation of three-parameter Weibull distribution with neural network and genetic algorithm. *Applied Mathematics and computation*, 247,803-814
- İnternet Kaynakları
- 1-<https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=Enflasyon-ve-Fiyat-106>, 2021
- 2- http://www.cnachtsheim-text.csom.umn.edu/kut86916_ch13.pdf
- 3- Pusula Yazılım , Donanım ve Danışmanlık Hizmetleri Ltd. Şti.

Ek1. Matlab Kodu

```

function [s,x,xk,b,ys] = lpr(x1,y,p,k,m)

    [n,n1]=size(x1);x=zeros(n,p+1);
    x(:,1)=ones(n,1);
    h=(x1(n)-x(1))/m;

    for i=1:n      t1=0; t2=x1(1);

    for j=x1(1):h:x1(n)

        if x1(i) < j    x0 = j - h / 2; break;

        end;
    end;

    xk1=kernel((x(i) - x0) / h,k);      xk(i,i)=xk1;

    t1 = t1 + xk1; t2 = t2 + xk1 * x(i);
end;

    x3=x1-t2 / t1;

    for i=0:p      x(:,i+1)= x3.^i; end

    b=inv(x'*xk*x)*x'*xk*y;

    ys=x*b;

    figure
    set(gca,'FontSize',45)
    plot(x1,y,'o',x1,ys);
    k=legend('Gözlem','Tahmin')
    k.FontSize = 16;

    s=sum((y-ys).^2)

end

```

Bölüm 13

HİDROLAZLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ VE İLAÇ ÖNCÜ BİLEŞİKLERİN SENTEZİNDE KULLANIMLARINA GENEL BİR BAKIŞ

*Sude AKBULUT¹
Özlem ALPTEKİN²*

¹ Sude AKBULUT

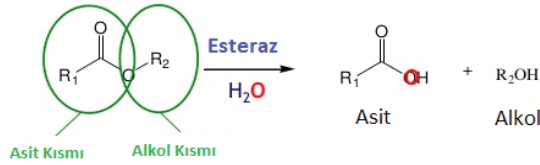
² Dr. Öğr. Üyesi Özlem ALPTEKİN (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0458-7609>),
Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya
Anabilim Dalı

Hidrolazlar ve Genel Özellikleri

Hidrolazlar, hidroliz tepkimelerini katalizleyen enzimlerdir (Hydrolase Introduction, t.y.). Hidrolazlar sentezlerde kullanılacak küçük moleküllerin eldesi için büyük moleküllerin parçalanması, atık ürünlerin uzaklaştırılması ve birçok biyopolimerin monomerlere dönüşümü sırasında enerji üretimi için karbon kaynağı sunması açısından organizmalar için çok önemlidir. Hidrolazlar temel olarak 13 alt gruba ayrılır (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology [NC-IUBMB], 2019: 1).

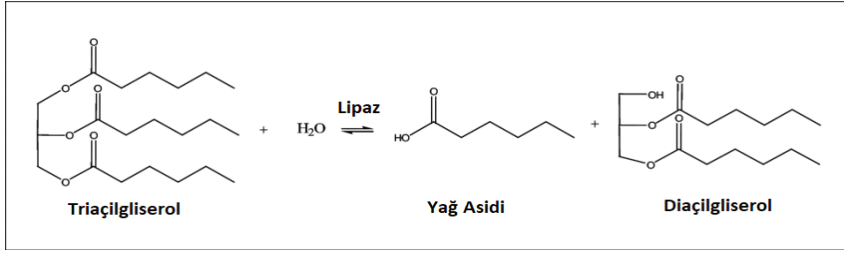
1. Ester Bağlarına Etki Edenler (EC 3.1.)

Ester bağlarına etki eden hidrolazlar esteraz enzimlerini içerir (NC-IUBMB, 2019: 3). Esterleri hidroliz ile asit ve alkole parçalarlar. Substrat seçicilikleri, protein yapıları ve biyolojik işlevleri gibi özellikler açısından birbirinden farklı olan çeşitli esteraz tipleri vardır. Esterazlara örnek olarak kolinesteraz, karboksilesteraz ve arilesterazlar verilebilir (Williams, 1985). Ancak biyolojik işlevinden dolayı özellikle asetilkolinesteraz en çok bilinen esterazlardan biridir.



Şekil 1. Ester bağlarına etki eden enzimlerin katalizlediği tepkimeler (Lightning, 2013)

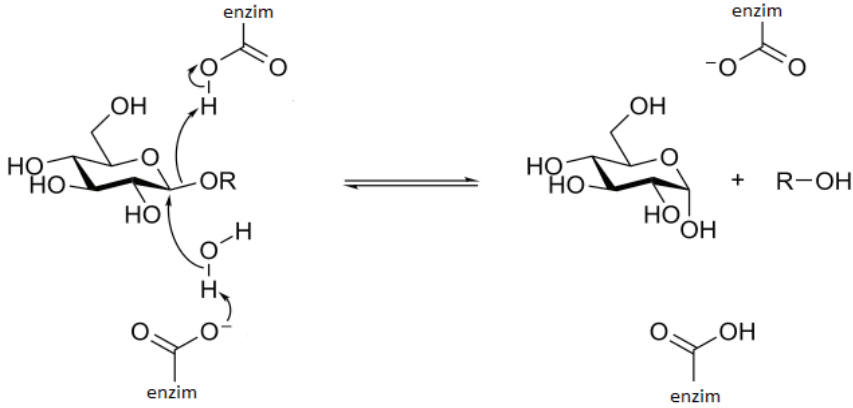
Lipazlar, ester bağlarına etki eden diğer bir önemli alt sınıftır. Lipazlar, trigliseritlerin serbest yağ asitleri ve gliserole parçalanmasını katalizleyen enzimlerdir (Pirahanchi ve Sharma, 2020). Canlılarda lipidlerin sindirimi, taşınması ve işlenmesinde görev alırlar. İnsanda bulunan lipazlar daha çok beslenmede rol alsalar da patojen mikroorganizmaların salgıladıkları lipazlar, konak organizmayı daha kolay istila edebilmelerini sağlar. Endüstriyel olarak da mantar ve bakterilerden elde edilen lipazlar, yoğurt ve peynir yapımında kullanılırlar. Karaciğerdeki hepatik lipazlar, adipositlerdeki hormon duyarlı lipazlar, pankreatik lipazlar, fosfolipazlar gibi çeşitli lipaz türleri vardır.



Şekil 2. Lipazların katalizlediği reaksiyonlar (Beselin, 2005: 4)

2. Glikozilazlar (EC 3.2.)

Glikozilazlar, glikozidazlar (EC 3.2.1) ve N-glikozil bileşiklerini hidroliz edenler (EC 3.2.2) olmak üzere iki alt sınıfa sahiptir (NC-IUBMB, 2019: 91). Glikozidazlar, temel olarak kompleks şekerlerdeki glikozidik bağların hidrolizini katalizleyen enzimlerdir (Kötzler, Hancock ve Withers, 2014). Böylece oligosakkarit ve glikokonjugatlar gibi biyopolimerlerin parçalanmasını sağlar. Etkili ve fazlaca seçici olan bu katalizörler biyolojik süreçlerde önemli bir role sahiptir. Ayrıca hastalıkların anlaşılması ve kontrol edilmesi ile endüstriyel uygulamalar için de değerlidir.

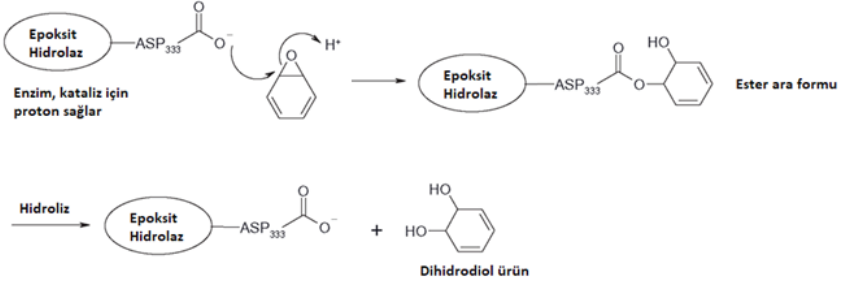


Şekil 3. Glikozidazların katalizlediği tepkimeler (Glycoside hydrolase, t.y.)

3. Eter Bağlarına Etki Edenler (EC 3.3.)

Bu grupta yer alan enzimler eter bağlarına etki ederler. Bu alt sınıf da tiyoeter ve trialkilsülfonyum bileşiklerini hidroliz edenler ve eterlere etki edenler olarak da iki ayrı gruba ayrılır (NC-IUBMB, 2019: 145). Epoksit hidrolazlar, temel olarak epoksitlerin su katılımı ile 1,2-diollere

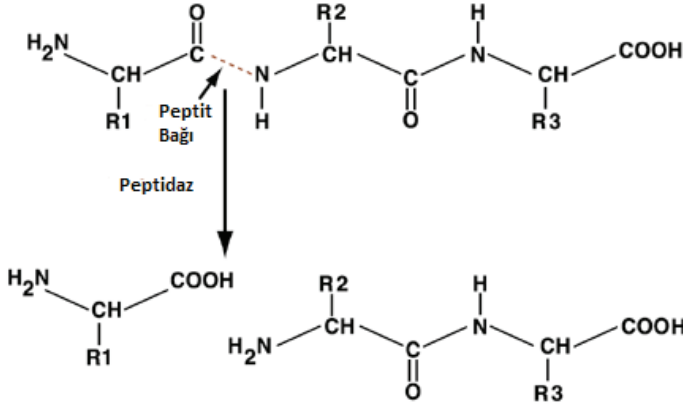
dönüştüğü reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir (Morisseau, Pakhomova, Hwang, Newcomer ve Hammock, 2013: 1). Epoksitler, yüksek oranda polarize olan oksijen-karbon bağları ve gergin yapıdaki zincirlerinden dolayı nükleofillere karşı oldukça reaktiftirler. Reaktif epoksitlerin DNA ve proteinler üzerinde mutajenik, toksik ve karsinojenik etkileri vardır. Epoksit hidrolazlar da epoksit detoksifikasyonunda önemli bir role sahiptir.



Şekil 4. Epoksit hidrolazların katalizlediği bir hidroliz reaksiyonunun mekanizması ("Epoxide hydrolases (Conjugation and Transport Processes) (Human Drug Metabolism)", t.y.)

4. Peptit Bağlarına Etki Edenler (Peptidazlar) (EC 3.4.)

Peptidazlar, peptit bağlarını hidroliz eden enzimlerdir (NC-IUBMB, 2019: 150). Peptidazlar, sadece bir polipeptit zincirinin terminal ucuna etki eden ekzopeptidazlar ve peptit zincirlerinin iç kısmına etki eden endopeptidazlar olarak iki farklı alt gruba da ayrılır. Peptidazların özgülüğünü tanımlamak zordur çünkü özgülükleri hidroliz edilecek peptit bağlarının çevresindeki amino asit kalıntılarının doğasına ve substratın polipeptit zincirinin konfigürasyonuna bağlıdır (Peptidase, 2017).

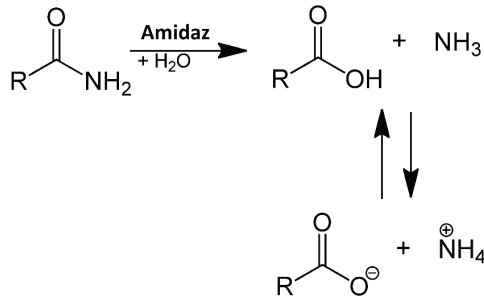


Şekil 5. Proteinlerin parçalandığı bir hidroliz reaksiyonu (Donohue ve Osna, 2003: 318)

5. Peptit Bağları Dışındaki C-N Bağlarına Etki Edenler (EC 3.5.)

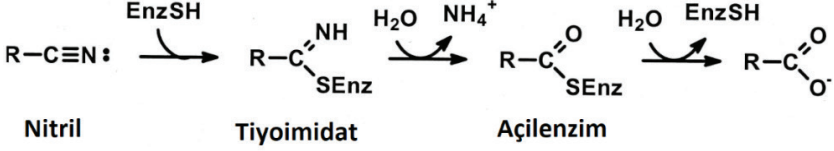
Bu grupraki enzimler amidazları, amidinleri ve diğer C-N bağlarını hidroliz eden hidrolaz enzimlerini içerir (NC-IUBMB, 2019: 251). Bu grubun alt sınıfları da substratına göre belirlenir; düz zincirli amitler (EC 3.5.1), siklik amitler (EC 3.5.2), düz zincirli amidinler (EC 3.5.3), siklik amidinler (EC 3.5.4), nitriller (EC 3.5.5) ve diğer bileşikler (EC 3.5.99).

Amidazlar, amitlerin hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Monokarboksilik asit amidin amidaz enzimi ile hidrolizi sonucu monokarboksilat ve NH_4^+ ürünleri oluşur. Temelde amit bağlarının (CO-NH_2) hidrolizini katalizler (Weber ve diğerleri, 2013: 28514).



Şekil 6. Amidazların katalizlediği bir hidroliz reaksiyonu (Amidase, t.y.)

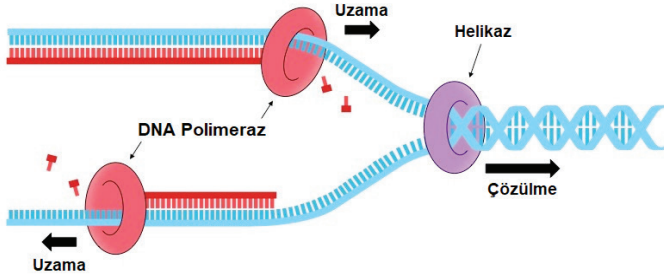
Nitrilazlar, nitrillerin karboksilik asit ve amonyuma hidrolizini katalizleyen enzimlerdir (Gong, Lu, Li, Shi, Zhou ve Xu, 2012: 2). Özellikle bitkilerin savunmasında, detoksifikasyonunda, azot kullanımında ve hormon sentezinde kritik role sahiptir.



Şekil 7. Nitrilazların katalizlediği bir reaksiyon (Heinemann, Engels, Bürger, Kiziak, Mattes ve Stolz, 2003: 4360)

6. Asit Anhidritlere Etki Edenler (EC 3.6.)

Bu grup enzimler difosfat bağlarını içeren nükleozit di- ve tri-fosfat bileşiklerine (EC 3.6.1), adenilsülfat gibi sülfonil içeren anhidritler (EC 3.6.2) ve maddelerin transmembran hareketlerini katalizleyen asit anhidritlerine (EC 3.6.3) etki eder (NC-IUBMB, 2019: 302). Helikazlar grubun en önemli enzimlerindenidir. Helikazlar nükleik asit ipliklerini ayırıştırır. Bu proses için de ATP hidrolizi sonucu ortaya çıkan enerjiyi kullanırlar. DNA helicaz (EC 3.6.4.12) ve RNA helicaz (EC 3.6.4.13) tüm canlıların hayati fonksiyonlarını düzenleyen önemli enzimlerdir (Helikaz, t.y.).

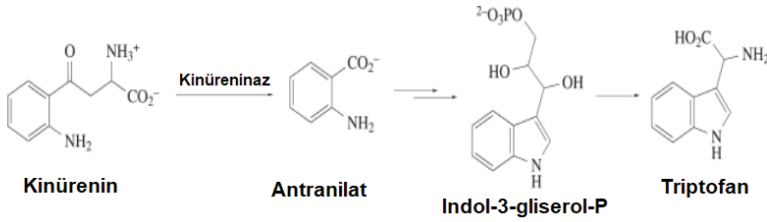


Şekil 8. Helikazların DNA replikasyonundaki görevi ("DNA Replication", t.y.)

7. Karbon-Karbon Bağlarına Etki Edenler (EC 3.7.)

Bu grup hidrolazların tek bir alt sınıfı vardır; keton grubu içeren bileşiklerdeki karbon-karbon bağlarına etki edenler (EC 3.7.1). Bu enzimlerin çok azı karbon-karbon bağlarının hidroliziyle ilişkiliyken

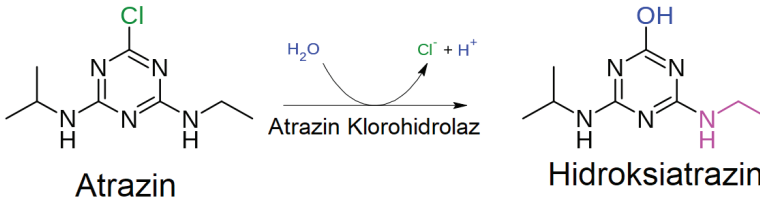
genellikle 3-okso-karboksilik asitlerin hidrolizini katalizlerler (NC-IUBMB, 2019: 323).



Şekil 9. Karbon-karbon bağlarına etki eden hidrolazlardan olan Kinüreninaz (EC 3.7.1.3)'ün katalizlediği ve Kinürenin'den Tryptofan eldesini gösteren reaksiyon (Henderson ve Toone, 1999)

8. Halojenür Bağlarına Etki Edenler (E.C 3.8.)

Bu hidrolaz grubunun da tek alt sınıfı karbon-halojenür bağlarının hidrolizini katalizleyen enzimlerdir (EC 3.8.1) (NC-IUBMB, 2019: 328).



Şekil 10. Bir herbisit olan Atrazin'in bakterilerdeki parçalanmasında görev alan ve halojenür bağlarına etki eden hidrolazlardan olan Atrazin klorohidrolazın görev aldığı basamak (Atrazine, t.y.)

9. Fosfor-Azot Bağlarına Etki Edenler (EC 3.9.)

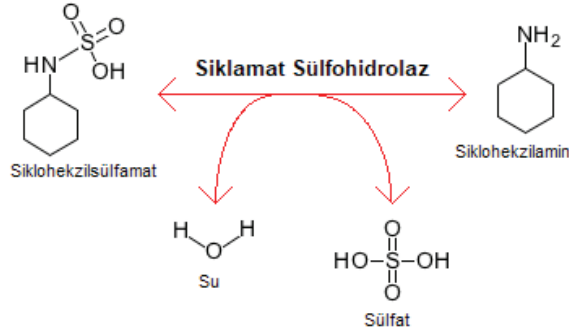
Bu grupta bilinen en eski enzim Fosfoamidaz (EC 3.9.1.1)'dir. Ancak daha sonra gram-pozitif bakterilerde karakterize olan ve N^{ω} -fosfo-L-arginin kalıntılarındaki fosforamidat (P-N) bağlarını hidroliz eden Protein arginin fosfataz (EC 3.9.1.2) ve protein ile peptitlerdeki fosforillenmiş histidin kalıntılarındaki defosforilasyonunda görevli olan ökaryotik enzim Fosfohistidin fosfataz (EC 3.9.1.3) da bu grupta tanımlanmıştır (NC-IUBMB, 2019: 331).



Şekil 11. Fosfoamidaz (EC 3.9.1.1)'in görev aldığı bir reaksiyon (Zemlicka, 2002: 285)

10. Kükürt-Azot Bağlarına Etki Edenler (EC 3.10.)

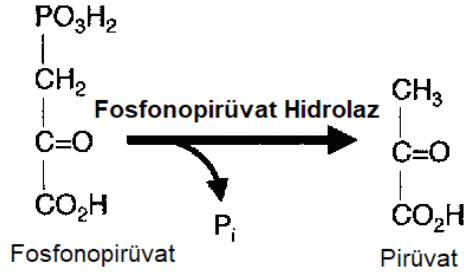
Kükürt-azot bağlarına etki eden hidrolaz enzimleri olarak N-sülfoglukozamin sülfhidrolaz (EC 3.10.1.1) ve Siklamat sülfhidrolaz (EC 3.10.1.2) tanımlanmıştır (NC-IUBMB, 2019: 332).



Şekil 12. Siklamat sülfhidrolazın (EC 3.10.1.2) katalizlediği bir reaksiyon (Enzyme 3.10.1.2, t.y.)

11. Karbon-Fosfor Bağlarına Etki Edenler (EC 3.11.)

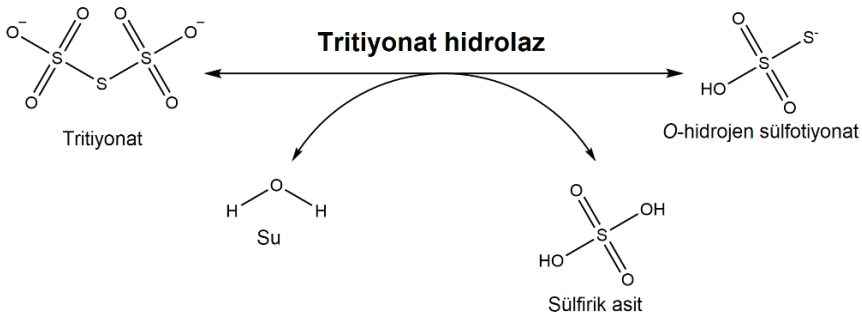
Substratının karbonil grubu ile lizin kalıntısı arasında imin oluşturarak karbon-fosfor bağlarını kararsız hale getiren Fosfonoasetaldehid hidrolaz (EC 3.11.1.1), çinko bağımlı bir enzim olan Fosfonoasetat hidrolaz (EC 3.11.1.2) ve substrat olarak fosfonopirüvata fazlaca spesifik olan Fosfonopirüvat hidrolaz (EC 3.11.1.3) bu gruba ait hidrolaz enzimleridir (NC-IUBMB, 2019: 332).



Şekil 13. Karbon-fosfor bağlarına etki eden hidrolazlardan olan Fosfonopirüvat hidrolazın (EC 3.11.1.3) görev aldığı bir reaksiyon (Kulakova, Wisdom, Kulakova ve Quinn, 2003: 23427)

12. Kükürt-Kükürt Bağlarına Etki Edenler (EC 3.12.)

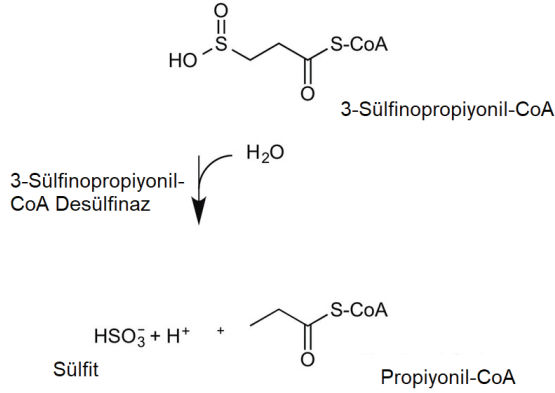
Bu grupta yer alan tek hidrolaz, Tritiyonat hidrolaz (EC 3.12.1.1) enzimidir (NC-IUBMB, 2019: 333).



Şekil 14. Tritiyonat hidrolazın (EC 3.12.1.1) görev aldığı bir reaksiyon (Trithionate, t.y.)

13. Karbon-Kükürt Bağlarına Etki Edenler (EC 3.13.)

Bu gruptaki hidrolazlar karbon-kükürt bağlarını hedef alırlar (NC-IUBMB, 2019: 333).



Şekil 15. *Advenella mimigardefordensis* isimli bakteride bulunan ve karbon-kükürt bağlarına etki eden hidrolaz enzimlerinden 3-Sülfinopropanoil-CoA desülfinazın (EC 3.13.1.4) katalizlediği bir reaksiyon (Schürmann, Meijers, Schneider; Steinbuechel ve Cianci, 2015: 1361)

Biyokatalizörlerin Önemi, E Faktörü ve Yeşil Kimya

1980’lerin başında Roger Sheldon, üretim süreçlerinin çevreye olan etkilerini değerlendirebilmek için Çevresel Etki Faktörü’nü (E Faktörü) (kg atık/kg ürün) tanımlamıştır (Tablo 1.). E Faktörü’nün büyük olması dünyaya daha fazla atık yükün ve daha negatif çevresel etkinin oluşturulduğunu gösterir. 1992’de yaptığı araştırmalar sonucunda ise çeşitli kimya endüstrilerinden ilaç endüstrisinin en yüksek E Faktörü’ne sahip olduğunu bulmuştur (Sheldon, 1992).

Tablo 1. Çeşitli kimya endüstrilerinin çevresel etkilerinin karşılaştırılması

Endüstri	Yıllık Ürün (ton/yıl)	Yıllık Atık (ton/yıl)	E Faktörü
Petrokimya Endüstrisi	10^6 - 10^8	10^7	<0,1
Emtia Kimyasal Endüstrisi	10^4 - 10^6	5×10^6	<1-5
İnce Kimyasal Endüstrisi	10^2 - 10^4	5×10^5	5->50
İlaç Endüstrisi	10 - 10^3	10^5	25->100

Anastas ve Warner ise 1998 yılında daha sürdürülebilir kimyasal üretim süreçleri için ilk kez “Yeşil Kimya”nın 12 prensibini ortaya koymuştur. (Tablo 2.) Yeşil Kimya’nın prensipleri ortaya koyulduktan sonra ciddi çevresel problemlere sebep olan ilaç endüstrisi için çok önemli hale gelmiştir. Bu prensipler İngilizce “üretken/verimli bir şekilde” anlamına gelen “productively” kelimesinin baş harflerine göre sıralanmış

ve kullanımının yanı sıra akılda kalıcılığı da arttırılmak istenmiştir (Anastas ve Warner, 1998).

Tablo 2. Yeşil Kimya'nın 12 Prensipleri

YEŞİL KİMYANIN PRENSİPLERİ	
P – Prevent Wastes	• Atıkların Önlenmesi
R – Renewable Materials	• Yenilenebilir Materyaller
O – Omit Derivatization Steps	• Türevlendirme Adımlarının Dahil Edilmemesi
D – Degredable Chemical Products	• Parçalanabilir Kimyasal Ürünler
U – Use of Safe Synthetic Methods	• Güvenli Sentetik Metotların Kullanımı
C – Catalytic Reagents	• Katalitik Reaktifler
T – Temperature, Pressure Ambient	• Çevre Sıcaklık ve Basıncı
I – In-process Monitoring	• Süreç İçi İzleme
V – Very Few Auxiliary Substances	• Çok Az Sayıda Yardımcı Madde
E – E-Factor, Maximize Feed in Product	• E Faktörü, Üretimi En Üst Seviyede Beslemek
L – Low Toxicity of Chemical Products	• Kimyasal Ürünlerin Düşük Toksisitesi
Y – Yes, It is Safe	• Evet, Bu Güvenli

İlaç endüstrisinde Yeşil Kimya'yı başarabilmek için bulunmuş en iyi yöntemlerden birisi biyokatalizörlerdir (Sun, Zhang, Ang ve Zhao, 2018: 1275). Biyokatalizörlerin ilaç ve ilaç öncü maddelerinin sentezinde kullanılmasıyla daha çevre dostu kimyasal süreçler oluşturulmuştur. Biyokatalizörler; yüksek seçicilik sayesinde Yeşil Kimya'nın prensiplerinden P, O ve V'yi, ılımlı tepkime koşulları sayesinde T, U ve Y'yi, sentez yollarını kısaltmaları sayesinde de P, O ve V'yi sağlamaktadır.

Hidrolaz Enzimlerinin İlaç Öncü Bileşiklerin Sentezinde Kullanımları

A. Ester Bağlarına Etki Edenler (EC 3.1)

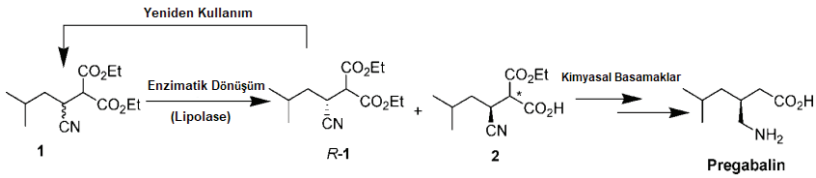
Antikonvülsan İlaçlar

2-karboksietil-3-siyano-5-metilhekzanoik asitin etkili ve yüksek oranda enantiyoseçici hidrolizi, pregabalinin kemoenzimatik sentezindeki en önemli adımdır (Li, Zheng ve Ma, 2014). Pregabalin sentezinde ras-2-karboksietil-3-siyano-5-metil-hekzanoik asit etil esterinden,

Lipolase (*Thermomyces lanuginosus* kaynaklı lipaz enzimi) kullanılarak 2-karboksietil-3-siyano-5-metilhekzanoik asidin elde edildiği gösterilmiştir. Bu yeni yöntem sonucunda E faktörünün 86'tan 17'ye düştüğünü yani çevreye olan zararın 5 kat azaldığını bildirmişlerdir.

Martinez vd. çalışmaya başlamadan önce 15 enzimi incelemiş ve bu enzimlerden 7 tanesinin enantiyoseçiciliğinin yüksek olduğunu ($E > 35$) göstermişlerdir (Martinez, Hu, Dumond, Tao, Kelleher ve Tully, 2008). Aralarında en etkin olan ve en iyi enantiyoseçiciliği gösteren Lipolase ile ras-2-karboksietil-3-siyano-5-metil-hekzanoik asit etil esterinden %45-50'lik dönüşüm ve > 98 enantiyomerik aşırılık ile 2-karboksietil-3-siyano-5-metilhekzanoik asit dönüşümünü gerçekleştirmişlerdir.

Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir;



Şekil 16. Pregabalin sentezinde ras-2-karboksietil-3-siyano-5-metil-hekzanoik asit etil esterinden (1), Lipolase kullanılarak 2-karboksietil-3-siyano-5-metilhekzanoik asidin (2) elde edilmesi (Martinez ve diğerleri, 2008: 393)

Ding vd. *Talaromyces thermophilus* kaynaklı lipaz enzimi (TTL) ile pregabalinin kemoenzimatik sentezinde %49,7 dönüşüm ve %95 enantiyomerik aşırılık elde ettiklerini bildirmişlerdir (Ding, Tang, Zheng ve Zheng, 2018: 4).

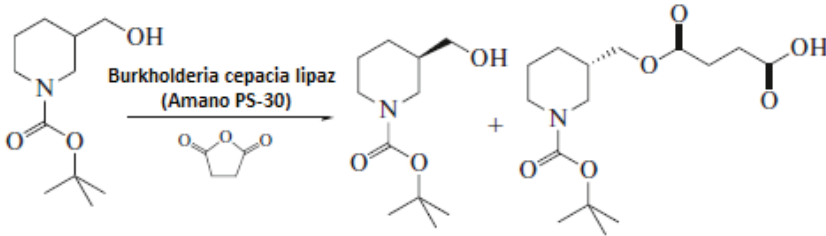
Triptaz İnhibitörleri

Triptaz, mast hücrelerinden yayılan bir serin proteazdır ve patofizyolojik durumlarda alerjik enflamasyona bağlı olarak seviyeleri artar (Numerof, Simpson ve Tanaka, 1997). Triptaz inhibitörlerinin kullanımının alerjiye bağlı erken ve geç hava yolu yanıtlarını ve enflamasyonunu engellediği gösterilmiştir.

Triptaz inhibitörlerinin sentezi için anahtar bir öncü madde olan (S)-N-(ter-bütoksikarbonil)-3-hidroksimetilpiperidindir (Toone ve Jones, 1987; Herradon ve Valverde, 1995; Wirz ve Walther, 1992). Goswani vd. bu öncü maddenin rasemik karışımından ayrımı için *Burkholderia cepacia* (eski adıyla *Pseudomonas cepacia*) kaynaklı lipaz enzimini (Amano PS-30) kullanmışlardır (Goswani ve diğerleri, 2001: 415). (S)-N-(ter-bütoksikarbonil)-3-hidroksimetilpiperidini rasemik karışımından %16 verim ve %95'ten daha fazla enantiyomerik aşırılık ile elde etmişlerdir. Aynı zamanda (R,S)-N-(ter-bütoksikarbonil)-3-hidroksimetilpiperidinin

süksinik anhidrit ile lipaz enziminin katalizlediği esterifikasyon tepkimesinde (S)-hemisüksinat ester oluşturduğunu ve bu yapının hidrolizle kolaylıkla (S)-N-(ter-bütoksikarbonil)-3-hidroksimetilpiperidine dönüştüğünü bildirmişlerdir. Bu esterifikasyon sürecini tekrarlayarak istenen ürünün verimini %32'ye (maksimum teorik verim %50'dir) ve enantiyomerik aşırılığı da %98,9'a yükselttiklerini belirtmişlerdir. Bu tepkime ile alkollerin kinetik ayrımında süksinik asit anhidritlerin asiklik analoglarına kıyasla daha sık kullanıldığı da gösterilmiştir (Bezdarov ve Zagustina, 2016). Ayrıca bu tepkime için E faktörünün yalnızca 15 olduğu ve Yeşil Kimya çerçevesinde kısmen zayıf bir tepkime olduğu da literatürde belirtilmiştir (Paravidino ve Hanefeld, 2011: 2654).

Reaksiyon şeması ise aşağıdaki gibidir;



Şekil 17. Triptaz inhibitörlerinin öncü maddesi olan (R,S)-N-(ter-bütanoksi-karbonil)-3-oksimetil piperidin'in lipaz ve süksinik asit ile stereokimyasal olarak ayrılması (Bezdarov ve Zagustina, 2016: 246)

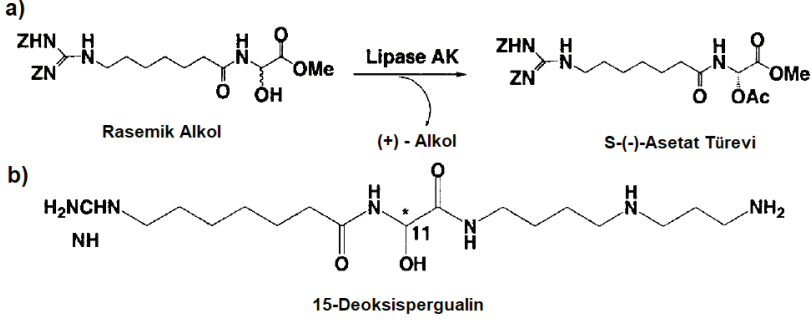
İmmünoşüpresif Ajanlar

Spergualin, 1981 yılında izole edilmiş bir antitümoral ilaçtır ve onun analogu olan 15-deoksispergualin ise umut verici yeni bir immünoşüpresif ajandır (Spranger, Pirenne, van Etten, Waer, Mathieu ve Billiau, 2008). 15-deoksispergualinin kemoenzimatik sentezi için daha önce karboksipeptidazlar kullanılmış ve (+)-enantiyomerinin neredeyse inaktif olduğu gösterilmiştir (Umeda ve diğerleri, 1987: 1320).

Patel vd. 15-deoksispergualin sentezi için rasemik 7-[N,N'-bis(benziloksi-karbonil) N-(guanidinoheptanoil)]- α -hidroksi-glisinin (rasemik alkol) lipaz enzimi ile katalizlenmiş bir asetilasyon tepkimesiyle S-(-)-asetat türevinin elde edildiği yeni yöntemi göstermişlerdir (Patel, Banerjee ve Szarka, 1997). S-(-)-asetat türevinin 15-deoksispergualin sentezi için anahtar öncü madde olduğu daha önce literatürde belirtilmiştir (Umeda ve diğerleri, 1987; Maeda, Umeda ve Saino, 1993). Patel vd. da bu sentez için *Pseudomonas spp.* kaynaklı lipaz enziminin (Lipase AK) kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu tepkime metil etil keton varlığında

yürütülmüş ve açılasyon için vinil asetat kullanılmıştır. Tepkime sonucunda ise S-(-)-asetat türevi %48 verim (maksimum teorik verim %50'dir) ve %98 enantiyomerik aşırılık ile elde edilmiştir.

Reaksiyon şeması ise aşağıdaki gibidir;



Şekil 18. a) Deoksispergualin sentezi için önemli bir öncü madde olan S-(-)-asetat türevinin Lipase AK enzimi aracılığıyla sentezi. b) Ulaşılmak istenen 15-Deoksispergualin'in kimyasal yapısı

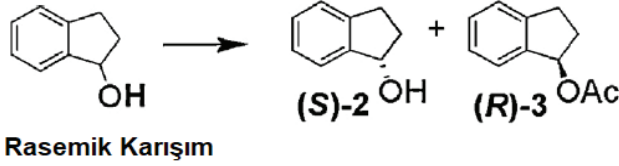
Parkinson İlaçları

Rasajilin mesilat [R-(+)-N-propargil-1-aminoindan mesilat], hem Parkinson hastalığının erken aşamasında tekli tedavide hem de ilerlemiş Parkinson hastalığında çoklu tedavide kullanılan geri dönüşümsüz, seçici monoamin oksidaz-B (MAO-B) inhibitörü bir maddedir (Nayak ve Henchcliffe, 2008; Rabey ve diğerleri, 2000). Kiral yapıda olan bu molekül, MAO-B enzimini seçici ve geri dönüşsüz olarak inhibe eden propargilamin farmakoforuna sahiptir (Fonseca, Silva, Oliviera, Lemos, Marques ve Mattos, 2015: 76). R-(+)-enantiyomerinin MAO-B enzime karşı aktivitesi yaklaşık olarak 1000 kat daha fazladır. Rasajilin mesilatın enzimatik olmayan yollarla sentezinde indanol gibi küçük moleküllerin varlığı sentezi zorlaştırmaktadır. Ancak enzimatik yollar ile başarılı ve kolay bir şekilde hem enantiyomerlerin her ikisi de elde edilebilmekte hem de hidroliz reaksiyonları başarıyla yürütülebilmektedir.

Rasajilin mesilatın kemoenzimatik sentezi için daha önce farklı enzimlerle farklı çalışmalar literatürde yer almıştır (Gutman, Meyer, Kalerin, Polyak ve Sterling, 1992; Päiviö, Perkiö ve Kanerva, 2012; Ma ve diğerleri, 2014). Fonseca vd. yaptıkları çalışmada rasajilin mesilatın kemoenzimatik sentezini başarıyla gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (Fonseca ve diğerleri, 2015). Bu doğrultuda rasemik indanolün *Pseudomonas fluorescens*'ten elde edilen lipaz enzimi (Amano AK) yardımıyla kinetik ayrımını sağladıklarını ve ardından Mitsunobu

reaksiyonunu gerçekleştirdiklerini rapor etmişlerdir. İstenilen molekülü (S-2) %50'lik dönüştürme oranı, yüksek seçicilik ($E > 200$) ve %99'luk enantiyomerik aşırılıkla elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir;



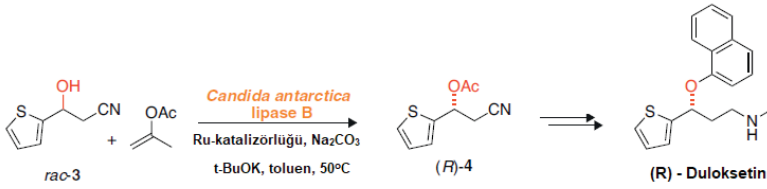
Şekil 19. Rasajilin mesilat sentezinde kullanılacak olan (S)-2 molekülünün lipaz ile elde edilmesi

Antidepresan İlaçlar

Duloksetin, presinaptik hücreleri hedef alan bir antidepresan ilaçtır. Serotonin ve noradrenalinin geri alımını inhibe eder. Böylece majör depresif bozukluğun tedavisinde kullanılır (Norman ve Olver, 2010). Duloksetinin kemoenzimatik sentezi için literatürde farklı kaynaklardan elde edilen enzimlerin kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır ve bu çalışmalarda yüksek enantiyomerik aşırılık ve iyi oranda verim bildirilmiştir (Simon, Mutti ve Kroutil, 2013; Kamal, Khanna, Bamu ve Krishnaji, 2003). Bu çalışmalarda Kamal vd. *Pseudomonas cepacia* kaynaklı enzimle çalışmışlar ancak %68 verim ve %44,4 enantiyomerik aşırılık elde etmişlerdir (Kamal, Khanna, Bamu ve Krishnaji, 2003). Aynı çalışmada kullandıkları lipaz enzimin diatomit ile immobilize ettiklerinde ise verim oranının %42'ye düştüğünü ancak enantiyomerik aşırılığın >%99'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise Chen vd. *Rhodospiridium toruloides* kaynaklı karbonil redüktaz enzimini kullanmış ve %60,2 verim ile %98,5 enantiyomerik aşırılık elde etmişlerdir (Chen, Liu, Lin ve Zheng, 2016: 85).

Träff vd. yaptıkları çalışmada DKR ile β -hidroksinitril türevi rasemik karışımdan CALB (*Candida antarctica* lipaz B) ve rutenyum katalizörlüğünde (R)-2-siyano-1-(tiyofen-2-il)etil asetat molekülünü %98'lik enantiyomerik aşırılık ve %87 verim ile elde ettiklerini bildirmişlerdir (Träff, Lihammar ve Bäckvall, 2011: 3918). 6 basamaklı reaksiyon sonrasında ise toplamda %37 verimle (R)-duloksetin elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir;



Şekil 20. Rasemik karışımından (*rac*-3), CALB kullanılarak önce (*R*)-2-siyano-1-(tiyofen-2-il)etil asetat [(*R*)-4] ve sonrasında da (*R*)-Duloksetin sentezlenmesi (Simon, Mutti ve Kroutil, 2013: 38)

Nonsteroidal Antienflamatuar İlaçlar

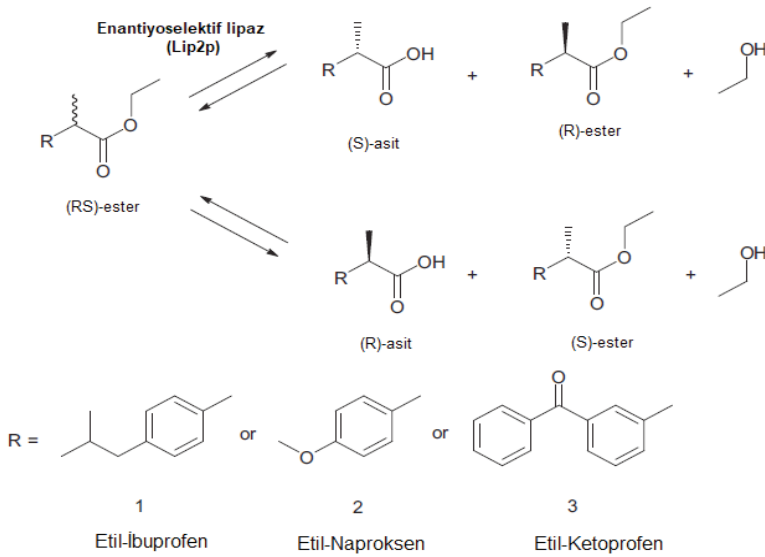
α -süstitüe aril ve alkil karboksilik asitler birçok ilacın sentezinde kullanılan önemli öncü maddelerdir (Gérard ve diğerleri, 2017: 433). Bu ilaçlar arasında 2-arilpropiyonik asit türevleri de vardır. Bu türevlerden 2-(4-izobütilfenil) propiyonik asit İbuprofen, 2-(6-metoksi-2-naftik) propiyonik asit Naproksen ve 2-(3-benzoilfenil) propiyonik asit Ketoprofen olarak bilinir. Bu ilaçlar baş ağrısı ve romatoid artrit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan nonsteroidal antienflamatuar ilaçlardır.

Bütün bu moleküller, karboksil grubunun α konumunda bir stereojenik merkez bulundurur. Bu da moleküllerin iki enantiyomerinin olmasını sağlar. Çoğu durumda enantiyomerlerden birisinin kullanılması tedavi için yeterlidir. Örneğin, ibuprofenin (S)-enantiyomeri, (R)-enantiyomerinden 160 kat; naproksenin (S)-enantiyomeri de (R)-enantiyomerinden 28 kat daha etkin olduğunu gösteren çalışmalar literatürde yer almaktadır (Adams, Bresloff ve Mason, 1976; Avgerinos ve Hutt, 1990; Battistel, Bianchi, Cesti ve Pina, 1991). Ketoprofenin ise (R)-enantiyomerinin önemli yan etkileri olduğu gösterilmiştir (Midha, McKay, Rawson ve Hubbard, 1998) ve bu yüzden tedavide (S)-enantiyomeri kullanılır. Bu moleküllerin aktif enantiyomerlerinin ayrılması ve tedavide kullanılması önemli bir ayrıcalıktır. Ancak bu durumu zorlaştıran bazı koşullar vardır. Saf enantiyomeri elde etmek için kullanılan klasik metotlardan kimyasal asimetrik sentez, stereoselektif kristallendirme veya kiral kromatografi genellikle pahalı uygulamalardır. Bu yüzden yüksek seçicilikteki enantioselektif enzimler, saf ve etkin enantiyomerin elde edilmesinde önemli avantajlar sunar.

Literatürde ibuprofenin rasemik karışımının hidroliz veya esterifikasyonla ayrılması için yapılan çalışmalar yer almaktadır. Bu çalışmalarda *Rhizomucor miehei*, *Carica papaya*, *Candida antarctica* ve *Candida rugosa* kaynaklı lipazlar kullanılmıştır (Habibi, Mohammadi ve Yousefi, 2013; Ng ve Tsai, 2006; Qin ve diğerleri, 2013; Lee, Kim, Kim ve Lee, 1995). Bu çalışmalar arasında Lee vd. en iyi sonucu

(E=247) elde etmiş ancak çalışmalarında yüksek oranda zehirli olan N,N-dimetilformamid kullanmışlardır. Habibi vd. farklı çözücülerde düşük E oranları (E=1,7-8,8) ve düşük enantiyomerik aşırılık (%2,8-78,8) elde ettiklerini; Son Ng vd. düşük E oranları (E=8-14) elde ettiklerini ve Qin vd. düşük E oranı (E=31) elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Naproksenin rasemik karışımının ayrımı için yaptıkları çalışmada *Candida rugosa* kaynaklı lipaz ile Steenkamp ve Brady %99 enantiyomerik aşırılık, %40 dönüşüm ve E=397 değeri ile literatürdeki en başarılı çalışmayı bildirmişlerdir (Steenkamp ve Brady, 2003). Steenkamp ve Brady, 2008’de yaptıkları bir diğer çalışmada ise *Bacillus subtilis* kaynaklı karboksilesteraz NP ile %46,9 dönüşüm sağlamış, %99 enantiyomerik aşırılık ve yüksek E oranına (E=500) ulaşmışlardır (Steenkamp ve Brady, 2008). Gérard vd. yaptıkları çalışmada bir mantar türü olan *Yarrowia lypolitica* kaynaklı ve daha önce düşük enantiyoseçicilik sunduğu belirtilmiş olan (Steenkamp ve Brady, 2008) lipaz (Lip2p) enziminin üzerinde gen mühendisliği çalışmaları gerçekleştirdiklerini ve bunun sonucunda başarılı sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir (Liu, Wang ve Tan, 2009). Reaksiyon şeması ise aşağıdaki gibidir;



Şekil 21. İbuprofen, Naproksen ve Ketoprofen’in etil ester rasemik karışımlarının Lip2p ile kemoenzimatik olarak enantiyomerlerine ayrılması

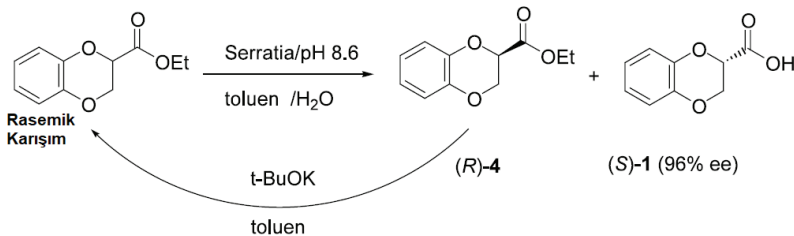
α_1 – Seçici Adrenerjik Bloker İlaçlar

Doksazosin, hipertansiyon ve benign prostat hiperplazisinde kullanılan en önemli α_1 – seçici adrenerjik blokerlerdendir (Shrivastava, Jain ve Varshneya, 2014: 110). Preklinik çalışmalar doksazosinin (S)-enantiyomerinin baş dönmesi gibi yan etkileri daha az gösterdiğini ve rasemik karışıma göre benign prostat hiperplazisinde daha etkili olduğunu göstermiştir (Fang ve diğerleri, 2001: 2169).

Fang vd. enantiyomerik olarak saf ürünün elde edilebilmesi için esterazların kullanıldığı bir yöntem tanımlamışlardır (Fang ve diğerleri, 2001). (S)-1,4-benzodioksan-2-karboksilik asit [(S)-1], (S)-Doksazosinin optik olarak saf elde edilmesinde anahtar molekül olarak kullanıldığı ve bu molekülün optikçe ayırımında da *Serratia marcescens* kaynaklı bir esteraz (SmarE) kullanıldığı belirtilmiştir. Bu enzimin rasemik halde bulunan etil (S)-1,4-benzodioksan-2-karboksilatı yüksek aktivite ile (E değeri 273) hidroliz etmeyi başardığı bildirilmiştir.

Enzimatik hidroliz tepkimesinde iki sıvı fazlı bir sistemin kullanıldığının ve tepkimenin pH 8,6 – 9 arasında gerçekleştirildiğinin belirtildiği çalışmada tepkimeye dönüşmeyen (R)-etil ester, tekrar tekrar rasemik hale getirilmesi ve döngü halinde olabildiğince verimli derecede (S)-enantiyomerin elde edilmesinin sağlandığı belirtilmiştir. Elde edilmek istenen (S)-1 molekülü etil asetat ile birlikte pH'nın 0,3 – 1'e ayarlanmasıyla sıvı fazdan ekstre edilmiş ve böylece %41-43'lük bir verim ve %95,6-98,4'lük enantiyomerik aşırılıkla (S)-1 ekstre edildiği bildirilmiştir. Kristalizasyon sonucunda ise %21-25'lik verim ve %99,8'lik enantiyomerik aşırılık ile enantiyomerik olarak saf (S)-1'in elde edildiği rapor edilmiştir. Ardından da farklı kimyasal basamaklarla (S)-Doksazosin sentezi gerçekleştirilmiştir.

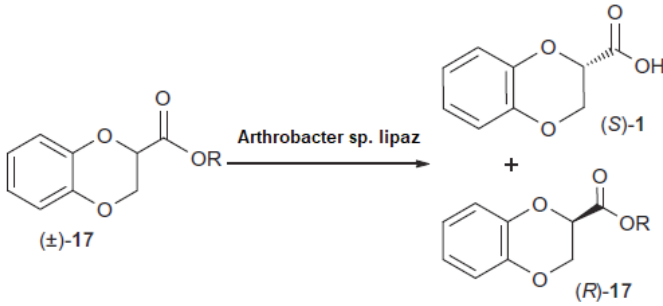
Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir;



Şekil 22. *Serratia marcescens* kaynaklı esteraz enzimi (SmarE) yardımıyla doksazolin sentezinde kullanılan önemli öncü maddelerden olan (S)-1,4-benzodioksan-2-karboksilik asitin [(S)-1] sentezi

Rouf vd. doksazosinin kemoenzimatik sentezinde (S)-1,4-benzodioxan-2-karboksilik asidin [(S)-1] saf olarak elde edilebilmesi için *Arthrobacter sp.* kaynaklı lipaz enzimini (ABL) kullandıklarını bildirmişlerdir (Rouf ve diğerleri, 2012). Gerçekleştirdikleri reaksiyonda 258 mmol (50 g/L) substrat konsantrasyonunda 4 saat sonucunda %42 dönüşüm ve %99 enantiyomerik aşırılıkla (S)-1'i optik olarak saf halde elde etmeyi başarmışlardır. Çalışmalarında E değerinin de 535 olduğunu bildirmişlerdir.

Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir;



Şekil 23. (S)-1'in *Arthrobacter sp.* kaynaklı lipaz enzimi yardımıyla optik olarak saf halde elde edilmesi

B. Glikozilazlar (EC 3.2)

Besin Takviyeleri

Ginseng en çok bilinen geleneksel tıbbi bitkilerden birisidir ve temel olarak bağışıklık sistemini koruyarak hastalıklara veya mikrobiyal saldırılara karşı dirençli olmayı sağlar (Kang ve Min, 2012). Ginsenozidler, ginsengin etkilerinin büyük kısmından sorumlu olan ve *Panax* türlerine özgü maddelerdir. Ginsenozidler; Panaxadiol (Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Rg3, Rh2, Rs1), Panaxatriol (Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh1) ve oleanolik asit grubu (Ro) içerirler (Yaman ve Taşdemir, 2017: 214). Major ginsenozidlerden nadir bulunan ginsenozidlerin üretiminin daha önce ısıtma, asitle ve bazla muamele gibi yöntemlerle gerçekleştirildiğine dair literatürler mevcuttur (Kim ve diğerleri, 2000; Bae, Han, Kim ve Kim, 2004; Yun, Lee, Lee ve Yun, 2001).

An vd. *Terrabacter ginsenosidimutans* kaynaklı yeni bir β -glukozidaz enzimi ile yaptıkları çalışmada, bu enzimin Rb1 ginsenozidinin farmakolojik olarak daha aktif olan nadir gypenozid XVII, gypenozid LXXV ve C-K

ginsenozidlerine dönüşümünü katalizlediğini göstermişlerdir (An ve diğerleri, 2010).

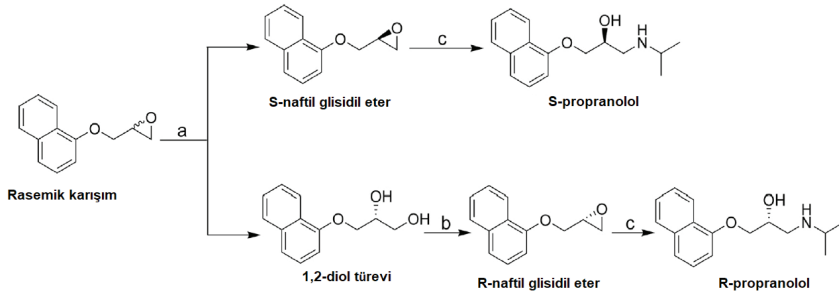
C. Eter Bağlarına Etki Edenler (EC 3.3)

Beta Bloker İlaçlar

İlaç sektöründe daha az yan etki ve daha başarılı tedaviler için rasemik karışımlardan ziyade etkili enantiyomerlerin kullanımı önem kazanmaktadır. Bu doğrultuda biyolojik olarak aktif bir beta bloker ilaç olan propranololün R- ve S- enantiyomerlerinin ayrımı için epoksit hidrolazların kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir (Kong, Yu, Yang, Zhou, Zeng ve Xu, 2015: 280).

Daha önce yapılan çalışmalarda (S)-propranololün sentezi için pirolidin bifosfin ligandlarının rodyum ile kompleksinin kullanımının en etkili yol olduğu belirtilmişti (Sakuraba, Takashi, Takeda ve Achiwa, 1995). Ancak ilerleyen yıllarda kemoenzimatik sentezler yaygınlaşmaya başlamıştır. Bu amaçla literatürde propranololün kemoenzimatik sentezi için *Pseudomonas cepacia*, *Candida rugosa* ve *Rhizopus arrhizus* kaynaklı lipaz enzimlerinin kullanıldığı çalışmalar bildirilmiştir (Kamal, Sandbhor ve Shaik, 2004; Bevinakatt ve Banerji, 1991; Darnle, Patil ve Salunkhe, 1999). Bu çalışmalarda Kamal vd. %95 enantiyomerik aşırılıkla (S)-propranolol elde ettiklerini belirtirken Darnle vd. %78-88 enantiyomerik aşırılık ve %38-43 verimle (S)-propranolol elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bevinakatti ve Banerji ise *Candida rugosa* kaynaklı lipazın zayıf enantiyoseçiciliğinin (E=3-6) olduğunu ortaya koymuşlardır.

Wang vd. (S)-propranololün sentezinde önemli bir öncü madde olan (R)-1-kloro-3-(1-naftiloksi)-2-propanolün enantiyoseçici transesterifikasyonunda ultrasona maruz bıraktıkları *Pseudomonas sp.* kaynaklı lipazı kullandıklarını bildirmişlerdir (Wang ve diğerleri, 2012). Wang vd. ultrasondan etkilenen enzimin aktivitesinin $43,3 \pm 3,7$ 'den $78,3 \pm 3,2 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dk}^{-1}$ değerine yükseldiğini ve enantiyoseçiciliğinin de (E değerinin) 87 ± 7 'den 98 ± 6 'ya yükseldiğini ortaya koymuşlardır. Kong vd. yaptıkları çalışmada *Bacillus megaterium* kaynaklı epoksit hidrolaz enzimini (BmEH_{F128T}) kullanmış ve rasemik karışım halinde olan α -naftil glisidil eterden yüksek optik saflıkta ayırım gerçekleştirmişlerdir (Kong ve diğerleri, 2015). (S)-enantiyomeri ve (R)-enantiyomerini sırasıyla %45,3 ve %42,4 verim elde ederek %99'dan daha yüksek bir enantiyomerik aşırılığa da ulaştıklarını bildirmişlerdir. Sonraki basamaklar ile de bu maddelerin (R) ve (S)-propranolole sırasıyla %31,4 ve %44,8 oranında dönüştükleri ortaya konmuştur. Böylece çevre dostu ve yeni bir sentez yolu, bu çalışma ile sunulmuştur (Şekil 24).



Şekil 24. Rasemik karışımdan (α -naftil glisidil eter) *Bacillus megaterium* kaynaklı epoksit hidrolaz (*BmEH_{F128T}*) yardımıyla R- ve S- propranolol eldesi.

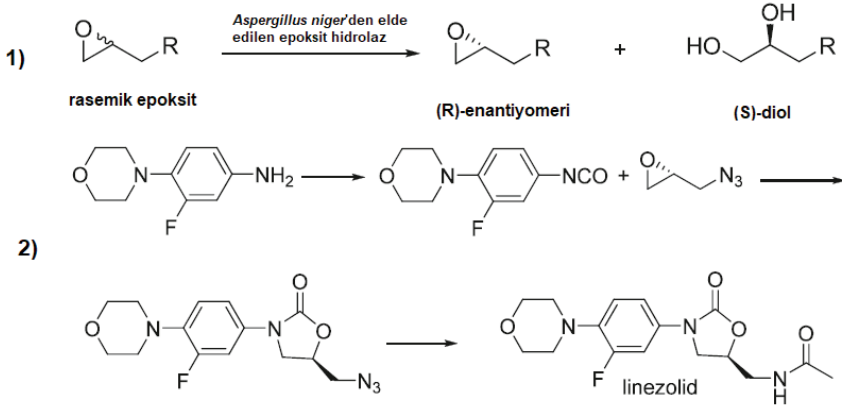
Antibiyotik İlaçlar

Linezolid, bazı ilaçlara dirençli olan birçok gram-pozitif bakterilere karşı etkinliği kanıtlanmış oksazolidinon türevi bir antibiyotiktir (Dotis, Iosifidis, Ioannidou ve Roilides, 2010). Etkinliğini seçici olarak bakterinin protein sentezini önleyerek gösterir. Oral biyoyararlanımı iyi bir ilaçtır ve ciddi enfeksiyonlarda oral tedaviden parenteral tedaviye geçilebilir.

Glisidil azid, değerli bir kiral C3 epoksittir (Chen, Shen, Wei ve Zhu, 2013: 2614). Moleküldeki oksiran karbon atomları birçok nükleofilik gruba karşı yüksek aktivite gösterir. Ayrıca amin grupları için prekürsör durumundadır. Bundan dolayı optik olarak saf haldeki glisidil azit, çeşitli moleküllerin sentezinde kullanılabilir. Literatürde (R)-glisidil azidin eldesi için *Agrobacterium radiobacter* kaynaklı haloalkol dehidrojenazın kullanıldığı bir çalışma mevcuttur. Ancak literatürde rasemik epoksitlerin enantiyomerik olarak ayırımında epoksit hidrolazların yüksek saflıkta ürünler verdiğini ortaya koyan çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Besse ve Veschambre, 1994; Cleji, Archelas ve Furstoss, 1998; Hellström, Steinreiber, Mayer ve Faber, 2001).

Chen vd. yaptıkları çalışmada bir antibiyotik olan linezolidin sentezinde kullanılacak öncü maddelerden (R)-glisidil azidin enantiyomerik olarak saf halde elde edilmesi için *Aspergillus niger* kaynaklı epoksit hidrolaz enzimini kullandıklarını bildirmişlerdir (Chen ve diğerleri 2013) Biyotransformasyon için sağlanan uygun koşullar sayesinde %95'ten fazla enantiyomerik aşırılık ile (R)-glisidil azidi sentezlediklerini belirtmişlerdir. ($E > 20$) Enantiyomerik olarak ayrılmış olan glisidil azidden de ileri kimyasal basamaklar ile linezolid sentezlendiği çalışma sonucunda bildirilmiştir.

Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir;



Şekil 25. 1) *A. niger*'den elde edilen epoksit hidrolazın gerçekleştirdiği rasemik glisidil azitin enantiyomerik olarak seçici hidrolizi. ($R = -NH_3$) 2) (*R*)-glisidil azitin yer aldığı Linezolid sentezi.

D. Peptit Bağlarına Etki Edenler (Peptidazlar) (EC 3.4)

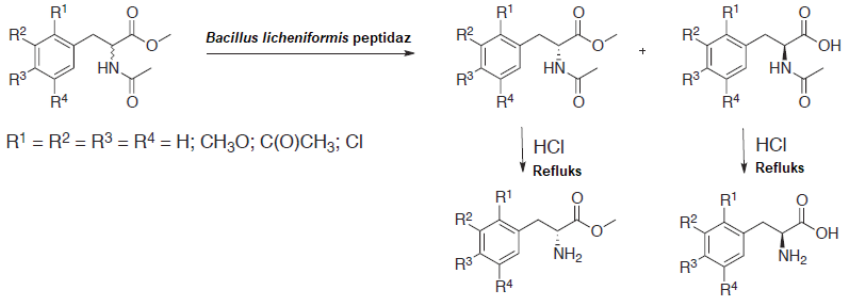
Proteozom İnhibitörleri

Proteozomlar, birçok proteinin yıkımında görev alan önemli moleküllerdir (Topçuoğlu ve Arslan, 2008). Proteozomların görev aldığı önemli mekanizmalar arasında apoptozisi önleme, hücre döngüsünü düzenleme ve kanser hücresinin gelişimi de vardır. Bu moleküllerin baskılanması ise kanser tedavisinde kullanılmaya başlayan yeni bir yaklaşımdır.

Laumen ve Ghisalba, yaptıkları çalışmada *Bacillus licheniformis* kaynaklı bir peptidaz enziminin (Alkalase®) geniş çaplı üretimde kullanılabilecek kadar yüksek aktiviteye sahip olduğunu ve proteozom inhibitörlerinin sentezinde kullanılabilecek fenilalanin türevlerinin elde edilmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Laumen ve Ghisalba, 2006: 194).

Laumen ve Ghisalba, kullanacakları substratın eldesinde daha önce literatürde belirtilen dietil asetamidomalonat kondenzasyonunu kullanmışlardır (Rao, Burdett, Cessac, DiNunno, Peterson ve Kim, 1987). Enzimin sentezde yüksek seçicilik ($E=150$) gösterdiği ve elde edilen ürünlerden (*R*)-*N*-asetil amino asit esterinin %49 (40 gram) verim ve %91,3 enantiyomerik aşırılık ile, (*S*)-*N*-asetil amino asidin %25 (168 gram) verim ve %95,8 enantiyomerik aşırılık ile oluştuğu bildirilmiştir.

Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir;



Şekil 26. *Bacillus licheniformis* kaynaklı peptidazın yardımıyla fenilalanin türevlerinin eldesi (Schwarz, Rosenthal, Snajdrova, Kittelmann ve Lütz, 2020)

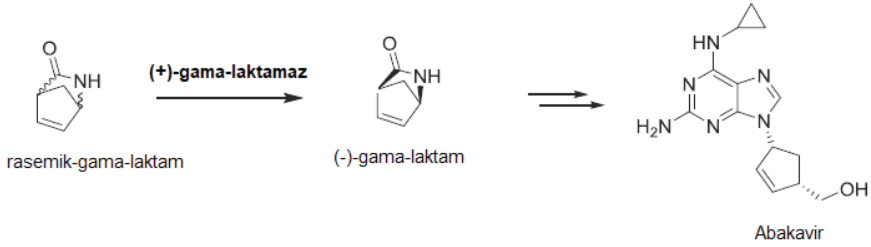
E. Peptit Bağları Dışındaki C-N Bağlarına Etki Edenler (EC 3.5)

Antiviral İlaçlar

Abakavir, geniş kullanımı olan ve İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü (HIV) tedavisinde kullanılan bir nükleozid reverse transkriptaz inhibitörüdür (Ann ve diğerleri, 2017). Son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu yeni (+)-gama-laktamazlar keşfedilmiştir. Bu enzimler optikçe saf (-)-gama-laktamların üretiminde kullanılmıştır. (-)-gama-laktam, antiviral ilaçlardan olan abakavirin sentezi için önemli bir öncü maddedir.

Zhu vd. yaptıkları çalışmada *Bradyrhizobium japonicum* USDA 6'dan gen tanımlamasıyla yeni bir (+)-gama-laktamaz keşfettiklerini bildirmişlerdir (Zhu, Gong, Song, Gao ve Zheng, 2012). Bu ekipte yer alan isimlerden olan S. Gao vd. 2015 yılında yaptıkları çalışmada daha önce keşfettikleri *Bradyrhizobium japonicum* kaynaklı (+)-gama-laktamaz enzimini kullanarak abakavir için anahtar öncü madde olan 2-azabisiklo[2,2,1]hept-5-en-3-on molekülünün enantiyomerlerini elde etmeyi başardıklarını belirtmişlerdir (Gao, Zhu, Huang, Lu ve Zheng, 2015). Çalışma sonucunda ise yüksek verim (>%49,9) ve yüksek enantiyomerik aşırılık (>%99,8) ile (-)-gama-laktam elde ettiklerini ortaya koymuşlardır. Optik olarak saf bir şekilde elde edilen (-)-gama-laktam üzerinden yürütülen bir takım kimyasal tepkimeler sonucunda da antiviral etkili abakavir sentezlenebilmiştir.

Reaksiyon şeması ise aşağıdaki gibidir;



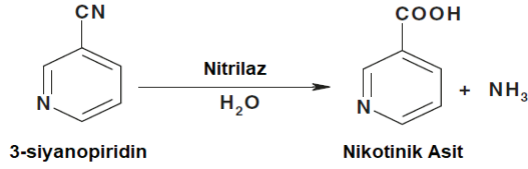
Şekil 27. Rasemik karışım halinde bulunan gama-laktamdan, (+)-gama-laktamaz kullanılarak abakavir sentezinde kullanılacak olan optik olarak saf (-)-gama-laktam eldesi (Sun ve diğerleri, 2018: 1279)

Nikotinik Asit

Nikotinik asit, niyasin ya da B3 vitamini olarak da bilinen önemli bir farmasötik maddedir (Gong, Lu, Li, Shi, Zhou ve Xu, 2012: 12). Nikotinik asit elde etmek için nikotin potasyum dikromat ile oksitlenmesi 100 yılı aşkın bir süredir kullanılan yöntem olarak literatürde yer almaktadır (Chuck, 2000). Mathew vd. *Rhodococcus rhodochrous* J1'in serbest hücrelerindeki nitrilazı kullanarak 3-siyanopiridinden %100 dönüşümle 172 g/L nikotinik asit elde ettiklerini bildirmiştir (Mathew, Nagasawa, Kobayashi ve Yamada, 1988). Almatawah ve Cowan, *Bacillus pallidus* kaynaklı kalsiyum aljinatla immobilize edilmiş nitrilaz enzimi ile 3-siyanopiridinden %100 oranda dönüşümle nikotinik asit elde ettiklerini belirtmişlerdir (Almatawah ve Cowan, 1999: 722). Sharma vd. *Nocardia globerula* kaynaklı nitrilaz enzimi ile 3-siyanopiridinden %98,6'lık dönüşümle nikotinik sentezlediklerini rapor etmişlerdir (Sharma, Sharma ve Kumar, 2006).

Prasad vd. yaptıkları çalışmada nikotinik asitin 3-siyanopiridinden sentezlenmesi için *Rhodococcus sp.* kaynaklı nitrilaz enzimini kullandıklarını belirtmişlerdir (Prasad, Misra, Jangir, Awasthi, Raj ve Bhalla, 2007). Sağlanan bu optimal koşullar altında 1,6 M 3-siyanopiridinin %94 dönüşüm oranıyla başarılı bir şekilde nikotinik aside dönüştürüldüğü bildirilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar ile yapılmış olan bu çalışma, şimdiye kadar kullanılan enzim miktarına oranla en yüksek nikotinik asit üretiminin gerçekleştirildiği çalışma olmuştur.

Reaksiyon şeması ise aşağıdaki gibidir;



Şekil 28. *Rhodococcus sp. Türünden elde edilen Nitrilaz enziminin kullanılmasıyla 3-siyanopiridinden nikotinik asit eldesi (Gong ve diğerleri, 2012: 12)*

Enzimler sadece canlıdaki görevleri ile değil, özellikle ilaçların sentezlenmesinde birer katalizör olarak kullanılmalarıyla da hayatın her alanında yer almaktadırlar. Kimyasal sentezlerin fazla zaman alması, çok sayıda ve pahalı kimyasal maddelere ihtiyaç duyulması, ilacın veya çevrenin zehirli maddelerle kontaminasyonuna sebep olması, veriminin düşük olması ve çoğu zaman istenilen enantiyomerin elde edilmesinin zor olması gibi nedenlerle alternatif sentez yolları araştırılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda hidrolaz enzimlerinin ilaçların sentezinde etkin bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiştir.

Bu amaçla özellikle 2000’li yıllardan itibaren çeşitli kaynaklardan elde edilen hidrolaz enzimleri ile çalışılmıştır. Bu çalışmalarda hidrolaz enzimleri kullanılarak antikonvülsan ilaçlar, immünosüpresif ajanlar, parkinson ilaçları, antidepresan ilaçlar, nonsteroidal antienflamatuar ilaçlar, α_1 -seçici adrenerjik bloker ilaçlar, besin takviyeleri, beta bloker ilaçlar, antibiyotik ilaçlar, proteozom inhibitörleri, antiviral ilaçlar ve nikotinik asit sentezlenmiştir. Bu sentezlerde çeşitli kaynaklardan elde edilen hidrolaz enzimlerinden ester bağlarına etki eden lipazlar, glikozilaz enzimlerinden olan glikozidazlar, eter bağlarına etki eden epoksit hidrolazlar, peptit bağlarına etki eden peptidazlar, (+)-gama-laktamlar ve nitrilazlar kullanılmıştır.

Bu çalışmalar ile istenilen enantiyomerin kolaylıkla elde edilebildiği gösterilmiştir. Ağır metallerle kontaminasyonun da oluşmaması ek saflaştırma basamaklarına olan ihtiyacı ortadan kaldırmıştır. Kısacası enzimlerin kullanıldığı sentezlerin daha verimli, daha kısa süreli, daha ekonomik, tekrarlanabilir ve daha çevre dostu olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Hydrolase Introduction. (t.y.). *Creative Enzymes* içinde. Erişim adresi https://www.creative-enzymes.com/resource/hydrolase-introduction_21.html
2. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB) (2019). *The Enzyme List Class 3 – Hydrolases*.
3. Williams, F.M. (1985) Clinical significance of esterases in man. *Clin. Pharmacokinet.*, 10(5), 392-403.
4. Lightning, L. Human esterases: Chemical and Biochemical Considerations [Powerpoint slides] Erişim adresi <https://www.slideshare.net/lukelightning/human-esterases-chemical-and-biochemicalconsiderations>
5. Pirahanchi, Y. ve Sharma, S. (2020) Biochemistry, Lipase. *Statpearls*. Erişim adresi <https://www.statpearls.com/ArticleLibrary/viewarticle/24303>
6. Beselin , A. (2005). *Optimization of lipase production in Burkholderia glumae*. (Doktora Tezi, Ruhr-Universität Bochum, Almanya). Erişim adresi <https://hss-opus.ub.ruhr-uni-bochum.de/opus4/frontdoor/index/index/year/2018/docId/1687>
7. Kötzler, M.P., Hancock, S.M. ve Withers, S.G. (2014) Glycosidases: Functions, Families and Folds. *eLS*.
<https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0020548.pub2>
8. Glycoside Hydrolase. (t.y.). *Wikiwand* içinde 08.05.2021 tarihinde https://www.wikiwand.com/en/Glycoside_hydrolase adresinden erişildi.
9. Morisseau, C., Pakhomova, S., Hwang, S.H., Newcomer, M.E. ve Hammock, B.D. (2013) Inhibition of soluble epoxide hydrolase by fulvestrant and sulfoxides. *Bioorg Med Chem Lett.*, 23(13), 3818-3821.
10. Epoxide hydrolases (Conjugation and Transport Processes) (Human Drug Metabolism). (t.y.). Erişim adresi <http://what-when-how.com/human-drug-metabolism/epoxide-hydrolases-conjugation-and-transport-processes-human-drug-metabolism/>
11. Peptidase. (2017). *School of Biomedical Sciences Wiki* içinde 31.10.2020 tarihinde <https://teaching.ncl.ac.uk/bms/wiki/index.php/Peptidase> adresinden erişildi.
12. Donohue, T.M. ve Osna, N.A. (2003). Intracellular Proteolytic Systems in Alcohol-Induced Tissue Injury. *Alcohol Res Health.*, 27(4), 317-324.
13. Weber, B.W., Kimani, S.W., Varsani, A., Cowan, D.A., Hunter, R., Venter, G.A., Gumbart, J.C. ve Sewell, B.T. The Mechanism of the Amidases. *J. Biol Chem.*, 288(49), 28514-28523.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.503284>

14. Amidase. (t.y.). *Wikipedia* içinde 31.10.2020 tarihinde <https://en.wikipedia.org/wiki/Amidase> adresinden erişildi.
15. Gong, J.S., Lu, Z.M., Li, H., Shi, J.S., Zhou, Z.M. ve Xu, Z.H. (2012). Nitrilases in nitrile biocatalysis: recent progress and forthcoming research. *Microbial Cell Factories*, 11(142)
16. Heinemann, U., Engels, D., Bürger, S., Kiziak, C., Mattes, R. ve Stolz, A. Cloning of a Nitrilase Gene from the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. Strain PCC6803 and Heterologous Expression and Characterization of the Encoded Protein. *Microbiology*, 69(8), 4359-4366.
17. Helikaz. (t.y.). *Wikipedia* içinde 15.11.2020 tarihinde <https://tr.wikipedia.org/wiki/Helikaz> adresinden erişildi.
18. DNA Replication. (t.y.). *Bioninja* içinde. Erişim adresi <https://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-2-molecular-biology/27-dna-replication-transcri/dna-replication.html>
19. Henderson, P.D. ve Toone, E.J. (1999). 3.13. Aldolases. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, 3, 367-440.
20. Atrazin. (t.y.). *Wikipedia* içinde 15.11.2020 tarihinde <https://en.wikipedia.org/wiki/Atrazine> adresinden erişildi.
21. Zemlicka, J. (2002). Lipophilic phosphoramidates as antiviral pronucleotides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1587, 276-286.
22. Enzyme 3.10.1.2. (t.y.). *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)* içinde 15.11.2020 tarihinde https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?3.10.1.2+R02564 adresinden erişildi.
23. Kulakova, A.N., Wisdom, G.B., Kulakova, L.A. ve Quinn, J.P. (2003). The Purification and Characterization of Phosphonopyruvate Hydrolase, a Novel Carbonyl-Phosphorus Bond Cleavage Enzyme from *Variovorax* sp. Pal2. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(26), 23426-23431.
24. Trithionate. (t.y.). *Wikipedia* içinde 15.11.2020 tarihinde <https://fr.wikipedia.org/wiki/Trithionate> adresinden erişildi.
25. Schürmann, M., Meijers, R., Schneider, T., Steinbuechel, A. ve Ciani, M. (2015). 3-Sulfinopropionyl-coenzyme A (3SP-CoA) desulfonase from *Advenella mimigardefordensis* DPN7T: crystal structure and function of a desulfonase with an acyl-CoA dehydrogenase fold. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 71, 1360-1372.
26. Sheldon, R.A. (1992). Organic synthesis- past,present and future. *Chemistry and industry*, 23, 903-906.
27. Anastas, P.T. ve Warner, J.C. (1998). Green Chemistry: Theory and Practice. *Oxford University Press*, 30.
28. Sun, H., Zhang, H., Ang, E.L. ve Zhao, H. (2018). Biocatalysis for the synthesis of pharmaceuticals and pharmaceutical intermediates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26, 1275-1284.

29. Li, X.J., Zheng, R.C. ve Ma, H.Y. (2014). Engineering of *Thermomyces lanuginosus* lipase Lip: creation of novel biocatalyst for efficient biosynthesis of chiral intermediate of Pregabalin. *Appl Microbiol Biotechnol*, 98, 2473-2483.
30. Martinez, C., Hu, S., Dumond, Y., Tao, J., Kelleher, P. ve Tully, L. (2008). Development of a Chemoenzymatic Manufacturing Process for Pregabalin. *Organic Process Research & Development*, 12, 392-398.
31. Ding, X., Tang, X.L., Zheng, R.C. ve Zheng, Y.G. (2018). Efficient Biocatalytic Synthesis of Chiral Intermediate of Pregabalin Using Immobilized *Talaromyces thermophilus* Lipase. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6192059>
32. Numerof, R.P., Simpson, P.J. ve Tanaka, R. (1997). Tryptase inhibitors: a novel class of anti-inflammatory drugs. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 6(7), 811-817.
33. Toone, E. ve Jones, B. (1987). Enzymes in organic synthesis. 40.' Evaluation of the enantioselectivity of the pig liver esterase catalyzed hydrolyses of racemic piperidine carboxylic acid esters. *Can. J. Chem.*, 65, 2722.
34. Herradon, B. ve Valverde, S. (1995). Biocatalysis in Organic Synthesis. 6. First Use of an Acylase as Catalyst in the Irreversible Transacylation of Alcohols and Amines: Application to Selective Transformations1. *Synlett*, 6, 599-602.
35. Wirz, B. ve Walther, W. (1992). Enzymatic preparation of chiral 3-(hydroxymethyl)piperidine derivatives. *Tetrahedron: Asymmetry*, 3(8), 1049-1054.
36. Goswami, A., Howell, M.H., Hua, E.Y., Mirfakhrae, K.D., Soumeillant, M.C., Swaminathan, S., Qian, X., Quiroz, F.A., Vu, T.C., Wang, X., Zheng, B., Kronenthal, D.R. ve Patel, R.N. (2001). Chemical and Enzymatic Resolution of (R,S)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-3-hydroxymethylpiperidine. *Organic Process Research & Development*, 5, 415-420.
<https://doi.org/10.1021/op010210b>
37. Bezdorov, A.M. ve Zagustina, N.A. (2016). Enzymatic Biocatalysis in Chemical Synthesis of Pharmaceuticals (Review). *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya*, 52(3), 257-271.
38. Paravidino, M. ve Hanefeld, U. (2011). Enzymatic acylation: assessing the greenness of different acyl donors. *Green Chem*, 11, 2651.
39. Spranger, B., Pirenne, J., van Etten, E., Waer, M., Mathieu, C. ve Billiau, AD. (2008). Chapter 21 - Other Forms of Immunosuppression. *Kidney Transplantation (Sixth Edition)*, 333-349.
40. Umeda, Y., Moriguchi, M., Ikai, K., Kuroda, H., Nakamura, T., Fujii, A., Takeuchi, T. ve Umezawa, H. (1987). Synthesis and Antitumor Activity of

- Spergualin Analogues. *The Journal of Antibiotics*, 38(7), 886-898. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.38.886>
41. Patel, R.N., Banerjee, A. ve Szarka, L.J. (1997). Stereoselective acetylation of racemic 7-[N,N'-bis-(benzyloxycarbonyl)-N-(guanidinoheptanoyl)]- α -hydroxyglycine. *Tetrahedron: Asymmetry*, 8(11), 1767-1771.
42. Maeda, K., Umeda, Y. ve Saino, T. (1993). Synthesis and Background Chemistry of 15-Deoxyspergualin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 685(1), 123-135.
43. Nayak, L. ve Henchcliffe, C. (2008). Rasagiline in treatment of Parkinson's disease. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 4(1), 11-20.
44. Rabey, J.M., Sagi, I., Huberman, M., Melamed, E., Korczyn, A., Giladi, N., Inzelberg, R., Djaldetti, R., Klein, C., Berecz G. ve Rasagiline Study Group. (2000) Rasagiline mesylate, a new MAO-B inhibitor for the treatment of Parkinson's disease: a double-blind study as adjunctive therapy to levodopa. *Clin Neuropharmacol.*, 23(6), 324-330. <https://doi.org/10.1097/00002826-200011000-00005>
45. Fonseca, T.S., Silva, M.R., Oliviera, M.C.F., Lemos, T.L.G., Marques, R.A. ve Mattos, M.C. (2015). Chemoenzymatic synthesis of rasagiline mesylate using lipases. *Applied Catalysis A: General*, 492(2015), 76-82.
46. Gutman, A.L., Meyer, E., Kalerin, E., Polyak, F. ve Sterling, J. (1992). Enzymatic resolution of racemic amines in a continuous reactor in organic solvents. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(7), 760-767.
47. Päiviö, M., Perkiö, P. ve Kanerva, L.T. (2012). Solvent-free kinetic resolution of primary amines catalyzed by *Candida antarctica* lipase B: effect of immobilization and recycling stability. *Tetrahedron: Asymmetry*, 23(3-4), 230-236.
48. Ma, G., Xu, Z., Zhang, P., Liu, J., Hao, X., Ouyang, J., Liang, P., You, S. ve Jia, X. (2014). A Novel Synthesis of Rasagiline via a Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution. *Org. Process Res. Dev.*, 14(10), 1169-1174. <https://doi.org/10.1021/op500152g>
49. Norman, T.R. ve Olver, J.S. (2010). Continuation treatment of major depressive disorder: is there a case for duloxetine?. *Drug Des Devel Ther.*, 4, 19-31.
50. Träff, A., Lihammar, R. ve Bäckvall, J.E. (2011). A Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution Approach to Enantiomerically Pure (R)- and (S)-Duloxetine. *J. Org. Chem.*, 76, 3917-3921.
51. Simon, R.C., Mutti, F.G. ve Kroutil, W. (2013). Biocatalytic synthesis of enantiopure building blocks for pharmaceuticals. *Drug Discovery Today: Technologies*, 10(1).
52. Kamal, A., Khanna, G.B.R., Bamu, R. ve Krishnaji, T. (2003). Chemoenzymatic synthesis of duloxetine and its enantiomer: lipase-

- catalyzed resolution of 3-hydroxy-3-(2-thienyl) propanenitrile. *Tetrahedron Letters* 44, 4783-4787.
53. Chen, X., Liu, Z.Q., Lin, C.P. ve Zheng, Y.G. (2016). Chemoenzymatic synthesis of (S)-duloxetine using carbonyl reductase from *Rhodospiridium toruloide*. *Bioorganic Chemistry*, 65: 82-89.
 54. Gérard, D., Guérault, M., Casas-Godoy, L., Condoret, J.S., André, I., Marty, A. ve Duquesne, S. (2017). Efficient resolution of profen ethyl ester racemates by engineered *Yarrowia lipolytica* Lip2p lipase. *Tetrahedron: Asymmetry*, 28, 433-441.
<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2017.01.014>
 55. Adams, S.S., Bresloff, P. ve Mason, C.G. (1976). Pharmacological differences between the optical isomers of ibuprofen: evidence for metabolic inversion of the (—)-isomer. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 28(3): 256-257.
 56. Avgerinos, A. ve Hutt, A.J. (1990). Interindividual variability in the enantiomeric disposition of ibuprofen following the oral administration of the racemic drug to healthy volunteers. *Chirality*, 2(4), 249-256.
 57. Battistel, E., Bianchi D., Cesti P. ve Pina C. (1991). Enzymatic resolution of (S)-(+)-naproxen in a continuous reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 38(6), 659-664.
 58. Midha, K.K., McKay, G., Rawson, M.J. ve Hubbard, J.W. (1998). The Impact of Stereoisomerism in Bioequivalence Studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87(7), 707-802.
 59. Habibi, Z., Mohammadi, M. ve Yousefi, M. (2013). Enzymatic hydrolysis of racemic ibuprofen esters using *Rhizomucor miehei* lipase immobilized on different supports. *Process Biochemistry*, 48, 669-676.
 60. Ng, I.S. ve Tsai, S.W. (2006). Investigation of lipases from various *Carica papaya* varieties for hydrolysis of olive oil and kinetic resolution of (R,S)-profen 2,2,2-trifluoroethyl thioesters. *Process Biochemistry*, 41, 540-546.
 61. Qin, B., Liang, P., Jia, X., Zhang, X., Mu, M., Wang, X.Y., Ma, G.Z., Jin, D.N. ve You, S. (2013) Directed evolution of *Candida antarctica* lipase B for kinetic resolution of profen esters. *Catalysis Communications*, 38, 1-5.
<https://doi.org/10.1016/j.catcom.2013.03.040>
 62. Lee, W.H., Kim, K.J., Kim, M.G. ve Lee, S.B. (1995) Enzymatic Resolution of Racemic Ibuprofen Esters: Effects of Organic Cosolvents and Temperature. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80(6), 613-615.
 63. Steenkamp, L. ve Brady, D. (2003). Screening of commercial enzymes for the enantioselective hydrolysis of R,S-naproxen ester. *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 472-477.

64. Steenkamp, L. ve Brady, D. (2008). Optimisation of stabilised Carboxylesterase NP for enantioselective hydrolysis of naproxen methyl ester. *Process Biochemistry*, 43, 1419-1426.
65. Liu, Y., Wang, F. ve Tan, T. (2009). Cyclic Resolution of Racemic Ibuprofen via Coupled Efficient Lipase and Acid-Base Catalysis. *Chirality*, 21(3), 349-353.
66. Shrivastava, A., Jain, M. ve Varshneya, R. (2014). Determination of doxazosin in different matrices: a review. *International Journal of Advanced Chemistry*, 2(2), 109-118.
67. Fang, Q.K., Grover, P., Han, Z., McConville, F.X., Rossi, R.F., Olsson, D.J., Kessler, D.W., Wald, S.A. ve Senanayake CH. (2001). Practical chemical and enzymatic technologies for (S)-1,4-benzodioxan-2-carboxypiperizine intermediate in the synthesis of (S)-doxazosin mesylate. *Tetrahedron: Asymmetry*, 12, 2169-2174. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(01\)00368-8](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(01)00368-8)
68. Rouf, A., Gupta, P., Aga, M.A., Kumar, B., Chaubey, A., Parshad, R. ve Taneja, S.C. (2012). Chemoenzymatic synthesis of piperoxan, prosympal, dibozane, and doxazosin. *Tetrahedron: Asymmetry*, 23(22-23), 1615-1623. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2012.10.018>
69. Kang, S. ve Min, H. (2012). Ginseng, the 'Immunity Boost': The Effects of *Panax ginseng* on Immune System. *J Ginseng Res*, 36(4), 354-368.
70. Yaman, A.M. ve Taşdemir, A. (2017). Ginsengin Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Sağlık Akademisi Kastamonu*, 2(3), 211-222.
72. Kim, W.Y., Kim, J.M., Han, S.B., Lee, S.K., Kim, N.D., Park, M.K., Kim, C.K. ve Park, J.H. (2000). Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J Nat Prod.*, 63(12), 1702-1704. <https://doi.org/10.1021/np990152b>
72. Bae, E.A., Han, M.J., Kim, E.J. ve Kim, D.H. (2004). Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformants. *Arch Pharm Res.*, 27(1), 61-67.
73. Yun, T.K., Lee, Y.S., Lee, Y.H. ve Yun, H.Y. (2001). Cancer Chemopreventive Compounds of Red Ginseng Produced from panax ginseng C.A. Meyer. *Journal of Ginseng Research*, 25(3), 107-111.
74. An, D.S., Cui, C.H., Lee, H.G., Wang, L., Kim, S.C., Lee, S.T., Jin, F., Yu, H., Chin, T.W., Lee, H.K., Im, W.T. ve Kim, S.G. (2010). Identification and Characterization of a Novel Terrabacter ginsenosidimutans sp. nov. β -Glucosidase That Transforms Ginsenoside Rb1 into the Rare Gypenosides XVII and LXXV. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(17), 5827-5836.

<https://doi.org/10.1128/AEM.00106-10>

74. Kong, X.D., Yu, H.L., Yang, S., Zhou, J., Zeng, B.B. ve Xu, J.H. (2015). Chemoenzymatic synthesis of (R)- and (S)-propranolol using an engineered epoxide hydrolase with a high turnover number. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 122, 275-281.
75. Sakuraba, S., Takashi, H., Takeda, H. ve Achiwa, K. (1995). Efficient Asymmetric Hydrogenation of α -Amino Ketone Derivates. A Highly Enantioselective Synthesis of Phenylphrine, Levamisole, Carnitin and Propranolol. *Chem. Pharm. Bull.*, 43(5), 738-747.
76. Kamal, A., Sandbhor, M. ve Shaik, A.A. (2004). Chemoenzymatic synthesis of (S) and (R)-propranolol and sotalol employing one-pot lipase resolution protocol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14, 4581-4583.
77. Bevinakatt, H.S. ve Banerji, A.A. (1991). Practical Chemoenzymatic Synthesis of Both Enantiomers of Propranolol. *J. Org. Chem*, 56, 5372-5375.
78. Darnle, S.V., Patil, P.N. ve Salunkhe, M.M. (1999). Chemoenzymatic Synthesis of (R) - and (S) - Atenolol and Propamid employing Lipase Catalyzed Enantioselective Esterification and Hydrolysis. *Synthetic Communications*, 29(22), 3855-3862.
79. Wang, F., Zhang, H., Wang, J., Chen, G., Fang, X., Wang, Z. ve Wang, L. (2012). Ultrasound Irradiation Promoted Enzymatic Transesterification of (R/S)-1-Chloro-3-(1-naphthyloxy)-2-propanol. *Molecules*, 17, 10864-10874. <https://doi.org/10.3390/molecules170910864>
80. Dotis, J., Iosifidis, E., Ioannidou, M. ve Roilides, E. (2010). Use of linezolid in pediatrics: a critical review. *International Journal of Infectious Diseases*, 14, 639-648.
81. Chen, L., Shen, H., Wei, C. ve Zhu, Q. (2013). Bioresolution of (R)-glycidyl azide by *Aspergillus niger* ZJUTZQ208: a new and concise synthon for chiral vicinal amino alcohols. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97, 2609-2616.
82. Besse, P. ve Veschambre, H. (1994). Chemical and biological synthesis of chiral epoxides. *Tetrahedron*, 50(30), 8885-8927.
83. Cleji, M., Archelas, A. ve Furstoss, R. (1998). Microbiological transformations. Part 42: A two-liquid-phase preparative scale process for an epoxide hydrolase catalysed resolution of para-bromo- α -methyl styrene oxide. Occurrence of a surprising enantioselectivity enhancement. *Tetrahedron: Asymmetry*, 9(11), 1839-1842.
84. Hellström, H., Steinreiber, A., Mayer, S.F. ve Faber, K. (2001). Bacterial epoxide hydrolase-catalyzed resolution of a 2,2-disubstituted oxirane: optimization and upscaling. *Biotechnology Letters*, 23, 169-173.
85. Topçuoğlu, P. ve Arslan, Ö. (2008). Proteozom İnhibitörleri ve Kullanımı, *Türkiye Klinikleri J Hem Onc-Special Topics*, 1(1), 45-53.

86. Laumen, J. ve Ghisalba, O. (2006). Easy Access to Enantiomerically Pure Nonproteinogenic Amino Acids. *Eng. Life Sci.*, 6(2)
87. Rao, P.N., Burdett Jr, J.E., Cessac, J.W., DiNunno, C.M., Peterson, D.M. ve Kim, H.K. (1987). Synthesis of 3-(3-pyridyl)- and 3-(3-benzo[b]thienyl)-D-alanine. *Int J Pept Protein Res.*, 29(1), 118-125.
88. Schwarz, J., Rosenthal, K., Snajdrova, R., Kittelmann, M. ve Lütz, S. (2020). The Development of Biocatalysis as a Tool for Drug Discovery. *Chimia*, 74(5), 368-377.
89. Ann, H., Kim, K.H., Choi, H.Y., Chang, H.H., Han, S.H., Kim, K.H., Lee, J.S., Kim, Y.S., Park, K.H., Kim, Y.K., Sohn, J.W., Yun, N.R., Lee, C.S., Choi, Y.W., Lee, Y.S. ve Kim, S.W. (2017). Safety and Efficacy of Ziagen (Abacavir Sulfate) in HIV-Infected Korean Patients. *Infect Chemother.*, 49(3), 205-212. <https://doi.org/10.3947/ic.2017.49.3.205>
90. Zhu, S., Gong, C., Song, D., Gao, S. ve Zheng, G. (2012). Discovery of a Novel (+)- γ -Lactamase from *Bradyrhizobium japonicum* USDA 6 by Rational Genome Mining. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(20), 7492-7495.
91. Gao, S., Zhu, S., Huang, R., Lu, Y. ve Zheng, G. (2015). Efficient synthesis of the intermediate of abacavir and carbovir using a novel (+)- γ -lactamase as a catalyst. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 3878-3881.
92. Gong, J.S., Lu, Z.M., Li, H., Shi, J.S., Zhou, Z.M. ve Xu, Z.H. (2012). Nitrilases in nitrile biocatalysis: recent progress and forthcoming research. *Microbial Cell Factories*, 11(142).
93. Chuck, R. (2000). A Catalytic Green process for Production of Niacin, *CHIMIA International Jpurnal for Chemistry*, 54(9), 508-513.
124. Mathew, C.D., Nagasawa, T., Kobayashi, M. ve Yamada, H. (1988). Nitrilase-Catalyzed Production of Nicotinic Acid from 3-Cyanopyridine in *Rhodococcus rhodochrous* J1. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(4), 1030-1032.
125. Almatawah, Q.A. ve Cowan, D.A. (1999). Thermostable nitrilase catalysed production of nicotinic acid from 3-cyanopyridine. *Enzyme and Microbial Technology*, 25, 718-724.
126. Sharma, N.N., Sharma, M. ve Kumar, H. (2006). *Nocardia globerula* NHB-2: Bench scale production of nicotinic acid. *Process Biochemistry*, 41(9), 2078-2081.
127. Prasad, S., Misra, A., Jangir, V.P., Awasthi, A., Raj, J. ve Bhalla, T.C. (2007). A propionitrile-induced nitrilase of *Rhodococcus* sp. NDB 1165 and its application in nicotinic acid synthesis. *World J Microbiol Biotechnol*, 23(3), 345-353.

Bölüm 14

AĞIR METAL BİYOSORPSİYONUNDA

MANTARLARIN KULLANIMI

Ash GÖÇENOĞLU SARIKAYA¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Bursa

1. Çevre Kirleticileri Olarak Metaller

Endüstrinin gelişmesi ve kentselleşmenin artması ile birlikte toksik atık üretiminin artması, canlılar üzerinde olumsuz etkilere sebep olmasının yanı sıra halk sağlığını da riske atmaktadır (Campanella ve ark. 1994). Endüstrinin artması ve tarım alanında kimyasalların kullanımı ile birlikte tüm dünyada toprak kirliliği artmaktadır. En yaygın toprak kirliliğini ağır metaller, herbisitler, pestisitler ve hidrokarbonlar oluşturmaktadır. Bunların içinde ağır metaller sitotoksik, mutajenik ve kansorejen olmalarından dolayı oldukça önemlidir (Hamman 2004, Mahavi 2005). Ağır metaller diğer toksik kirleticilerin aksine degrade olamadıkları için canlı dokuları içinde birikerek besin zincirinde de oldukça fazla bulunabilirler. Mikroorganizmaların hücre zarı, sitoplazma, metabolizma ve yapısını bozarak DNA hasarına ya da protein denatürasyonuna sebep olabilirler. Arsenik, kadmiyum, civa gibi ağır metaller eser miktarlarda olsalar bile canlı organizmalar için oldukça toksik etki göstermektedir (Kamyotra 2009). Atık sulardan metallerin uzaklaştırılmasında kimyasal çöktürme, şap ya da demir tuzlarıyla koagülasyon, membran filtrasyonu, ters osmoz, iyon-değişim ve adsorpsiyon gibi birçok yöntem kullanılmaktadır (Francis ve ark. 1999, Salt ve ark. 1995). Bu yöntemler teknolojik açıdan uygun olmalarına rağmen büyük miktarlardaki toprak ıslahı için ekonomik değildir (Chen ve ark. 2000, Diels ve ark. 1999).

Ağır metaller, atom ağırlığı 63.5 ile 200.6 arasında olan ve yoğunluğu 5.0'dan büyük olan elementlerdir (Srivastava ve Majumder 2008). Metal kaplama tesisleri, madencilik, gübre endüstrisi, tabakhane, piller, kağıt endüstrisi ve pestisitler gibi birçok endüstri alanının artması ile birlikte ağır metal atık sularının direkt ya da indirekt olarak çevreye boşaltılması özellikle gelişmekte olan ülkelerde artış göstermektedir. Organik kirleticilerin aksine, ağır metaller biyobozunur değildir, canlı organizmalarda birikmeye eğilimlidir ve çoğu ağır metal iyonu toksik veya kanserojen olarak bilinmektedir. Nikel, civa, kadmiyum, krom, bakır, çinko ve kurşun endüstriyel atık sularda yaygın olarak bulunan toksik ağır metallerdir (Fenglian ve Wang, 2011). Tablo 1'de bazı ağır metallerin insan sağlığı üzerine olumsuz etkileriverilmiştir.

Tablo 1. Bazı ağır metallerin toksisitesi ve insan sağlığı üzerine etkileri (Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre)

Ağır Metal Türü	Kaynakları	İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	İçme Sularında İzin Verilen En Yüksek Değeri (mg/L)
Civa	Pestisitler, piller, kağıt endüstrisi,	Sinir sistemi, protoplazma	0.001

Kadmiyum	Elektroplaklama, pestisitler, Cd ve Ni pilleri, nükleer fizyon fabrikaları	Böbrek, bronşit, gastrointestinal sistem, kanser, kemik iliği	0.003
Kurşun	Boyalar, pestisitler, sigara dumanı, otomobil emisyonu, kömür dumanı	Karaciğer, böbrek, gastrointestinal sistem, çocuklarda mental gerilik	0.001
Krom	Krom kaplama, seramik, metalürji prosesleri, boyalar	Deri ülseri, bronşiyal astım	0.05
Bakır	Zirai fungusitler, algisitler, elektrokaplama, fotoğraf filmi	Karaciğer ve böbrek hasarı, gastrointestinal sistem, anemi, kusma	2.0
Arsenik	Pestisitler, fungusitler	Bronşit, deri hastalığı	0.01
Kobalt	Mıknatıslar, cam, seramik, boyalar, uçak motorları	Deri hastalıkları, karaciğer ve böbrek hasarları, kanama, koma, kusma	-
Palladyum	Otomobil katalitik konvörtörleri, elektronik aletler, kuyum, cam üretim fabrikaları	Alerjik reaksiyonlar, ekzama, multiple skleroz, otizm, fibromiyalji	-
Uranyum	Fosfat gübreleri, seramik, kaplama	Böbrek hasarı	0.009
Mangan	Ferromangan üretimi, benzin katkı maddeleri, lehimleme	Merkezi sinir sistemi	0.04
Çinko	Rafineri, metal kaplama, sıhhi tesisat	Deri, sinir membranı hasarı	5.0
Platin	Egzoz dumanı, otoyol üzerindeki topraklar	Alerji, karaciğer ve böbrek hasarı	-
Demir	Demir borular, kapsül ambalaj, tencere	Karaciğer, kardiyovasküler sistem, böbrek yetmezliği	-

2. Metallerin Biyosorpsiyonu

Sonyıllarda, biyosorpsiyon atıksulardan metallerin uzaklaştırılmasında düşük maliyetli bir uygulama olmasından dolayı oldukça ilgi görmektedir. Bu yöntemde mikroorganizmalar ağır metalleri sulu çözeltilerden uzaklaştırmada ve iyileştirmesinde kullanılmaktadır (Chen ve ark. 2000, Durali ve ark. 2005, Bardan ve ark. 2012, Morsy ve ark. 2010, Mistra ve ark. 2012). Bu yöntemde ağır metal ve radyoaktif bileşiklerin hücre tarafından alınması, metal iyonu ve biyolojik materyalin hücre bileşiği arasındaki fizikokimyasal etkileşimler ile olmaktadır (Kapoor ve ark. 1999). Metallerin mikroorganizma tarafından uzaklaştırılma prosesi metal iyonlarının kimyasına, mikroorganizmanın hücre duvarı kimyasına, hücre fizyolojisine ve pH, sıcaklık, süre, iyonik şiddet ve metal derişimi gibi fito-kimyasal faktörlere bağlıdır (Morsy ve ark. 2010).

Ağır metallerin biyosorpsiyonunda immobilize ya da serbest halde bulunan birçok mikroorganizma kullanılabilir. Serbest mikroorganizmalar genellikle kesikli sistemde biyokütlenin kullanıldığı analitik proseslerdir. Bu sistemde kullanılan mikroorganizmaların % 30'unu bakteriler, % 29'unu mayalar, % 16'sını algler, % 11'ini mantarlar, % 14'ünü ise alternatif diğer biyosorbentler (bitki, liken, meyve çekirdekleri) oluşturmaktadır (Pacheco ve ark., 2011). Bazı ağır metallerin gideriminde kullanılan farklı biyosorbent örnekleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Farklı ağır metallerin gideriminde kullanılan biyosorbentler

Mikroorganizma	Metal	Giderim (mg/g)	Referans
<i>Chryseomonas luteola</i>	Al	55.2	Özdemir ve Baysal 2004
<i>Aeromonas caviae</i>	Cr(VI)	284.4	Loukidou ve ark. 2004
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Cr(VI)	83.3	Şahin ve Öztürk 2005
<i>Pseudomonas sp.</i>	Cr(VI)	95.0	Ziagova ve ark. 2007
<i>Bacillus sp.</i>	Cu	16.3	Tunalı ve ark. 2006
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Cu	198.5	Ruiz-Manriquez ve ark. 1997
<i>Bacillus circulans</i>	Cd	26.5	Yılmaz ve Ensari 2005
<i>Streptomyces rimosus</i>	Cd	64.9	Selatnia ve ark. 2004a
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Ni	45.9	Öztürk 2007
<i>Streptomyces rimosus</i>	Ni	32.6	Selatnia ve ark. 2004b
<i>Bacillus sp.</i>	Hg	7.9	Green-Ruiz 2006
<i>Pseudomonas putida</i>	Zn	6.9	Pardo ve ark. 2003
<i>Aphanthece halophytica</i>	Zn	133.0	Incharoensakdi ve Kitjaharn 2002

Çevre kirliliğine yol açan metaller, mantarlar ve bitkiler tarafından biriktirilebilirler (Melgar ve ark. 1998, Garcia ve ark. 1998, Alonso ve ark. 2000, Keskinan ve ark. 2004). Mantarlar ayrıca ağır metallerin gideriminde biyosorbent olarak da değerlendirilebilir (Muraleedharan ve ark. 1994, Muraleedharan ve Venkobachar 1994, Campanella 1994, Plaza ve ark. 1996, Murugesan ve ark. 2006). Mantarların ağır metal gideriminde, metalleri adsorplama kapasitelerinin yüksek olması, ucuz olması ve yeniden kullanılabilir olması gibi birtakım avantajları mevcuttur (Plaza ve ark. 1996). Özellikle çürükçül mantarlar şehrsel atıkların ve tarımsal yan ürünlerin arıtılmasında oldukça geniş bir yer bulduğu gibi endüstriyel biyosorbent olarak da kullanılmaktadır (Campanella ve ark. 1994, Mar'in ve ark. 1997).

Metallerin fungal biyokütle ile gideriminde iki proses kullanılmaktadır. Bunlardan ilki aktif metabolizmaya bağlı biyoakümülyasyon prosesidir. Bu yöntemde metalin giderimi hücre içerisine girerek hücre içi bileşenlere bölüştürülmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Canlı hücreler adsorpsiyon aşamasında ortamın pH, sıcaklık, başlangıçtaki metal derişimi, etkileşme süresi, kültür koşulları ve çözeltideki hücre derişimi gibi birçok parametreden etkilenmektedir (Melgar ve ark. 2007). İkinci proses ise metabolik enerjiye ihtiyaç duyulmayan ve metalin biyokütleyle bağlanması şeklinde gerçekleşen biyosorpsiyon yöntemidir. Adsorpsiyon, iyon değişim prosesi ve kovalent bağlanma gibi birçok kimyasal proses biyosorpsiyon ile ilişkilidir (Plaza ve ark. 1996). Proteinlerin, amino asitlerin, lipidlerin ve kitin, kitosan, glukan gibi polisakkaritlerin polar grupları biyosorpsiyonda görev almaktadır (Mar'in ve ark. 1997).

3. Biyosorbent Olarak Mantarlar

Mantarların hücre duvarlarında bulunan fonksiyonel gruplardan dolayı metal bağlama kapasiteleri oldukça yüksektir. Bir diğer avantajı da, bitki ya da algal biyokütlelere kıyasla mantarların büyük miktarlarda kültivasyonunun kolay ve ucuz olmasıdır. Mikroorganizmaların ağır metal akümülyasyonunda kullanımı ilk defa 1980'li yıllarda rapor edilmiştir. Fizikokimyasal koşulların yanı sıra biyosorbent seçiminin de önemli olduğu biyosorpsiyon işleminde *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Streptoverticillum* ve *Saccharomyces* türü mantarların biyosorpsiyon potansiyelleri oldukça fazladır. Tablo 3'te bazı mantar türlerinin ağır metal biyosorpsiyonunda kullanımı özetlenmiştir.

Tablo 3. Ağır metal gideriminde biyosorbent olarak kullanılan bazı mantar türleri.

Fungal Biyosorbent	Ağır Metal	Referans
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Au	Lin ve ark. 2005
	Pd	Godlewska-Zylkiewicz ve Kozłowska 2005
	Pt	Xie ve ark. 2003
	Zn	Zouboulis ve ark. 2001
	Al	Schott ve Gadner 1997
	Pb	Özer ve Özer 2003
	Cu	Jialong 2002
	Cd	Vasudevan ve ark. 2003
	Cr	Seki ve ark. 2005
	Fe	Goyal ve ark. 2003
<i>Aspergillus sp.</i>	Cr	Goyal ve ark. 2003
	Ni	Baik ve ark. 2002
	U	Mishra ve ark. 2009
	Cd	Barros ve ark. 2005
	Co	Tsekova ve ark. 2006
	Hg	Khambhaty ve ark. 2009
	Sr	Pan ve ark. 2009
<i>Candida tropicalis</i>	Cr	Yin ve ark. 2008
	Ni	Yin ve ark. 2008
<i>Rhizopus sp.</i>	Zn	Baik ve ark. 2002
	U	Dhami ve ark. 1998
	Cu	Gupta ve ark. 2000
	Cr	Bai ve Abraham 2003
	Cd	Gupta ve ark. 2000
	Am	Dhami ve ark. 1998
<i>Mucour rouxii</i>	Pb	Yan ve Virararaghayan 2003
	Cd	Yan ve Virararaghayan 2001
	Ni	Mishra ve ark. 2009
<i>Amanita muscaria</i>	Al	Tomko ve ark. 2006
<i>Trametes sp.</i>	Al	Tomko ve ark. 2006
	Cd	Yalçınkaya ve ark. 2002
<i>Pycnoporous sanguineus</i>	Cu	Yahaya ve ark. 2009
<i>Agaricus campestris</i>	Cr	Göçenoğlu Sarıkaya 2021
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Cr	Göçenoğlu Sarıkaya 2019

Biyosorpsiyonda kullanılan biyosorbentin türü ve doğası, başlangıç çözelti derişimi, biyokütle derişimi (biyosorbent miktarı/çözelti hacmi), sıcaklık, pH, iyonik şiddet gibi bazı fizikokimyasal faktörler oldukça etkilidir. Biyosorbentin türü ve doğası, ölü/canlı hücre, serbest/immobilize, laboratuvar kültürü/endüstriyel atık biyokütlesi gibi farklı

formlar içermektedir. Bunun yanı sıra, başlangıç çözelti miktarının düşük ya da yüksek olması da bağlanma miktarını etkilemektedir. Biyosorbent miktarı da biyosorpsiyon kapasitesini etkileyen bir diğer önemli parametredir. Daha düşük biyosorbent miktarı daha yüksek verim sağlarken, yüzde giderim daha düşük olmaktadır. Genellikle biyokütle derişimindeki artış biyosorbentteki yüzey alanını arttırarak bağlanma bölgesi sayısını arttırdığı için, biyosorbe edilen çözünmüş madde miktarı da artar (Dhankhar ve Hooda, 2011).

Fizikokimyasal parametrelerden pH en önemli parametredir. Çözeltinin pH'ı yalnızca biyokütle yüzeyinin dissosiyasyon bölgelerini değil aynı zamanda ağır metallerin hidrolizi, kompleksleşmesi, indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarını, türlendirilmesini ve çökmesini de etkilemektedir. Ayrıca biyosorbentın aktif bağlanma bölgeleri de çözelti pH'ı ile değişmektedir (Wang, 2002).

Çalışma sıcaklığı bir diğer önemli fizikokimyasal parametredir. 20-35 °C aralığında biyosorpsiyon etkisi açısından genellikle çok önemli bir fark gözlenmez. Yüksek sıcaklıklara çıkıldıkça yüzey aktivitesi ve kinetik enerjideki artış biyosorpsiyon kapasitesini etkilemektedir. Bunun yanı sıra, biyosorbentteki fiziksel hasar da yine yüksek sıcaklıklarda meydana gelmektedir. Bazı adsorpsiyon proseslerinin ekzotermik doğasından dolayı, sıcaklıktaki artış biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesini baskılamaktadır (Dhankhar ve Hooda, 2011).

4. Biyosorbentın Desorpsiyonu ve Tekrar Kullanımı

Biyosorpsiyon prosesinin bir diğer önemli avantajı desorpsiyona uygun olmasıdır. Kullanılan biyokütle biyosorpsiyon prosesinin ardından uygun rejenerasyon ajanlarıyla muamele edildikten sonra biyosorbe ettikleri çözeltileri tekrar geri bırakarak rejenere olurlar. Böylece kullanılan biyosorbentın tekrar kullanımı mümkündür. Biyosorbentın tekrar kullanımı ve rejenerasyonu, biyosorpsiyon prosesinin maliyetini düşürür ve aynı biyosorbentın devamlı kullanımına olanak sağlar. Kullanılan rejenerasyon ajanının biyokütleyle zarar vermemesi, çevre dostu olması, ucuz ve etkili olması gerekmektedir. Genellikle HCl, H₂SO₄, HNO₃ gibi seyreltik mineral asitler fungal biyokütlelerin rejenerasyonunda kullanılan ajanlardır. Ayrıca sitrik asit, asetik asit, laktik asit gibi organik asitler, EDTA, tiyosülfat gibi kompleksleşme ajanları da biyosorbente zarar vermeden kullanılan yaygın desorpsiyon ajanlarıdır.

5. Fungal Biyosorpsiyonun Geleceği

Son yıllarda biyosorpsiyon alanındaki çalışmalar, özellikle ağır metallerin uzaklaştırılmasında mantarların biyosorbent olarak

kullanımının oldukça etkili olduğunu göstermektedir. pH ve çoklu-iyonik bileşimler gibi fizikokimyasal koşullar, gerçek atık sulardan metallerin uzaklaştırılmasında etkili olmaktadır. Biyosorpsiyon prosesindeki parametrelerin optimizasyonu ve biyosorbentin tekrar kullanımının optimizasyonu ile küçük ölçekli çalışmalardan bk ölçekli uygulamalara geçişe olanak sağlamaktadır. Uygun biyosorbentin seçimi ve miktarının optimizasyonu sonrası etkili, ucuz ve yeniden kullanıma olanak sağlayan yeni biyomateryaller ağır metal gideriminde etkili bir şekilde kullanım alanı bulmaktadır.

Fungal biyosorpsiyonun etkili, düşük maliyetli, biyosorbentin tekrar kullanımına olanak sağlayan, evre dostu ve sorpsiyon kapasitesinin yüksek olması gibi avantajlarının yanı sıra, küçük ölçekli uygulamalardan bk ölçekli uygulamalara da geçiş imkanı vermesi nedeniyle özellikle endüstriyel atık sulardan ağır metal gideriminde kullanım alanı oldukça fazladır.

KAYNAKLAR

- Alonso J., Salgado M.J., García M.A., Melgar M.J., 2000. Accumulation of mercury in edible macrofungi: influence of some factors. *Arch Environ Contam Toxicol.* 38, 158–162.
- Bai R.S. and Abraham T.E., 2003. Studies on chromium(VI) adsorption–desorption using immobilized fungal biomass, *Bioresour. Technol.* 87, 17–26.
- Baik W.Y., Bae J.H., Cho K.M., and Hartmeier W., 2002. Biosorption of heavy metals using whole mold mycelia and parts thereof, *Bioresour. Technol.* 81, 167–170.
- Bardan, B. J. S., Radziah, O., Wahid, S. A., Husin, A., Zadeh, F. S., 2012. Column bioleaching of arsenic and heavy metals from gold minetailings by *Aspergillus fumigatus*. *Clean–Soil Air Water* 40(6), 607–614.
- Barros L.M., Macedo G.R., Duarte M.M.L., Silva E.P., and Labato A.K.C.L., 2005. Biosorption of cadmium using the fungus *Aspergillus niger*, *Braz. J. Chem. Eng.* 22, 319–322.
- Campanella L., Cardarelli E., Cordatore M., Patrolecco L., 1994. Mushrooms as bioaccumulators of pollutants. *Med Fac Landbouww Univ Gent.* 59, 1883–1886.
- Chen, H. M., Zheng, C. R., Tu, C., Shen, Z. G., 2000. Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere* 41, 229–234.
- Dhami P.S., Gopalakrishnan V. Kannan R., Naik P.W., Ramanujam A., and Salvi N., 1998. Biosorption of radionuclides by *Rhizopus arrhizus*, *Biotechnol. Lett.* 20, 225–228.
- Dhankhar R., Hooda A., 2011. Fungal biosorption-an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions, *Environmental Technology*, 32(5), 467-491 .
- Diels, L., Smet, D. E., Corbisier, P., 1999. Heavy metal bioremediation of soil. *J. Mol. Biotechnol.* 112, 149–158.
- Durali, M., Dogan, U. O, Tuzen, M., Erdogan, H., Hayati, S., 2005. Trace metal levels in mushroom samples from Ordu, Turkey. *Food Chem.* 91(3), 463–467.
- Francis, C. W, Timpson, M. E., Wilson, J. H., 1999. Bench- and pilot-scale studies relating to the removal of uranium from uranium contaminated soils using carbonate and citrate lixiviants. *J. Hazard. Mater.* 66, 67–87.
- Fu F., Wang Q. 2011. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review, *Journal of Environmental Management* 92, 407-418.

- García M.A., Alonso J., Fernández M.I., Melgar M.J., 1998. Lead content in edible wild mushrooms in northwest Spain as indicator of environmental contamination. *Arch Environ Contam Toxicol.* 34, 330–335.
- Godlewska-Zylkiewicz B. and Kozłowska M., 2005. Solid phase extraction using immobilized yeast *Saccharomyces cerevisiae* for determination of palladium in road dust, *Anal. Chim. Acta* 539, 61–67.
- Goyal N., Jain S.C., and Banerjee U.C., 2003. Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals, *Adv. Environ. Res.* 7, 311–319.
- Göçenoğlu Sarıkaya A., 2019. Sulu çözeltilerden Cr(VI)'nın biyosorpsiyonunda *Pleurotus ostreatus*'un biyokütle olarak kullanımının araştırılması, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 17, 1173-1183.
- Göçenoğlu Sarıkaya A., 2021. Kinetic and thermodynamic studies of the biosorption of Cr(VI) in aqueous solutions by *Agaricus campestris*. *Environmental Technology*, 42(1), 72-80.
- Green-Ruiz C. 2006. Mercury(II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus sp.* from a tropical estuary. *Biores Technol.* 97:1907–11.**
- Gupta R., Ahuja P., Khan S., and Saxena R.K., 2000. Microbial biosorbents: Meeting challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions, *Curr. Sci.* 78, 967–973.
- Hamman, S., 2004. Bioremediation capabilities of White rot fungi. BI570 – review article. *J. Mol. Biol.* 23(2), 234–238.
- Incharoensakdi A., Kitjahn P. 2002. Zinc biosorption from aqueous solution by a halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. *Curr. Microbiol.* 45:261–4.**
- Jialong W., 2002. Biosorption of copper(II) by chemically modified biomass of *Saccharomyces cerevisiae*, *Process Biochem.* 37, 847–850.
- Kapoor, A., Viraraghavan, T. D., Cullimore, R., 1999. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresour. Technol.* 70 (2),95–104.
- Keskinkan O., Goksu M.Z.L., Basibuyuk M., Forster C.F., 2004. Heavy metal adsorption properties of a submerged aquatic plant (*Ceratophyllum demersum*). *Bioresour Technol.* 92, 197–200.
- Khambhaty Y., Mody K., Basha S., and Jha B., 2009. Biosorption of inorganic mercury onto dead biomass of marine *Aspergillus niger*: Kinetic, equilibrium, and thermodynamic studies, *Environ. Eng. Sci.* 26, 531–539.
- Lin Z., Wu J., Xue R., and Yang Y., 2005. Spectroscopic characterization of Au³⁺ biosorption by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*, *Spectrochim. Acta. Microbiol.* 40, 535–539.
- Loukidou M. X., Karapantsios T. D., Zouboulis A. I., and Matis K. A. 2004a. Diffusion kinetic study of cadmium(II) biosorption by *Aeromonas caviae*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79:711–9.**

- Mahavi, P., 2005. Use of tea waste as biosorbant for removal of heavy metals from waste water. *Chemosphere* 54 (5), 1522–1529.
- Mar'in A., Conti C., Gobbi G., 1997. Sorption of lead and caesium by mushrooms grown in natural conditions. *Resour Environ Biotechnol.* 2, 35–49.
- Melgar M.J., Alonso J., García M.A., 2007. Removal of toxic metals from aqueous solutions by fungal biomass of *Agaricus macrosporus*, *Science of the Total Environment* 385, 12–19.
- Melgar M.J., Alonso J., Pérez López M., García M.A., 1998. Influence of some factors in toxicity and accumulation of cadmium from edible wild macrofungi in NW Spain. *J Environ Sci Health B.* 33, 439–455.
- Mishra A., Pradhan N., Kar R.N., Sukla L.B., and Mishra B.K., 2009. Microbial recovery of uranium using native fungal strains, *Hydrometallurgy* 95, 175–177.
- Mistra, V., Balomajumder, C., Agrawal, V. K., 2012. Zn (II) biosorption onto surface of eucalyptus leaf biomass: isotherm, kinetic and mechanistic modeling. *Clean – Soil Air Water* 38 (11), 1062–1073.
- Morsy, F. M., Hassan, S. H. A., Koutb, M., 2010. Biosorbption of Cd (II) and Zn (II) by nostoc commune: isotherm and kinetic studies. *Clean-Soil Air Water* 39(7), 680–687.
- Muraleedharan T.R., Venkobachar C., Leela I., 1994. Investigations of fungal fruiting bodies as biosorbents for the removal of heavy metals from industrial processing streams. *Sep Sci Technol.* 29, 1893–1903.
- Muraleedharan T.R., Venkobachar L.I., 1994. Further insight into the mechanism of biosorption of heavy metals by *Ganoderma lucidum*. *Environ Technol.* 15, 1015–1027.
- Murugesan G.S., Sathishkumar M., Swaminathan K., 2006. Arsenic from groundwater by pretreated waste tea fungal biomass. *Bioresour Technol.* 97, 483–487.
- Özdemir G., Baysal S. H. 2004. Chromium and aluminum biosorption on *Chryseomonas luteola* TEM05. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64:599–603.
- Özer A. and Özer D., 2003. Comparative study of biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ion onto *S. cerevisiae*: Determination of biosorption heats, *Hazard. Mater. B.* 100, 219–228.
- Öztürk A. 2007. Removal of nickel from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*. *J. Hazard Mater.* 147:518–23.
- Pan X., Meng X., Zhang D., and Wang J., 2009. Biosorption of strontium ion by immobilised *Aspergillus niger*, *Int. J. Environ. Pollut.* 37, 276–288.
- Pardo R., Herguedas M., Barrado E., and Vega M. 2003. Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. *Anal. Bioanal. Chem.* 376:26–32.

- Plaça G., Łukasik W., Ulfig K., 1996. Sorption of cadmium by filamentous soil fungi. *Acta Microbiol Pol.* 45, 193–201.
- Ruiz-Manriquez A., Magana P. I., López V., and Guzmán R. 1997. Biosorption of Cu by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Bioprocess Eng.* 18:113–8.
- Salt, D. E., Prince, R. C., Pickering, I. J., Raskin, I., 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol.* 109, 1427–1433.
- Schott E.J. and Gadner R.C., 1997. Aluminium-sensitive mutants of *Saccharomyces*, *Mol. Gen. Genet* 254, 63–72.
- Seki H., Suzuki A., and Maruyama H., 2005. Biosorption of Cr(VI) and As(V) onto methylated yeast biomass, *J. Colloid Interface Sci.* 281, 261–266.
- Selatnia A., Bakhti M. Z., Madani A., Kertous L., and Mansouri Y. 2004a . Biosorption of Cd²⁺ from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Hydrometallurgy.* 75:11–24.
- Selatnia A., Madani A., Bakhti M. Z., Kertous L., Mansouri Y., and Yous R. 2004d. Biosorption of Ni²⁺ from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Min. Eng.* 17:903–11.
- Srivastava, N.K., Majumder, C.B., 2008. Novel biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater. *J. Hazard. Mater.* 151, 158.
- Şahin Y., Öztürk A. 2005. Biosorption of chromium(VI) ions from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*. *Process Biochem.* 40:1895–901
- Tomko J., Bacaronkor B., and Scarontofko M., 2006. Biosorption of heavy metals by dry fungi biomass, *Acta Metall. Slovaca* 12, 447–451.
- Tsekova K., Christova D., and Ianis M., 2006. Heavy metal biosorption sites in *Penicillium cyclopium*, *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 10, 117–121.
- Tunali S., Cabuk A., Akar T. 2006. Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. *Chem. Eng. J.* 115:203–11.
- Vasudevan P., Padmavathy V., and Dhingara S.C., 2003. Kinetics of biosorption of cadmium on baker's yeast, *Bioresour. Technol.* 89, 281–287.
- Wang J.L. 2002. Biosorption of copper(II) by chemically modified biomass of *S. cerevisiae*, *Process Biochem.*, 37, 847-850.
- Xie D.D., Liu Y.Y., Wu C.L., Chen P., and Fu J.K., 2003. Studies of properties on the immobilized *Saccharomyces cerevisiae* waste biomass adsorbing Pt⁴⁺, *J. Xiamen Univ.* 42, 800–804.
- Yahaya Y.A., Don M.M., and Bhatia S., 2009. Biosorption of copper(II) onto immobilized cells of *Pycnoporos sanguineus* from aqueous solution: Equilibrium and kinetic studies, *J. Hazard. Mater.* 161, 189–195.

- Yalçinkaya Y., Soysal L., Denizli A., Arica M.Y., Bekta S., and Genç Ö., 2002. Biosorption of cadmium from aquatic systems by carboxy methyl cellulose and immobilized *Trametes versicolor*, *Hydrometallurgy* 63, 31–40.
- Yan G. and Viraraghavan T., 2003. Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*, *Water Res.* 37, 4486–4496.
- Yan G. and Virararaghavan T., 2001. Heavy metal removal in a biosorption column by immobilized *M. rouxii* biomass, *Bioresour. Technol.* 78, 243–249.
- Yilmaz E. I., Ensari N. Y. 2005. Cadmium biosorption by *Bacillus circulans* strain EB1. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21:777–9.
- Yin H., Ue B., Peng H., Ye J., Yang F., and Zhang N., 2008. Removal of Cr(VI) and Ni(II) from aqueous solution by fused yeast: Study of cations release and biosorption mechanism, *J. Hazard Mater.* 158, 568–576.
- Ziagova M., Dimitriadis G., Aslanidou D., Papaioannou X., Tzannetaki E. L., and Liakopoulou-Kyriakides M. 2007. Comparative study of Cd(II) and Cr(VI) biosorption on *Staphylococcus xylosus* and *Pseudomonas sp.* in single and binary mixtures. *Biores. Technol.* 98:2859–65.
- Zouboulis A.I., Matis K.A., and Lazaridis N.K., 2001. Removal of metal ions from simulated wastewater by *Saccharomyces* yeast biomass: Combining biosorption and flotation processes, *Sep. Sci. Technol.* 36, 349–365.

Bölüm 15

SIVI KROMATOGRASI ANALİZLERİNDE KULLANILAN TÜREVLENDİRME UYGULAMALARININ İNCELENMESİ

Sinem ÇOLAK¹

¹ Öğr. Gör. Dr. Sinem ÇOLAK, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Çaycuma Gıda ve Tarım MYO, Kimya ve Kimyasal İşleme Bölümü, Kimya Teknolojisi Programı, Zonguldak Türkiye, sinem.colak@beun.edu.tr, ORCID ID: 0000-0001-6731-327X

1.GİRİŞ

Bu çalışma, LC analizleri için gerekli türevlendirme uygulamalarına şu anda mevcut olan yöntem ve kullanılan reaktifler ile genel bir bakış açısı sunmaktadır. Çalışmada ayrıca aynı analite uygulanan farklı türevlendirme uygulamalarına ait analitik prosedürlerdeki zorluklar ve çözüm önerileri de sunulmuştur. Geleneksel kullanılan reaktiflerin yanı sıra yeni geliştirilen reaktifler de çalışmada yer almaktadır.

2. SIVI KROMATOĞRAFİSİ İÇİN TÜREVLENDİRMENİN AMACI

Organik ve inorganik maddelerin farklı matrisler içinde kalitatif ve kantitatif belirlenmesi için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ve kapiler elektroforez (CE) sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak pek çok analit, UV kromofor, florofor veya redoks gruplarını içermediğinden HPLC veya CE dedektörleri ile uyumlu sinyallerin üretimi için gerekli yapısal özelliklere sahip değildir. Bu sorunlar, araştırılan moleküllere kromofor veya florofor grupları ekleyen türevlendirme reaksiyonları kullanılarak aşılabilir (Ku'smierek vd., 2011). LC uygulamalarında türev oluşturma sebepleri arasında; iyon değiştirme ve adsorpsiyon yerine dağılma kolonunda ayırım yapmak için molekülün polaritesini azaltmak ve numunedeki bileşenlerin her birine ait dedektör yanıtının seçiciliğini ve duyarlılığı arttırmak yer almaktadır.

3. SIVI KROMATOĞRAFİSİ İÇİN TÜREVLENDİRME ÇEŞİTLERİ

Çeşitli matrislerde ilaç etken maddeleri ve aminoasitler gibi biyomoleküllerin sıvı kromatografisi ile analizinde ultraviyole (UV), floresans (FL), kemilüminsans (CL), kütle spektrometrisi (MS) gibi çeşitli dedektörler kullanılmaktadır. Analiti bu dedektörlere uygun hale getirmek veya dedektör hassasiyeti arttırmak için kullanılan türevlendirme işlemleri kolon öncesi ve kolon sonrası olmak üzere iki prosedür içermektedir. Kolon öncesi türevlendirme, kromatografik analiz öncesi numunenin türevlendirme reaktifi ile reaksiyonu ve izolasyon işlemlerini içermektedir. Kolon sonrası türevlendirme işleminde ise, kromatografik ayırım bittikten sonra türevlendirme işlemi uygulanmaktadır. Başarılı bir türevlendirme prosedürü gerçekleştirilmeden önce her iki tekniğin de ele alınması gereken göreceli avantajları ve dezavantajları vardır (Adegoke, 2012).

Türevlendirmede otomasyon, kolon öncesi ve kolon sonrası HPLC tekniklerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Kolon sonrası türevlendirmede kolonda ayrıştırılan bileşenler, dedektöre girmeden önce

ısıtılmış bir karıştırma bobininde online olarak türevlendirilir. Ön kolon türevlendirmede ise, birçok otomatik örnekleyicide gerçekleştirilebilir (Clark vd., 2005).

3.1 Kolon Öncesi Türevlendirme

Kolon öncesi türevlendirme işlemleri aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır;

➤ Türevlendirme prosedürünün kısa sürede tamamlanması beklenir bu yüzden işlem süresi, optimize edilmesi gereken önemli bir faktör olarak düşünülmelidir.

➤ Örnek hazırlama ve türevlendirme prosedürleri olabildiğince basit olmalı.

➤ Türevlendirme için geliştirilen yöntem tekrarlanabilir ve güvenilir olmalı.

➤ Türevlendirme reaktifi ile analit arasındaki reaksiyon spesifik olmalı.

➤ Ön kolon türevlendirme reaksiyonları numune matrisinde gerçekleştirildiğinden kullanılacak reaktif, analiti seçici olarak belirleyebilmelidir.

Numunedeki girişimlerin önlenmesi için; analitler spesifik olarak türevlendirilebilir, analite polar olmayan bir grup veya yüklü bir fonksiyon eklenebilir ayrıca ters faz (RP) veya iyon değiştirme ayırma yöntemleri de kullanılabilir (Adegoke, 2012). Son dönemde yapılan çalışmalar ile kolon öncesi türevlendirme prosedürlerinde, reaksiyon koşullarında, reaktiflerin seçici özellik kazanmasında ve saptama limitlerini düşürmede önemli ölçüde yol alınmıştır.

Çoğu türevlendirme reaksiyonunun gerçekleştiği çözeltilerde spesifiklik koşulunu elde etmek zordur. Türevlendirme öncesi yada sonrası uygulanacak katı faz ekstraksiyon (SPE), katı faz mikro-ekstraksiyonunun (SPME) ve farklı ekstraksiyon teknikleri ile bu sorun giderilmeye çalışılmıştır. Örneğin, bir çalışmada analiz edilecek numunenin türevlendirme işleminden sonra SPME uygulanması ile elde edilen elüentin HPLC'deki tayini, gerekli seçicilik ve düşük dedeksiyon limitini (LOD) sağlamıştır (Stashenko ve Martinez, 2004).

UV için kolon öncesi türevlendirme

Kolon öncesi türevlendirme reaksiyonları ile yapılan çalışmalar, ilk zamanlarda ilaçların ve aranılan bileşiklerin, UV bölgesinde veya görünür bölgede kolaylıkla tespit edilebilmesini sağlayan UV-aktif türlere dönüştürülmesine odaklanmıştır (Shishan ve Mei-Yi, 1986; Oravec ve

Podhradský, 1995; Sahasrabuddhey vd., 1999; Katrusiak vd., 2001; Petsch vd., 2004). Türevlendirme için kullanılan reaktifler, UV aktif olmayan analitin fonksiyonel grup veya grupları ile reaksiyona girerek alkil bromürleri, asit klorürleri, N-hidroksisukinimidil esterleri ve klorürleri, alkilkloroformatları ve trimetilsilil esterleri oluşturlar (Clark vd., 2005).

FL için kolon öncesi türevlendirme

LC cihazlarında ve dedektör sistemlerindeki ilerlemeler, floresan türlere dönüştürebilen türevlendirme yöntemlerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Özellikle 20.yy ın ortalarında aminoasit kimyasında önemli gelişmeler yaşanmıştır. Biyolojik süreçlerde ve hastalıkların ilerlemesinde aminoasitlerin rollerinin araştırılabilmesi için, aminoasitlerin çok düşük konsantrasyonlarda tayine imkan veren yöntemlerin varlığına ihtiyaç duyulmuştur. Günümüzde European Pharmacopoeia 2011 tarafından belirtilen prosedürlerde, aminoasitlerin tayini için türevlendirme reaktiflerinin bir kısmı ile HPLC-UV yöntemleriyle mümkün olmayan piko ve femto molar konsantrasyonlara, floresan türevler ile ulaşılmaktadır (Einarsson, 1985; Dorresteyn vd., 1996).

CL için kolon öncesi türevlendirme

Geliştirilen yöntemler, ilaçların ve diğer bileşiklerin kemilüminesans (CL) türevlere dönüştürülmesini de ön plana çıkarmıştır. CL özellikli türev oluşturmak için çeşitli reaksiyon koşullarına ve reaktiflere gereksinim duyulmuştur. CL türevlerin en önemli dezavantajı, kemilüminesans özellik kazandırmak için moleküllerin 1 veya 2 adımda dönüşümünü sağlayan birden fazla reaktif ve reaksiyon aşamasını içeren prosesidir (Adegoke, 2012).

MS için kolon öncesi türevlendirme

Az miktarlarda numune ile düşük tespit edilebilirlik sağlayan MS dedektörünün hassasiyeti HPLC'nin seçiciliği ile birleştirilerek adli ve pek çok araştırmalarda büyük avantajlar sağlamaktadır (Santa, 2011). HPLC tandem MS için kullanılan kolon öncesi türevlendirme 21. yüzyıl ve ötesinin tekniği olarak oldukça çok tercih edilmektedir. Örneğin, bir çalışmada kanda 4-dimetilaminofenol (DMAP) konsantrasyonlarını belirlemek için kullanılan LC-ESI/MS/MS yönteminde analitlerin sinyal yoğunluğunu artırmak için kolon öncesi türevlendirmesi yapılmış ve dansil klorür reaktifi kullanılmıştır (Zhuang vd., 2008).

Serbest karboksilik asitlerin Elektrosprey İyonizasyon (ESI)-MS ile analizi bazı analitik zorluklar içermektedir. Her ne kadar biyomoleküllerin analizinde bileşiklerin büyük kısmı için pozitif iyonizasyon sık tercih edilen bir yöntem olsa da, serbest karboksilik asitlerin negatif iyonizasyon modunda tespit edilmesi gerekmektedir. Ayrıca iyonizasyon verimleri

genellikle oldukça düşüktür. Bu nedenle, biyobelirteç seti içeren bir numunede karboksilik asitlerin çok sayıda farklı analit ile birlikte, eşzamanlı olarak tespit edilmesi imkansız olmasa da zordur. Bu sorunu çözmek ve karboksilik asitleri pozitif iyonizasyon ESI-MS ile uyumlu hale getirmek için kullanılan türevlendirme reaktifleri; dietil-aminoetil klorür veya bromür, 2-nitrofenilhidrazin, piridinyum bileşikler, benzofurazan reaktifleri ve tris (trimetoksifenil) fosfonyum bileşikleridir (Kretschmer vd., 2011).

Reaksiyon stokiyometrisi, ön kolon türetme prosedürünü uygularken pratikte zordur. Analitin tamamının istenen türeve dönüşümünü sağlamak için, reaksiyonların çoğunda fazla reaktif kullanılmaktadır. Bu durum, analizi yapan kişiyi, analiz sonrası kullanılmayan fazla reaktifleri çıkarma zorluğuyla karşı karşıya bırakır. Bu sorunun giderilmesindeki en iyi çözüm, kullanılan aşırı reaktif ve türevlendirilmiş bileşik arasındaki ayrımı yapabilecek yanıtı veren bir dedeksiyon seçimidir. Genellikle oluşan türevlendirilmiş türler için detektör yanıtının optimum olduğu bölgelerde, dedeksiyonun gerçekleştirildiği çalışmalar literatürde yer almaktadır. Bu konuda, HPLC-MS/MS uygulaması en büyük avantajı sağlar, çünkü türevlendirilmiş bileşenlerle ilgili spesifik iyonlar, reaktiflerden veya diğer başlangıç materyallerinden bağımsız olarak izlenebilmektedir (Adegoke, 2012).

MS için kolon öncesi türevlendirme yöntemlerine ait prosedürlerdeki primer zorluk kolon öncesi türevlendirme reaktiflerinin stabilitesidir. Türevlendirme işleminin kolay ve doğru olması için türevlendirme reaktifinin analiz boyunca stabil kalması ayrıca sıcaklık ve reaksiyon koşullarından (pH değişimi, iyonik kuvvet, aşırı asit veya baz uygulamaları vb.) etkilenmemesi gerekmektedir. Yöntemin geniş alanlarda uygulanabilmesi için de reaktiflerin istenilen konsantrasyonlarda kolay hazırlanabilmesi, toksik ve tahriş edici olmaması aranılan özelliklerdir.

Kolon öncesi kiral türevlendirme

Organik bileşiklerin enantiyomerik ayrımları için iki yöntem geliştirilmiştir; enantiyomerlerin kiral bir sabit faz üzerinde doğrudan çözünürlüğü (yüksek seçicilik sağlayan kiral kolon kullanımı) ve kiral reaktif ile türevlendirilerek geleneksel kolonlarda (normal ve ters faz) ayrılması (Nambara vd., 1978).

Kiral türevlendirme reaksiyonlarında, ilgili bileşikler kolaylıkla ayrılabilen diastereomerlere dönüştürülmektedir. Bu prosedür için 1978 yılında iki kiral türevlendirme reaktifi sentezlenmiştir. Karşılık gelen aminlerinden sentezlenen (-)-1,7-dimetil-7-norbornil izotiyosiyanat ve (+)-neomentil izotiyosiyanat, amino asitleri 243 nm'de absorbans yapan tiyöüre türevlerine dönüştürmek için kullanılmıştır. Oluşan türevler mobil

faz olarak sikloheksan/etilasetat kullanılarak normal faz kromatografisi ile analiz edilmiştir (Nambara vd., 1978). Alanin, valin, norvalin, prolin, glutamik asit, treonin aminoasitleri için de bu yöntem kullanılmıştır. Bununla birlikte, HPLC'de geleneksel RP (ters faz) kolonlarında ayırmaya imkan tanıyan bir kiral reaktifi de kullanılmıştır. 2,3,4,6-tetra-o-asetil-p-Dglukopiranosil izotiyosiyanat (GITC) ile diastereomerler oluşturulmuş ve amino asit enantiyomerleri analiz edilmiştir. GITC, oda sıcaklığında enantiyomerik amino asitlerle kolayca reaksiyona girer ve reaksiyon karışımı, doğrudan kolona enjekte edilebilir. Türevler sulu metanol ile elüe edilmiş ve 250 nm'de spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir (Nimura vd., 1980). Geliştirilen başka bir reaktif de karboksilik asitlerin enantiyomerlerinin belirlenmesi için triflat tipi floresans kiral türevlendirme reaktifi olan (S)-(1)-1-metil-2-(6,7-dimetoksi-2,3-naftalimido) etil triflorometan sülfonattır (Yasaka vd., 1998).

3.1.1 Amino Asitlerin Tayininde Kolon Öncesi Türevlendirme

Amino asitlerin analizi için en iyi karakterize edilmiş türevlendirme reaktiflerinden biri o-ftalaldehittir (OPA) (Molnar-Perl, 2011). Yaygın olarak kullanılan FL türevlendirme reaktifleri ise, açıl halojenürler ve sülfonil halojenürlerdir. Ayrıca, amino asitlerin belirlenmesi için en klasik açıl halojenür 9-florenilmetiloksikarbonil klorürdür (Fmoc-Cl). Amino asitlerin tayini için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri OPA-HPLC-FLD analizidir (Drabkova vd., 2017, Huang vd., 2009; Stragierowicz vd., 2017; Zandy vd., 2017). Oda sıcaklığında alkali çözelti içinde OPA, sülfhidril reaktifi ile birlikte birincil aminlerle hızlı reaksiyona girerek sülfonat izoindollerini oluşturur. Oluşan bu türevler, UV veya FL dedektörlerinde seçicilik ve hassasiyeti arttırmaktadır (Molnar-Perl 2011; Molnár-Perl vd., 1999).

OPA'nın uygulamalardaki dezavantajları aşağıda belirtilmiştir (Molnár-Perl vd., 1999, Roth, 1971; Molnar-Perl 2011, Molnár-Perl vd., 1999; Molnar-Perl vd., 2001; Zacharis vd., 2006);

➤ Farklı sülfhidril bileşiklerinin varlığında amino asitlerden ve OPA'dan üretilen izoindoller kararsızdır.

- OPA-sülfhidril reaktifi kararsızdır.
- Sülfhidril reaktif türü, türevlendirme verimini ve türevin kararlılığını etkilemektedir.
- Amino asit/türevlendirme reaktifi oranı, türevlendirme verimini ve türevin kararlılığını etkilemektedir.
- Kullanılan tampon çözeltinin pH'sı, türevlendirme verimliliğini ve türevin kararlılığını etkilemektedir.

Literatürde hastaların serumundaki L-asparagin (ASN) deplesyonunu izlemek için, OPA ve etanetiyol (ET) reaktifleri ile yapılan ön kolon türevlendirme işlemi ile HPLC’de bir yöntem bildirilmiştir. Analitlerin kromatografik ayrımını ve sinyallerini iyileştirmek için, gradyan elüsyon programı, protein çökeltme, sülfhidril reaktifi, tampon pH’ı, uyarma dalga boyu ve emisyon dalga boyu parametreleri kapsamlı bir şekilde optimize edilmiştir. Ek olarak, endojen analitlerin seviyelerini azaltmak için, sağlıklı insan serumunun toz haline getirilmiş aktif karbon ile işlenmesiyle biyolojik matriks elde edilmiştir. Çalışmada biyolojik matriste, çökeltici reaktif olarak % 4 sülfosalisilik asit (1:1, v/v) kullanıldığında en yüksek geri kazanım değeri elde edildiği görülmüştür. Optimum floresans saptama parametreleri ise, maksimum sinyal için $\lambda_{ex} = 340$ nm ve $\lambda_{em} = 444$ nm olarak belirlenmiştir. Türevlendirme çözeltisinde ET reaktifi ve pH 9,9 borat tamponu kullanıldığında, analitlerin sinyal seviyelerinin maksimum olduğu ve oluşturulan türevlendirme ürünlerinin 19 saate kadar stabil kaldığı bildirilmiştir. Çalışmada valide edilen yöntem biyolojik örneğe başarıyla uygulanmıştır (Zhang vd., 2018).

Son yıllarda, FL reaktifi olan sülfonil halojenürler aşağıdaki avantajlardan dolayı amino asitlerin analizine yaygın olarak kullanılmaktadır (Negro vd., 1987; Minocha vd., 2004; Zhang vd., 2012):

➤ Karbonil halojenür ile karşılaştırıldığında, sülfonil halojenürlerin nükleofilik reaktivitesi nispeten zayıftır. Bu yüzden amino asitlerle türevlendirme reaksiyonu, su varlığında seçici olarak yapılabilir.

➤ Hidroliz hızı, karbonil halojenürlerden daha yavaştır ve türevleri daha kararlıdır.

➤ Türevlendirme koşulları hafiftir.

➤ Amino asitlerle reaksiyonlarında güçlü bir alkali katalizöre ihtiyaç yoktur.

Dansil klorür dahil olmak üzere amino asitler için kullanılan sülfonil halojenür FL türevlendirme reaktifleri; asenaften-5-sülfonil klorür (AcNSCl) (Gifford vd., 1995), 4 dimetilaminoazobenzen-4'-sülfonil klorür (DABS-Cl) (Vallorani vd., 1998), 4- (5,6-dimetoksi-2-ftalimidinil) -2-metoksi fenilsülfonil klorür (DMS-Cl) (Tsuruta vd., 2010) ve 9,10-antrakinon-2-sülfonil klorürdür (ASC) (Cheng vd., 2009).

Sülfonil halojenürler amino asitlerin belirlenmesi için yeterince hassas olsalar da uygulamalardaki bazı eksiklikleri aşağıda belirtilmiştir (Tend vd., 2016);

➤ Algılama dalga boylarının kısa olması.

➤ Reaksiyon sıcaklığının yüksek olması.

- Karmaşık reaksiyon veya türevlendirme prosedürüne ihtiyaç duyulması.
- Suda nispeten düşük hassasiyet sergilemesi.
- Reaktifin fazlasının kullanılması gerektiği durumlarda reaktif fazlasının organik çözücü ekstraksiyonu ile uzaklaştırılması prosedürünün analiz sonuçlarında hatalara neden olabilmesi.

Karbazol ve türevleri, güçlü molekül-içi elektron transferi ile iyi bir termal özellik ve optik performansa sahiptir (Zhang vd., 2003a; Zhou vd., 2006; Yoon vd., 2007). Karbazol bileşikleri, ön kolon FL türevlendirme reaktifleri olarak, aminlerin, amino asitlerin, alkollerin ve polisakkaritlerin analizinde kullanılmıştır (You vd., 2003; Zhang vd., 2003b).

FL türevlendirme reaktifi olarak sentezlenen yeni bir karbazol bileşiği olan 3,6-dimetoksi-9-fenil-9H-karbazol-1-sülfonil klorür (DPCS-Cl) ile, glifosat (GLYP) ve onun ana metaboliti aminometilfosfonik asidi (AMPA) (amino bileşikleri) yüksek hassasiyetle tespit edilmiştir (Zhang vd., 2013). DPCS-Cl, türevlerinin iyi floresans özellik göstermesi üzerine farklı bir çalışmada plazma örneklerinde pirolin (Pro) ve hidroksiprolinin (Hyp) HPLC (C18 kolon) ile belirlenmesi için kullanılmıştır. Çalışmada, türevlendirme reaksiyonlarının daha hızlı, ön hazırlık adımlarının daha basit ve daha az reaktifin (~6 eşdeğer konsantrasyon) kullanıldığı bir yöntem geliştirilmiştir. LC/MS/MS sistemi de tekniğin doğrulanması için kullanılmıştır. Her iki analit de DPCS-Cl ile 60°C'de 30 dakika boyunca türevlendirme işlemine tabi tutulmuştur. DPCS-Cl'nin optimize edilmiş konsantrasyon değeri 25 µgmL⁻¹ ve analitlerin DPCS-Cl'ye molar oranı 1: 6 olarak bildirilmiştir. Floresan dedeksiyonu için 318 nm'lik uyarma dalga boyu ve 440 nm'lik emisyon dalga boyu seçilmiştir. LOD değerleri prolin ve hidroksiprolin için sırasıyla 20 ve 10 fmol olarak bulunmuştur (Teng vd., 2016).

3.1.2 Biyojenik Amin Tayininde Kolon Öncesi Türevlendirme

HPLC, basitliği ve düşük maliyeti nedeniyle biyojen aminlerin tayininde yaygın olarak tercih edilmektedir. Mobil faz olarak asetonitril, metanol veya deiyonize su gibi çözücülerin kullanıldığı yöntemlerde C8 veya C18'in en iyi kolonlar olduğu bildirilmiştir (Lanfranco vd., 2011). Biyojenik aminlerin kromoforları bulunmadığından HPLC ile analiz edilebilmesi için türevlendirilmeleri gerekmektedir. Yaygın olarak kullanılan türevlendirme reaktifleri; O-Phthaldialdehyde (OPA), dansil klorür, dinitro benzoil klorür, benzoil klorür, floresin ve 9-florenilmetilkloroformattır (Fmoc) (Onal vd., 2013). OPA reaktifinin

biyojenik aminlerde kullanımının avantajları aşağıda belirtilmiştir (Munir ve Badri, 2020);

- Reaksiyon hızlıdır.

- Türevlendirme prosedürü, oda sıcaklığında borat tamponu (pH 6-8) ve metanol karışımı ile 2 dakikadan daha az bir sürede tamamlanabilmektedir.

- Putresin, kadaverin, spermidin ve spermin gibi poliaminleri türevlendirmek için, primer aminler ile 2-merkaptetanol veya N-asetilsistein gibi indirgeyici bir reaktif kullanılan reaksiyon 1 dakikanın altında bir sürede tamamlanmaktadır.

- FL dedektörleri için daha uygundur.

OPA reaktifinin biyojenik aminlerde kullanımının dezavantajları (Lazaro ve Conte-Junior, 2013);

- OPA'nın kararsız olması yüzünden oluşan türev, HPLC analizinde duyarlılığı azaltabilir.

- Kısa ömürlüdür.

Histamin tayininde C18 kolunu ve HPLC-UV (254 nm) sistemi kullanarak oluşturulan yöntemde türevlendirme reaktifi olarak dansil klorür kullanılmış ve tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir. Dansil klorür veya benzoil klorür reaktifinin kullanımının avantajları aşağıda belirtilmiştir (İbrahim ve Amer, 2010; Andic vd., 2010; Mazzucco vd., 2010; Simat ve Dalgaard, 2010; Jia vd., 2011; Aflaki vd., 2014; Aflaki vd., 2014b);

- OPA reaktifinden daha kararlılar.

- Di ve poliaminler için kararlılığının yüksek olması sebebiyle dansil klorür önerilmektedir.

- UV dedektörleri için daha uygundur.

- LC'de 25 dakikada 31 amino asit ve biyojenik amin ayrılabilir.

- Benzoil klorürün etkisi hızlıdır. Oda sıcaklığında, alkali ortamda veya borat tamponu (pH10) içinde bir dakika vorteks ile karıştırılması yeterlidir.

- Benzoil klorür, dansil türevleri ile uzun elüsyon süresi sağlar.

- Benzoil klorür LC/MS sistemleri için de uygundur.

Dansil klorür veya benzoil klorür reaktifinin kullanımının dezavantajları ise (Jia vd., 2011; Vijayabhaskar vd., 2015; Ding vd., 2015;

Achaintre vd., 2016; Aflaki vd., 2014; Aflaki vd., 2014b; Ozdestan ve Uren, 2009; Jia vd., 2013);

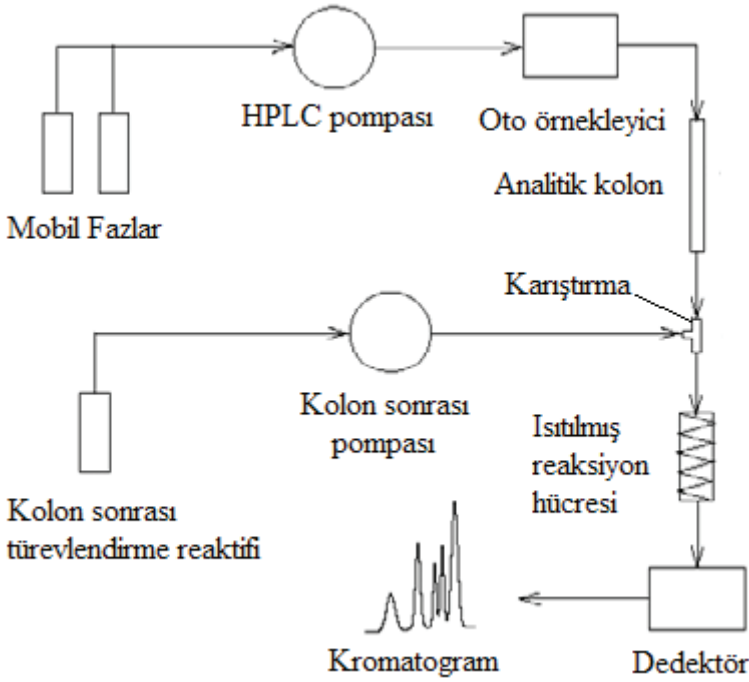
- Dansil klorür, spesifik olmayan bir reaktif olması nedeniyle fenol ve alkol gibi aminlerin yanı sıra diğer bileşikler ile de reaksiyona girebilir.
- Gıda örneklerinin biyojenik aminlerle bağlantılı birkaç hidroksilik madde içermesi nedeniyle istenmeyen reaksiyonlar oluşabilir.
- İstenmeyen reaksiyonlar yüzünden biyojenik aminlerin yanında birkaç girişim yapan pikler ortaya çıkabilir.
- Reaktif ve alkali konsantrasyonu benzoil klorür ile türevlendirme verimini etkilemektedir.
- Karışımının etkili bir şekilde karıştırılması gereklidir.
- Benzoil klorür türevlerini içeren metanol çözeltisi, türevlerin yok olmasını önlemek için 4 °C'de tutulmalıdır.

Ton balığında histamin tayini için OPA ve benzoil klorür reaktifleri karşılaştırılmış ve benzoil klorür kullanılarak türevlendirme işleminin daha uzun sürdüğü ve daha karmaşık olduğu ancak oluşan türevinin OPA'dan daha kararlı olduğu bildirilmiştir (Tahmouzi vd., 2011). İzotop etiketli biyojenik aminlerin neredeyse tamamı, sentezleri için çok emek gerektiğinden mevcut değildir. Alternatif olarak, aminlerin izotop kodlu türevlendirme reaktifi olan 10-metilakridon-2-sülfonil klorür kullanılarak türevlendirilmesi ve bu etiketlenmemiş formunun kullanılması tavsiye edilmiştir (Cai vd., 2016).

Gıdalardaki biyojenik aminleri analiz etmek için MS yönteminde türevlendirmeye ihtiyaç duyulmaz. Ancak biyojenik amin tespiti için UV ve FL ile daha ucuz ve daha az zaman alan yöntemler geliştirildiğinden türevlendirme yaygın olarak kullanılmaktadır.

3.2 Kolon Sonrası Türevlendirme (PCD)

Pek çok bileşik, elektromanyetik spektrumun UV/VIS bölgesinde bir miktar absorpsiyon gösterirken, elde edilen yanıt genellikle zayıftır ve elüe edilen diğer bileşikler ile kolayca karıştırılabilir. Kolon sonrası türevlendirme (PCD), kromatografik olarak ayrılmış analitleri, yoğun absorpsiyon veya floresan pikleri üreten kromoforlu türevlere dönüştürmek için farklı yöntemler sunar. Türevlendirme işlemi, her bir analit kolondan çıkıp detektör akış hücresine gittikçe sıralı olarak gerçekleşmektedir. Şekil 1'de kolon sonrası türevlendirme prosedürüne ait bir sitemde kolon çıkışı ile detektör akış hücresi arasındaki akış diyagramı verilmiştir.



Şekil 1. Kolon sonrası türevlendirme prosedüründe kolon çıkışı ile dedektör akış diyagramı.

Kolon sonrası türevlendirme prosedüründe dikkat edilmesi gereken hususlar aşağıda verilmiştir (Gottschalk, 2007);

➤ Türev, kolon sonrası oluşturulduğu için kromatografik ayırmanın korunduğu dikkate alınarak reaksiyon kimyası uygun şekilde tasarlanmalı ve uygulanmalıdır.

➤ Hem kalitatif hem de kantitatif tayinde sinyal hassasiyetini ve seçiciliği en üst düzeye çıkarmak için, PCD reaktifleri, sinyalin ölçüldüğü arka plana mümkün olduğunca az katkıda bulunmalıdır.

➤ Reaksiyon hızlı (genellikle <1 dakika) seçilmelidir ve tekrarlanabilir olmalıdır.

➤ PCD sisteminde karıştırma çok önemlidir. Tamamen karıştırılmamış sıvılar, yapı veya sıcaklık bakımından farklılık gösterdiğinden, kırılma indisinde değişiklik gösteren homojenlikler oluşturur ve problemler ortaya çıkabilir. Yeni dedektör akış hücreleri, bu karışıklıkları gidermek için tasarlanmış olsa da çözelti bileşiminin ve sıcaklığının tek tip olmasını sağlayarak sorunu önlemek çok daha iyidir.

➤ Reaksiyon ve ürünler çözeltide olmalıdır.

➤ Çökelek oluşmamasına dikkat edilmelidir. Kılcal boruları ya da sistemdeki her hangi bir yerin tıkanmasına sebep olma potansiyeline sahip bir çökeltinin oluşumu, emülsiyonlar gibi, sinyalin saçılmasına neden olabilir veya detektör yanıtını azaltabilir.

➤ Türevlendirme reaksiyonun hem kinetiğinin hem de termodinamiğinin avantajlarından yararlanılmalıdır.

➤ Dönüşüm yeterince hızlı değilse, sıcaklığı yükseltmek, katalizör eklemek veya başka bir şekilde türevlendirme işlemini hızlandırmak gerekli olabilir.

➤ Yüksek hassasiyetli sabit bir akış hızı sağlayan pompaların kullanılması sinyallerin iyileşmesine neden olur.

➤ Çözeltinin bir PCD reaktöründe ısıtılması veya tersi bir durumda reaksiyon sonrası soğutma, gaz kabarcıklarının oluşmasına veya optik girişime neden olabilir. Bu sorun, genellikle detektör akış hücresine uygun bir geri basınç sistemi ile giderilebilir.

➤ PCD reaksiyon sisteminin HPLC mobil fazı ile uyumlu olması gereklidir. Ayrıca reaktif ilavesiyle oluşan reaksiyon dedektör yanıtını olumsuz yönde etkilememelidir.

➤ PCD ile yöntem geliştirirken, kolon çıkışı ile detektör arasındaki akış yolunun uzunluğunun en aza indirilmesine dikkat edilmelidir

➤ PCD pompaları sağlam olmalı ve kimyasal olarak sert reaktiflerle temas edebilecek inert iç yüzeylere sahip bileşenler kullanmalıdır.

Başarılı bir PCD yöntemi geliştirme işi, moleküler yapı/aktivite ilişkileri, çözücü etkileri ve LC uzmanlığı gibi organik sentez için gerekli teknik bilgilere ve teçhizatlara aşinalık gerektirmektedir.

3.2.1 Aminoasitlerin Tayininde Kolon Sonrası Türevlendirme

Amino asit analizinde yaygın olarak kullanılan ilk reaktif ninhidridir. Ninhidrin, yoğun şekilde mor renkli türevler oluşturmak için amino asidin primer amino grubu ile reaksiyona girer ve $\lambda_{\max} = 570 \text{ nm}$ ($\epsilon = 2 \times 10^4$) de pik verir. Kalitatif veya kantitatif analizlerde, türevlendirilmemiş analitin 220 nm'deki (karboksilat kısmı, $\epsilon = 30\text{-}50$) verdiği zayıf UV absorpsiyonu türevlendirme ile 4-5 sıra kaydırılarak daha büyük bir absorpsiyon piki ile değiştirilir ve parazit içermeyen bir dalga boyu bölgesine kaydırılır. Prolin gibi imino asitler de ninhidrin ile reaksiyona girerek, kalitatif ve kantitatif tayin için uygun sarı renkli türevler oluştururlar ($\lambda_{\max} = 440 \text{ nm}$).

OPA ve alkil merkaptanlar, oldukça floresan özelliğe sahip 1-alkil-2-alkiltiyo izoindoller ($\lambda_{\text{em}} = 465$) oluşturmak için bazik koşullar altında amino asitlerin primer amino grubu ile reaksiyona girerler. Ayrıca ikincil

aminlerin OPA'ya karşı reaktivitesi, türevlendirmeden önce uygun bir oksidan ilavesiyle artırılabilir. OPA reaktifinin ninhidrin reaktifinden üstünlükleri aşağıda verilmiştir (Gottschalk, 2007);

- OPA türevleri ile elde edilen LOD değerleri, karşılık gelen ninhidrin türevlerinden daha düşüktür (yaklaşık olarak 0,1 ve 1 nmol).
- OPA ile türevlendirmede ısıtılmaya ihtiyaç duyulmaz.
- OPA kullanıldığında, amonyak arzu edilen şekilde düşük bir yanıt gösterir.

OPA'nın pek çok avantajına rağmen ninhidrin temelli yöntemler birçok uygulamada popülerliğini korumaktadır. Bunun sebeplerinden biri, ilgili ninhidrin türevi ile karşılaştırıldığında izoindol ürününün kararsızlığı olabilir. Bir diğeri ise, OPA büyük moleküler türevler oluşturduğundan sergilenen söndürme olabilir, çünkü sistein gibi çok işlevli amino asitler birden fazla OPA parçası ekleyebilir.

3.2.2 Farmasötik Analitler

Farmasötik analiz için PCD yöntemlerinin geliştirilmesinde çeşitli organik reaksiyon sistemleri uygulanmaktadır. OPA bazlı PCD yöntemlerinin amino asitler için duyarlılığı, bunların amino fonksiyonel grup içeren farmasötik analitlere de adaptasyonuna yol açmıştır. Yapılan çalışmalar arasında; insan plazması ve idrarında bivalirudin (kan pıhtılaşma inhibitörü) ölçümü (Vinas vd., 1997), biyolojik sıvıda ranitidin (bir histamin reseptör antagonisti) ve metabolitleri için bir test (Farthing vd., 2004) ve hayvan yeminde Zn-Basitrasın (topikal bir antibiyotik) (Capitan-Vallvey vd., 2002) bildirilmiştir.

3.3 Türevlendirme Tekniğinin Seçimi

Türevlendirme işlemi, numunede analiz edilecek maddelerin kromatografi kolonuna enjeksiyonundan önce türevlendirildiği ve reaksiyon sonucu oluşan bileşenlerinin ayrılıp tespit edildiği bir kolon öncesi veya numunede analiz edilecek maddelerin önce kolonda ayrıldığı, ardından elüatın kolon içinde türevlendirildiği ve ürünlerin saptandığı bir kolon sonrası türevlendirme olabilir. Her iki türevlendirme yönteminin avantaj ve dezavantajları göz önünde bulundurularak uygun seçim yapılmalıdır.

3.3.1 Kolon Öncesi ve Sonrası Türevlendirme İşlemlerinin Karşılaştırılması

Gerek kolon öncesi gerekse kolon sonrası türevlendirmede ana amaç analitin kalitatif ve kantitatif tayin için elde edilen yanıt sinyallerinin

iyileştirilmesidir. Tablo 1’de kolon öncesi ve sonrası türevlendirme yöntemlerinin özellikleri karşılaştırılmıştır (Nakamura, 2001; Gottschalk, 2007; Ozawa ve Miyano, 2015) .

Tablo 1. Kolon öncesi ve sonrası türevlendirme yöntemlerinin özelliklerinin karşılaştırılması

Kolon Öncesi Türevlendirme	Kolon Sonrası Türevlendirme
Genel HPLC cihazlarıyla uygulanabilir.	Karmaşık cihazlar gereklidir.
Otomasyon için özel cihazlar gereklidir.	Otomasyon kolaylıkla sağlanabilir.
Türevlendirme reaksiyonu uzun ise analiz süresi de uzun olur.	Türevlendirme reaksiyonu makul derecede hızlı olması gerektiğinden genellikle analiz süresi kısadır.
Numune hazırlama karmaşık ve zaman alıcı olabilir.	Numune hazırlama daha basittir.
Reaksiyon koşullarının ayarlanmasında, kolon elüsyon koşullarına çok az dikkat edilmesi yeterlidir.	Elüsyon koşulları, reaksiyon koşullarını önemli ölçüde etkiler.
Reaksiyon kantitatif ve yüksek hassasiyet mümkündür.	Son derece kantitatif. Reaksiyon devam ederken bile algılama mümkündür
Tek bir reaktif bileşen vardır.	Birden fazla ve karmaşık reaktif bileşenle bile algılama mümkündür.
Reaksiyon bileşeni nispeten kararlıdır.	Kararsız reaksiyon bileşenleri ile bile tespit mümkündür.
Analit net bir şekilde ayrılabilmediğinden, reaktif körünün (fazla reaktif ve/veya ayrılmış reaktif) saptanması analiz sonunda kabul edilebilir. Bu nedenle reaktif, dedektör tipine göre seçilir.	Detektör tarafından tespit edilmeyen veya çok az tespit edilen bir reaktif körü seçmek önemlidir. Kullanılabilecek türevlendirme reaktif türleri bu nedenle sınırlandırılmıştır.
Tüketilen reaktif miktarı azdır.	Tüketilen reaktif miktarı fazladır.
Numunenin reaktif solüsyonu ile seyreltilmesi genellikle göz ardı edilebilir.	Numunenin reaktif solüsyonu ile seyreltilmesi pik genişlemesine yol açabilir.
Türevlendirmenin reaksiyon verimliliği, numune matriksinden etkilenir. Türevlendirmenin verimi de kantitatif tayini etkiler.	Numune bileşenleri, reaksiyondan önce sütunda ayrılır. Bu nedenle numune matriksinin, türevlendirilmiş reaktiflerle reaksiyon sırasında hiçbir etkisi yoktur.
Türevlendirme reaksiyonları numune matrisinde gerçekleştirildiğinden yan reaksiyonlar ve girişimler göz önünde bulundurularak prosedür belirlenmeli ve analiti seçici olarak belirleyebilen bir reaktif seçilmelidir.	Türevlendirme reaksiyonları numunede değil kolon sonrası ayrılma tamamlandıktan sonra gerçekleştiğinden kromatografik çözünürlüğü korumak için prosedürün önceden dikkatlice hazırlanması ve kontrol edilmesi gerekir.

Analit dönüşümü kromatografi başlatılmadan önce tamamlandığından, kolon sonrası oluşan bantlar üzerinde etkisi olmaz	Analit dönüşümü kromatografi başlatıldıktan sonra tamamlandığından kolon sonrası oluşan bantlar üzerinde etkisi olur.
Türevlendirme işlemi tüm analitlere eş zamanlı uygulanır. Bu durum türevlendirmenin düşük verimde olmasına ve analit türevlerinin konsantrasyonunun, numunedeki konsantrasyonlarından farklı olmasına neden olabilir.	Türevlendirme işlemi izolasyonu yapılan analitlere uygulanır. Yeterli miktarda ve aktivitede reaktif ile her analit için ayrı zamanlarda yüksek verimle reaksiyon tamamlanır.
Sadece HPLC pompası yeterli.	HPLC pompası ile birlikte sisteme entegre farklı bir veya daha fazla PCD pompası gerekli.
Ters Faz HPLC uygulaması kullanılabilir.	Ters Faz HPLC uygulaması kullanılamaz.

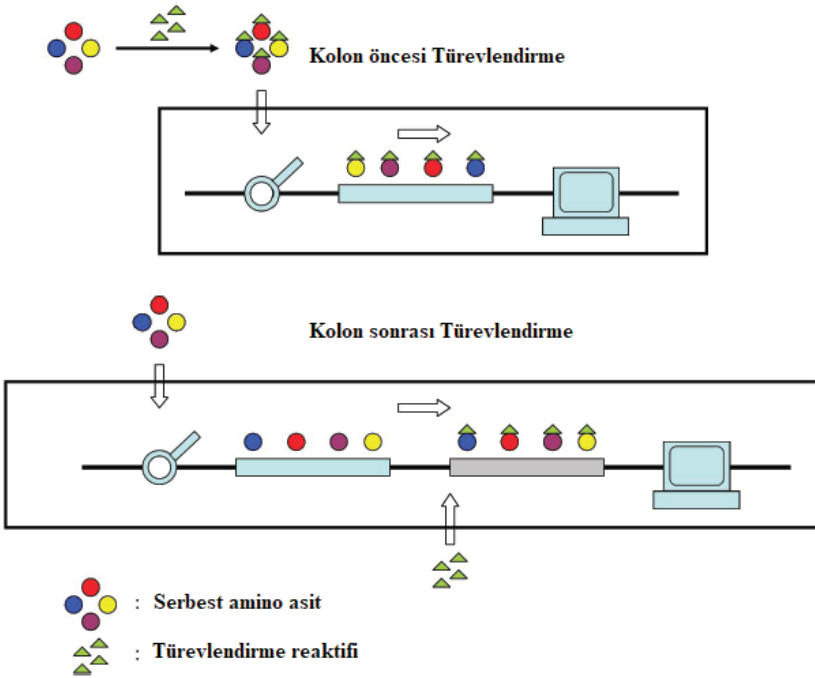
3.3.2 Amino Asit Analizlerinde Kolon Öncesi ve Sonrası Türevlendirmenin Karşılaştırılması

Son zamanlarda amino asitlerin analizde analitik laboratuvarlarında UPLC ve HPLC kullanımı artmaktadır. Geleneksel HPLC yöntemleri ile karşılaştırıldığında UPLC, 2 mikronun altındaki partikül büyüklüğü, yüksek doğrusal hıza sahip mobil fazı ve yüksek basınç sağlayan ekipmanları ile çözünürlük, hassasiyet ve analiz hızı gibi parametrelerde ciddi artışlar sağlamıştır. Aminoasitlerin kolon öncesi ve sonrası türevlendirme işlemlerinin sonuçlarını karşılaştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada amino asitler iki yolla analiz edilmiş olup, Tablo 2’de kolon öncesi ve sonrası türevlendirme yöntemlerine ait kullanılan parametreler verilmiştir. Ayrıca kolon öncesi ve sonrası türevlendirmenin şeması da Şekil 2’de verilmiştir (Zhu vd., 2012).

Tablo 2. Kolon öncesi ve sonrası türevlendirme yöntemlerine ait parametreler

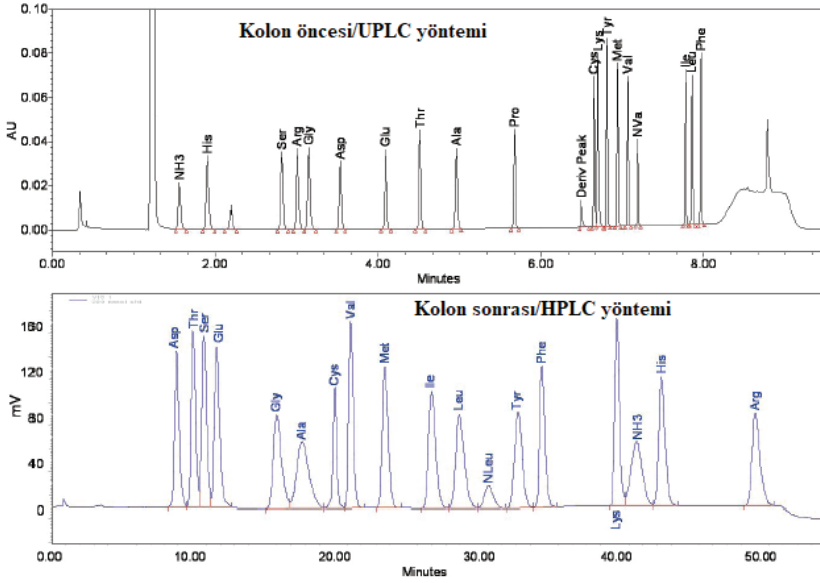
Yöntem	Kolon öncesi	Kolon sonrası
Dalga boyu	260nm	440nm (Pro için 570nm)
Türevlendirme reaktifi	6-aminokinolil-N-hidroksisüksinimidil karbamat (AQC)	Ninhidrin
Analiz süresi	9.5 dak.	84.8 dak.
Enjeksiyon hacmi	1µL	20 µL
İç standart	Norvalin	Norlösin

Numune	Sığır Serum Albümini (BSA)	Sığır Serum Albümini (BSA)
Cihaz	RF-UPLC	Katyon Değiştirici-HPLC



Şekil 2. Kolon öncesi ve sonrası türevlendirmenin şeması (Zhu vd., 2012)

Çalışmada çözünürlük ve hassasiyetin kolon öncesi türevlendirme yönteminde kolon sonrasına göre önemli ölçüde daha iyi olduğu bildirilmiştir. Her iki yöntemde ait kromatogram örneği Şekil 3’de verilmiştir. 17 amino asit için yapılan analizde doğrusallık için belirleme katsayıları (R^2) karşılaştırıldığında kolon öncesi-UPLC’de 4 amino asidin $R^2=1$ ve geri kalanların $R^2>0,99$, kolon sonrası-HPLC’de ise 15 amino asidin $R^2=1$ geri kalanların ise $R^2>0,99$ olarak bulunmuştur. Amino asitlerin geri kazanım değerleri de kolon öncesi ve sonrası yöntemde sırasıyla %91,4-110,2 ve %86,2-108,2 olarak bildirilmiştir (Zhu vd., 2012).



Şekil 3. Kromatogram örneği (Zhu vd., 2012)

4. YORUM

Bu çalışmada, farklı matris ortamında analitlerin LC analizi için gerekli türevlendirme uygulamaları sunulmuştur. LC için, türevlendirme reaksiyonları özellikle çeşitli matrislerde amino asitlerin, biyojenik aminlerin ve ilaç etken maddeleri gibi analitlerin analizinde dedektörlerin [ultraviyole (UV), floresans, kemilüminsans, enantiyomerik belirleme ve kütle spektrometrisi (MS)] hassasiyetini ve seçiciliğini arttırmak için gereklidir. Her ne kadar günümüzde reaksiyon koşulları, reaktif uygunluğu ve saptama limitlerinde önemli ölçüde iyileşme gözlenirse de, bu çalışmada, kolon öncesi ve sonrası yapılan türevlendirme prosedürlerindeki analitik zorluklar incelenmiş ve alınması gereken tedbirler sunulmuştur. Türevlendirme prosedürlerinde matris ortamına göre çeşitli yöntemler ve teknolojiler kullanılmıştır, her yöntemin avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle, farklı kullanımları ve özelliklerini göz önünde bulundurarak farklı amaçlar için en iyi yolun seçilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Achaintre, D. Bulet'e, A. Cren-Oliv'e, C., vd., (2016). Differential isotope labeling of 38 dietary polyphenols and their quantification in urine by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 88(5):2637–2644.
- Adegoke, O. A. (2012). An overview of applications of pre-column derivatization reactions for the liquid chromatographic analysis of pharmaceuticals and other compounds. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 6(14):129-140.
- Aflaki, F., Ghoulipour, V., Saemian, N., Salahinejad, M. (2014). A simple method for benzoyl chloride derivatization of biogenic amines for high performance liquid chromatography. *Analytical Methods*, 6(5):1482–1487.
- Aflaki, F., Ghoulipour, V., Saemian, N., Sheibani, S. (2014b). Biogenic amine contents in non-alcoholic beers: screening and optimization of derivatization. *Food Analytical Methods*, 7(3):713–720.
- Andic, S., Genccelep, H., Kose, S. (2010). Determination of biogenic amines in herby cheese. *International Journal of Food Properties*, 13(6):1300–1314.
- Cai, Y., Sun, Z., Chen, G., vd., (2016). Rapid analysis of biogenic amines from rice wine with isotope-coded derivatization followed by high performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 192:388–394.
- Capitan-Vallvey, L. F., Titos, A., Checa, R., Navas N. (2002). High-performance liquid chromatography determination of Zn-bacitracin in animal feed by post-column derivatization and fluorescence detection. *J Chromatogr A*. 18;943(2):227-34.
- Cheng, J.Y., Feng, F., Zhuang, B.Y. (2009). Development of a new prederivatization LC method for analysis of branched-chain and aromatic amino acids in rat plasma and to monitor their dynamic variation as a result of acute hepatic injury; *Chromatographia*, 70:57–65.
- Choi, C. K. and Dong, M. W. (2005). Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. *Separation Science and Technology*.
- Dorresteyn, R. C., Berwald, L. G., Zomer, G., vd., (1996). Determination of amino acids using ophthalaldehyde- 2- mercaptoethanol derivatization: Effect of reaction conditions. *J. Chromatogr. A*, 724:159-167.
- Drabkova, P., Andrlava, L., Kand'ar, R. (2017). An HPLC method for the determination of selected amino acids in human embryo culture medium. *Biomedical Chromatography*, 31(2): 1–11.
- Einarsson, S. (1985). Selective determination of secondary amino acids using precolumn derivatization with 9-fluorenylmethylchloroformate and

- reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 348:213-220.
- Farthing, D., Larus, T., Fakhry, I., vd., (2004). Liquid chromatography method for determination of bivalirudin in human plasma and urine using automated ortho-phthalaldehyde derivatization and fluorescence detection. *J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 802(2):355-9.
- Gifford, L. A., Owusu-Daaku, F. T. K., Stevens, A. J. (1995). Acenaphthene fluorescence derivatisation reagents for use in high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 725(2):201-212.
- Gottschalk, M. (2007). An Overview of Post Column Derivatization Methods from a Pharmaceutical Applications Perspective. Pickering Laboratories, Inc. 800-654-3330 www.pickeringlabs.com.
- Huang, G., Hou, J., Zhou, X. (2009). A measurement method for atmospheric ammonia and primary amines based on aqueous sampling, OPA derivatization and HPLC analysis; *Environmental Science & Technology*, 43(15):5851–5856.
- Ibrahim, E. M. A. and Amer, A. A. M. (2010). Comparison of biogenic amines levels in different processed cheese varieties with regulatory specifications. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 5(2):127–133.
- Jia, S., Ryu, Y., Kwon, S. W., Lee, J. (2013). An in situ benzylation- dispersive liquid-liquid microextraction method based on solidification of floating organic droplets for determination of biogenic amines by liquid chromatography-ultraviolet analysis,” *Journal of Chromatography A*, 1282:1–10.
- Jia, S., Kang, Y. P., Park J. H., vd., (2011). Simultaneous determination of 23 amino acids and 7 biogenic amines in fermented food samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(51): 9174–9182.
- Katrusiak, A. E., Paterson, P. G, Kamencic, H., Shoker A., Lyon, A.W. (2001). Pre-column derivatization high-performance liquid chromatographic method for determination of cysteine, cysteinyl-glycine, homocysteine and glutathione in plasma and cell extracts, *J Chromatogr. B Biomed Sci Appl.* 758(2):207-212.
- Kretschmer, A., Giera, M., vd., (2011). Derivatization of carboxylic acids with 4-APEBA for detection by positive-ion LC-ESI-MS(/MS) applied for the analysis of prostanoids and NSAID in urine. *J. Chromatogr. B*, 879:1393-1401.
- Kuśmirek, K., Chwatko, G., Głowacki, R., vd., (2011). Ultraviolet derivatization of low-molecular-mass thiols for high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis analysis. *J. Chromatogr. B*, 879:1290-1307.

- Lanfranco, C. Moret, S., Purcaro, G. (2011). HPLC in food analysis, in Handbook of HPLC, D. Corradini, Ed., pp. 562–649, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Lazaro, C. A. and Conte-Junior, C. A. (2013). Chromatographic methods for biogenic amines determination in foods of animal origin. *Brazil Journal of Veterinary Research Animal Science*, 50 (6):430–446.
- Mazzucco, E., Gosetti, F., Bobba, M., vd., (2010). High-performance liquid chromatography–ultraviolet detection method for the simultaneous determination of typical biogenic amines and precursor amino acids. Applications in food chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1):127–134.
- Minocha, R., Long, S. (2004). Simultaneous separation and quantitation of amino acids and polyamines of forest tree tissues and cell cultures within a single high-performance liquid chromatography run using dansyl derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1035:63–73.
- Molnar-Perl, I. (2001). Derivatization and chromatographic behavior of the O-phthalaldehyde amino acid derivatives obtained with various SH-group-containing additives. *Journal of Chromatography. A*, 913(1): 283–302.
- Molnar-Perl, I. (2011). Advancement in the derivatizations of the amino groups with the O-phthaldehyde-thiol and with the 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride reagents. *Journal of Chromatography B*, 879(17–18):1241–1269.
- Molnár-Perl, I., Vasanits, A. (1999). Stability and characteristics of the O-phthalaldehyde/3-mercaptopropionic acid and O-phthalaldehyde/N-acetyl-L-cysteine reagents and their amino acid derivatives measured by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography. A*, 835(1): 73–91.
- Munir, M. A. and Badri, K. H. (2020). The Importance of Derivatizing Reagent in Chromatography Applications for Biogenic Amine Detection in Food and Beverages. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2020:1-14.
- Nakamura, H. (2001). Liquid Chromatography: The Secret Methods: Questions about HPLC that No One Has Been Able to Ask, and Their Answers (separate volume). Supervised by H. Nakamura. The Liquid Chromatography Research Association ed., Tsukuba Press, (Japanese).
- Nambara, T., Ikegawa, S., Hasegawa, M., Goto, J. (1978). High-pressure liquid chromatographic resolution of amino acid enantiomers by derivatization with new chiral reagents. *Anal. Chim. Acta*, 101:111-116.
- Negro, A., Garbisa, S., Gotte, L., Spina, M. (1987). The use of reverse-phase high-performance liquid chromatography and precolumn derivatization with dansyl chloride for quantitation of specific amino acids in collagen and elastin. *Analytical Biochemistry*, 160:39–46.

- Onal, A. Tekkeli, S. E. K. Onal, C. (2013). A review of the liquid chromatographic methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 138(1): 509–515.
- Oravec, P., Podhradský, D. (1995). High-performance liquid chromatography of amino acids after derivatization with 9-isothiocyanatoacridine. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 30:145-152.
- Ozawa, S. and Miyano, H. (2015). Advances in amino acid analysis and Amino Acid Analyzer L-8900. *The Hitachi Scientific Instrument News* 6:1-11.
- Ozdestan, O and Uren, A. (2009). A method for benzoyl chloride derivatization of biogenic amines for high performance liquid chromatography. *Talanta*, 78(4-5):1321–1326.
- Petsch, M., Seipelt, J., Mayer-Helm, B. X. (2004). A novel pre-column derivatization reaction for the determination of dithiocarbamates in plasma by high-performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 516:119-124.
- Roth, M. (1971) Fluorescence reaction for amino acids. *Analytical Chemistry*, 43(7):880–882.
- Sahasrabuddhey, B., Jain, A., Verma, K. K. (1999). Determination of ammonia and aliphatic amines in environmental aqueous samples utilizing pre-column derivatization to their phenylthioureas and high performance liquid chromatography. *Analyst*, 124:1017-1021.
- Santa, T. (2011). Derivatization reagents in liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr.*, 25(1-2):1-10.
- Shishan, Z., Mei-Yi, Z. (1986). Application of Pre-column Reaction to High-Performance Liquid Chromatography of Qinghaosu in Animal Plasma. *Anal. Chem.*, 58:289-292.
- Simat, V. and Dalgaard, P. (2010). Use of small diameter column particles to enhance HPLC determination histamine and other biogenic amines in seafood. *LWT—Food Science & Technology*, 44(2): 399–406.
- Stashenko, E. E. and Martinez, J. R. (2004). Derivatization and solid-phase microextraction. *Trends Anal. Chem.* 23:553-561.
- Stragierowicz, J., Darago, A., et al. (2017). Optimization of ultra-performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detector (FLD) method for the quantitative determination of selected neurotransmitters in rat brain. *Medycyna Pracy*, 68(5):583–591.
- Tahmouzi, S., Khaksar, R., Ghasemlou, M., (2011). Development and validation of an HPLC-FLD method for rapid determination of histamine in skipjack tuna fish (*Katsuwonus pelamis*). *Food Chemistry*, 126(2):756–761.
- Teng, Z., Lv, H., Zhang, Y., Zhang, Y., vd., (2016). Development of a Fluorescent Labeling Reagent for Determination of Proline and Hydroxyproline in

- Myeloma Patient Plasma by HPLC-FLD. *Journal of Chromatographic Science*, 54(10):1743–1751.
- Vallorani, L., Palma, F., Bellis, R.D., Piccoli, vd., (1998). Reversed-phase high-performance liquid chromatographic amino acid analysis of phosphoproteins electroblotted onto a polyvinylidene difluoride membrane using dimethylaminoazobenzene sulfonyl chloride as derivatizing reagent. *Analytical Biochemistry*, 258:376–379.
- Vijayabhaskar, V., Srivastava, P., Rajagopal, S. (2015). Breaking the sensitivity limitations of cytochrome P450 oxidation product: dansyl chloride derivatisation of 4-OH mephenytoin, a CYP2C19 metabolite and its application to in vitro CYP inhibition assay. *Journal of Chromatography B*, 989: 27–36.
- Vinas, P., Campillo, N., Lopez-Erroz, C., Hernandez-Cordoba, M. (1997). Use of post-column fluorescence derivatization to develop a liquid chromatographic assay for ranitidine and its metabolites in biological fluids. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.*, 693(2):443-9.
- Yasaka, Y., Ono, Y., Tanaka, M. (1998). (S)-(1)-1-Methyl-2-(6,7,-dimethoxy-2,3-naphthalimido) ethyl trifluoromethanesulfonate as a fluorescence chiral derivatizing reagent for carboxylic acid enantiomers in highperformance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 810:221-225.
- Yoon, K. R., Ko, S. O., Lee, S. M., Lee, H. (2007). Synthesis and characterization of carbazole derived nonlinear optical dyes; *Dyes Pigments*. 75:567–573.
- You, J. M., Shan, Y. C., Zhen, L., Zhang, L., Zhang, Y. K. (2003). Determination of peptides and amino acids from wool and beer with sensitive fluorescent reagent 2-(9-carbazole)-ethyl chloroformate by reverse phase highperformance liquid chromatography and liquid chromatography mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 313:17–27.
- Zacharis, C. K., Theodoridis, G. A., Voulgaropoulos, A. N. (2006). Coupling of sequential injection with liquid chromatography for the automated derivatization and on-line determination of amino acids. *Talanta*, 69(4):841–847.
- Zandy, S. L., Doherty, J. M., Wibisono, N. D., Gonzales, R. A. (2017). High sensitivity HPLC method for analysis of in vivo extracellular GABA using optimized fluorescence parameters for o-phthalaldehyde (OPA)/sulfite derivatives. *Journal of Chromatography B*, 1055–1056: 1–7.
- Zhang, L. Y., Li, Y. B., Zhou, H. F., et el. (2012). Determination of eight amino acids in mice embryonic stem cells by precolumn derivatization HPLC with fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 66:356–358.
- Zhang, L., You, J. M., Ping, G. C., vd., (2003b). Analysis of aromatic amines by high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization

- by 2-(9-carbazole)-ethyl- chloroformate. *Analytica Chimica Acta*, 494:141–147.
- Zhang, X. J., Wu, J. Y., Zhang, M. L., vd., (2003a). Usman, A.,vd.,; Two strong emitting coordination polymers with chain and ladder structures. *Transition Metal Chemistry*, 28:707–711.
- Zhang, Y. Y., Zhang, Y., Qu, Q. S., vd., (2013). Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in soybean samples by high performance liquid chromatography using a novel fluorescent labeling reagent. *Analytical Methods*, 5:6465–6472.
- Zhou, H. P., Li, D. M., Zhang, J. Z., vd., (2006). Crystal structures, optical properties and the theoretical calculation of novel two-photon polymerization initiators. *Chemical Physics*, 322:459–470.
- Zhu, S., Shah, P., Zhang, L., vd.,. (2012). M1067 Comparison of two Amino Acid Analysis Methods; Pre-Column Derivatization/RP-UPLC vs Post Column Derivatization/Cation-Exchange HPLC. National biotechnology conference, San Diego, California 21-23 May.
- Zhuang, X. M., Yuan, M., Zhang, Z. W., vd., (2008). Determination of 4-dimethylaminophenol concentrations in dog blood using LC-ESI/MS/MS combined with pre-column derivatization. *J. Chromatogr. B*, 876:76-82.

Bölüm 16

KUANTUM GRAFLARA KISA BİR GİRİŞ

Gökhan MUTLU¹

¹ Araş. Gör. Dr. Gökhan MUTLU, Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, Ankara, Türkiye. gmutlu@gazi.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-0674-2908

GİRİŞ

Kuantum graf, bir metrik graf üzerine etki eden diferansiyel operatörü ifade etmek için kullanılan yapıdır. Kuantum graf terimi 1990'lı yılların sonlarında kullanılmaya başlanmasına rağmen bu teorenin kökleri 1930'lu yıllara dayanmaktadır.

Kuantum graflar kuantum fizik, organik kimya, biyoloji, mühendislik, nano teknoloji vb. alanlardaki birçok problemin modellenmesinde kullanılmaktadır. Bu modeller bir graf ya da graf benzeri yapıda ya da bu yapıların ince komşuluklarında (genellikle mezoskopik ya da nano boyutta) dalga yayılımının diferansiyel denklemler yardımıyla modellenmesiyle elde edilir. Bu tür modellere örnek olarak kimyada konjüge moleküllerin serbest elektron teorisi (Pauling, 1936; Griffith, 1953a; 1953b), karbon nano tüpleri (Korotyaev ve Lobanov, 2007; Kuchment ve Post, 2007) fizikte süperiletkenlik teorisi (Alexander, 1983; Rubinstein ve Schatzman, 1998; 2001), fotonik kristaller teorisi (Figotin ve Kuchment, 1996; 1998; Axmann ve ark., 2007), mikroelettronik ve dalga kılavuzları teorisi (Mittra ve Lee, 1971; Exner ve Seba, 1989; Exner ve Kovarik, 2000; Mikhailova ve ark., 2007) biyolojide kan akışı ve sinir uyarılarının taşınması (Nicaise, 1985; Carlson, 2006), akustik (Cacciapuoti ve ark., 2006) verilebilir. Bu modellerle ilgili daha detaylı bilgi için (Kuchment, 2002) incelenebilir.

Kuantum graflar bazı kompleks yapıların basitleştirilmiş modellerinin elde edilmesi için de kullanılır. Bu yapılara örnek olarak Anderson lokalizasyonu (Aizenman ve ark., 2006a; 2006b), kuantum kaos (Kottos ve Smilansky, 1997; Gnutzmann ve Smilansky, 2006) ve kuantum alan teorisi (Bellazzini ve ark., 2008; Fulling ve Wilson, 2008) verilebilir. Kuantum grafların fen ve mühendislik alanındaki bütün bu uygulamalarının keşfedilmesiyle birlikte kuantum graflar üzerindeki çalışmalar 1980'li yıllarda yoğunlaşmaya başlamıştır. 1997 yılında (Kottos ve Smilansky, 1997) kuantum grafları kuantum kaosu modellemek için kullanmış ve bundan sonra kuantum graf terimi kabul görmüştür. Bu keşifle birlikte kuantum graflar özellikle son 20 yılda matematiksel fiziğin en aktif araştırma alanlarından biri haline gelmiştir.

Kuantum graflar üzerine yapılan çalışmalar graf teore, kombinatorik, matematiksel fizik, kısmi türevli denklemler ve spektral teore alanlarındaki yöntem ve sonuçları kullanır. Matematiksel açıdan bakıldığında kuantum graflar, kuantum sistemlerin olay uzayının geometrik ve topolojik özelliklerine bağlı olan özelliklerinin incelenmesi için iyi bir model oluşturur. Ayrıca kuantum grafların spektral özellikleri ve kuantum grafi oluşturan grafin topolojik ve kombinatorik özellikleri arasındaki ilişkiler matematiksel açıdan kuantum grafları ilgi çekici hale

getirmektedir. Kuantum graflar lokal olarak bakıldığında tek boyutlu, global olarak bakıldığında ise çok boyutlu özelliğe sahiptir.

Bu çalışmada kuantum graflarla ilgili genel bilgiler verilecektir. Özellikle son 20 yılda matematikçiler ve fizikçiler tarafından giderek artan bir ilgi gösterilen ve matematiksel fiziğin en aktif alanlarından biri olan kuantum graflarla ilgili Türkçe bir kaynak bulunmamaktadır. Bu çalışma bu eksikliği gidermek ve kuantum graflarla ilgili temel bilgileri derlemek için yapılmıştır. Bu çalışma 4 bölümden oluşmaktadır. 1. bölümde graf ve metrik graf kavramları tanıtılacak ve bazı temel özellikler verilecektir. 2. bölümde kuantum graf kavramı ifade edilecek ve köşe koşulları ele alınacaktır. 3. bölümde ise kompakt kuantum grafların spektral özellikleri ifade edilecek ve bazı örnekler verilecektir.

1.GRAFLAR VE METRİK GRAFLAR

Bu bölümde graf ve metrik graf kavramları tanıtılacak ve bazı temel özellikleri ifade edilecektir.

Tanım 1.1 $V = \{v_i\}$ kümesi elemanları köşe olarak adlandırılan ve $E = \{e_i\}$ kümesi elemanları kenar olarak adlandırılan boş olmayan iki küme ve her bir e kenarı $\{u, v\}$ şeklinde sıralı olmayan bir köşe ikilisi ile eşleştirilebilen $G = (V, E)$ ikilisine bir graf adı verilir. Eğer bir $e \in E$ kenarı için $e = \{v_i, v_j\}$ oluyorsa bu durumda e kenarı v_i ve v_j köşelerini bağlar ya da içerir denir ve v_i ve v_j köşelerine e kenarının uç noktaları denir. Ayrıca bu durumda v_i ve v_j köşeleri komşudur denir ve $v_i \sim v_j$ ile gösterilir. Eğer bir $e \in E$ kenarı için $e = \{v_i, v_i\}$ oluyorsa bu durumda e kenarına bir döngü adı verilir. Aynı köşe ikilisine sahip birden fazla kenar varsa bu durumda bu kenarlara çoklu (paralel) kenarlar denir. Döngü ve çoklu kenar içermeyen grafa basit graf denir. Hiçbir kenara bağlı olmayan bir köşeye izole köşe adı verilir. $v \in V$ köşesine bağlı olan bütün kenarların kümesini E_v ile gösterelim. E_v kümesinin eleman sayısına v köşesinin derecesi denir ve d_v ile gösterilir (Bondy ve Murty, 2008).

Tanım 1.2 $G = (V, E)$ bir graf olsun. Farklı kenarlardan oluşan bir $(e_1, e_2, \dots, e_n)$ sonlu dizisi için $e_i = \{v_i, v_{i+1}\}, i = 1, 2, \dots, n$ olacak biçimde farklı köşelerden oluşan bir $(v_1, v_2, \dots, v_{n+1})$ dizisi bulunabiliyorsa bu durumda $(e_1, e_2, \dots, e_n)$ dizisine v_1 ve v_{n+1} köşelerini bağlayan bir yol denir (Bondy ve Murty, 2008).

Tanım 1.3 $G = (V, E)$ bir graf olsun. Eğer her bir $e \in E$ kenarına bir yön atanırsa G ye bir yönlü graf denir. Bu durumda her bir $e \in E$ kenarı $v_i, v_j \in V$ olmak üzere $e = (v_i, v_j)$ şeklinde bir sıralı ikili olarak

gösterilebilir. Burada v_i ye e nin başlangıç köşesi, v_j ye ise e nin bitiş köşesi adı verilir (Bondy ve Murty, 2008).

Uyarı 1.1 Bu çalışmada bundan sonra her bir v köşesinin derecesinin sonlu ve pozitif olduğu kabul edilecektir. Çünkü derecesi sıfır olan izole köşeler kuantum graf çalışmalarında bir anlam ifade etmemektedir. Ayrıca genelliği bozmayacağı için bundan sonra ele alınan grafların basit graf olduğu yani döngü ve çoklu kenar içermediği kabul edilecektir. Çünkü döngü ya da çoklu kenar olması durumunda bu kenarların ortalarına eklenecek Neumann köşe koşullarına sahip köşeler grafin spektral özelliklerini değiştirmeyecektir.

Tanım 1.4 $G = (V, E)$ bir graf olsun. Eğer her bir $e \in E$ kenarına pozitif bir uzunluk l_e atanırsa G ye bir metrik graf adı verilir. Burada l_e uzunluğu sonsuz olabilir (Berkolaiko ve Kuchment, 2013).

Bir metrik grafta her bir $e \in E$ kenarı reel eksenin $[0, l_e]$ şeklindeki sonlu ya da sonsuz bir aralığıyla eşleştirilebilir. Bu şekilde bir eşleştirme yapıldığını varsayalım. Eğer $l_e < \infty$ ise e kenarının uç noktaları 0 ve l_e noktalarıyla e kenarının diğer noktaları ise $(0, l_e)$ aralığındaki bir noktayla eşleştirilebilir. Bu ise e kenarına bir yön atanmasına ve aynı zamanda e kenarı üzerindeki her noktaya x_e koordinatı atanmasına yol açar. Eğer l_e uzunluğu sonsuz ise e kenarının sadece bir uç noktası vardır ve bu uç nokta 0 ile eşleştirilir, diğer noktalar ise $(0, \infty)$ aralığındaki bir x_e koordinatına sahiptir. Bu şekilde G grafi bir boyutlu simplikal kompleks adı verilen bir topolojik uzay yapısına sahip olur. Bu uzay grafin bütün kenarlarından oluşur ve burada aynı köşeye karşılık gelen uç noktalar birbiriyle eşleştirilmiştir.

Ayrıca G metrik grafi bir metrikle donatılabilir. $(e_1, e_2, \dots, e_n)$ dizisi bir yol ise bu yolun uzunluğu $\sum_{i=1}^n l_{e_i}$ olarak tanımlanabilir. Bu durumda u ve v köşeleri arasındaki uzaklık $\rho(u, v)$ bu iki köşeyi bağlayan yol uzunluklarının minimumu olarak tanımlansın. Uç nokta olmayan noktalar arasındaki uzaklık da benzer şekilde tanımlanabilir ve bu şekilde tanımlanan ρ fonksiyonu G üzerinde bir metrik tanımlar (Berkolaiko ve Kuchment, 2013).

Tanım 1.5 $G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. Eğer V kümesi ya da eşdeğer olarak E kümesi sonlu ise G ye sonlu graf aksi halde sonsuz graf denir. Her kenarının uzunluğu sonlu olan sonlu bir metrik grafa kompakt graf denir. Kompakt bir metrik graf topolojik uzay olarak da kompakttır (Berkolaiko ve Kuchment, 2013).

G metrik grafi üzerinde tanımlanan bir f fonksiyonu grafin her bir kenarı üzerinde tanımlı fonksiyonların oluşturduğu vektör değerli bir fonksiyon olarak düşünülebilir, yani

$$f = (f|_{e_1}, f|_{e_2}, \dots, f|_{e_m})$$

şeklinindedir. Burada her $i = 1, 2, \dots, m$ için

$$f|_{e_i}: [0, l_{e_i}] \rightarrow \mathbb{C}$$

biçimindedir. Her bir e kenarı üzerinde tanımlanan x_e koordinatı sayesinde G metrik grafi üzerinde Lebesgue ölçüsü dx tanımlanabilir. Bu ölçü yardımıyla metrik graf üzerinde standart fonksiyonları tanımlanabilir.

Tanım 1.6 $G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. G metrik grafi üzerinde tanımlı ve her $e \in E$ kenarı üzerinde Lebesgue ölçülebilir, karesi integrallenebilir ve

$$\|f\|_{L_2(G)} := \sum_{e \in E} \|f\|_{L_2(e)}^2 < \infty$$

özellikliğini sağlayan fonksiyonların uzayını $L_2(G)$ ile gösterelim. Kısaca $L_2(G)$ uzayı $L_2(e)$ uzaylarının direkt toplamıdır. $L_2(G)$ uzayının bir Hilbert uzayı olduğu kolayca gösterilebilir (Berkolaiko ve Kuchment, 2013).

2.KUANTUM GRAFLAR

Bu bölümde kuantum graf kavramı tanıtılacak ve kuantum grafların bazı temel özellikleri ifade edilecektir.

2.1. Kuantum Graf Operatörleri

$G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. G nin bir kuantum graf olması için G üzerinde tanımlı fonksiyonlar üzerine etki eden bir diferansiyel operatör (Hamiltonyan) ele almalıyız.

Literatürde genellikle Hamiltonyan olarak her bir kenar üzerinde negatif ikinci türev olarak etki eden Laplace operatörü

$$L: f(x_e) \rightarrow -\frac{d^2 f(x_e)}{dx_e^2} \quad (2.1)$$

ya da Schrödinger operatörü

$$H: f(x_e) \rightarrow -\frac{d^2 f(x_e)}{dx_e^2} + Q_e(x_e) \quad (2.2)$$

ele alınır. Burada x_e koordinatı e kenarı üzerindeki koordinatı göstermektedir ve Q bir potansiyeldir. Bu operatörler için kenarların yönü önemsizdir. Ancak birinci mertebe türevler içeren operatörler için grafin yönlü olması gerekmektedir. Bu duruma örnek olarak manyetik Schrödinger operatörü

$$M: f(x_b) \rightarrow \left(\frac{1}{i} \frac{d}{dx_b} - A_b(x_b) \right)^2 f(x_b) + Q_b(x_b) f(x_b) \quad (2.3)$$

verilebilir. Burada A bir manyetik vektör potansiyeli, Q ise elektrik potansiyeli ve x_b koordinatı yönlü b kenarı üzerindeki koordinatı göstermektedir. Ayrıca A manyetik vektör potansiyeli kenarın yönü değişince işaret değiştirir yani $A_b(x_b) = -A_{\bar{b}}(x_{\bar{b}})$ olur, burada $x_{\bar{b}} = L_b - x_b$ şeklindedir.

Kuantum graf üzerinde etki eden Hamiltonyanın tanımının tam olarak verilebilmesi için tanım kümesi verilmelidir. Ayrıca sınır koşullarına ihtiyaç vardır. Kuantum graflar söz konusu olduğunda sınır koşullarının yerini köşe koşulları alır.

Bu çalışmada bundan sonra sonlu kuantum graflar ve Hamiltonyan olarak (2.1) ifadesiyle verilen Laplace operatörü ele alınacaktır. Bu operatörün tanımlanabilmesi için graf üzerinde tanımlı f fonksiyonunun her bir e kenarı üzerinde $H^2(e)$ uzayına ait olması gerekmektedir. Burada $H^2(e) = W_2^2(e)$ ile e kenarı üzerinde ikinci mertebeden zayıf türevleri $L^2(e)$ uzayında bulunan fonksiyonların Sobolev uzayı gösterilmektedir. Ayrıca bu operatörün tanım kümesini ifade edebilmemiz için köşe koşullarına ihtiyaç vardır. (2.1) ifadesiyle verilen Laplace operatörü için köşe koşulları fonksiyonun ve birinci türevinin o köşedeki değerlerini içermelidir. Ayrıca her kenar için iki koşul olması gerektiği için her bir $v \in V$ köşesinde d_v tane koşul bulunmalıdır.

Sonlu graflar için en genel köşe koşulları matris formunda ifade edilebilir. Bunun için her bir e kenarı üzerinde $H^2(e)$ uzayına ait olan graf üzerinde tanımlı f fonksiyonunu ele alalım. Bir $v \in V$ köşesindeki köşe koşullarını matrisler yardımıyla ifade edelim. v köşesine bağlı olan kenarlar $e_1, e_2, \dots, e_d$ olsun. Bu durumda

$$F_v := \begin{bmatrix} f_1(v) \\ f_2(v) \\ \vdots \\ f_d(v) \end{bmatrix}, \quad F_v' := \begin{bmatrix} f_1'(v) \\ f_2'(v) \\ \vdots \\ f_d'(v) \end{bmatrix}, \quad (2.4)$$

vektörlerini tanımlayalım. Burada $f_i = f|_{e_i}$, $i = 1, 2, \dots, d$ dir. A_v ve B_v $d \times d$ tipinde matrisler olmak üzere v köşesindeki en genel köşe koşulları

$$A_v F_v + B_v F_v' = 0, \quad (2.5)$$

şeklinde ifade edilir. Burada $d_v = d$ tane bağımsız koşulun varlığını garanti etmek için

$$\text{rank}(A_v | B_v) = d_v = d$$

olduğunu kabul etmeliyiz.

(2.1) ifadesi ile verilen L Hamiltonyanının tanım kümesi aşağıdaki özellikleri sağlayan $f \in L_2(G)$ fonksiyonlarından oluşur;

- Her $e \in E$ kenarı için $f|_e \in H^2(e)$,

- Her $v \in V$ köşesinde (2.5) köşe koşulları sağlanır.

Şimdi (2.1) ifadesi ile verilen L Hamiltonyanının bir selfadjoint operator olması için gereken köşe koşullarını ifade eden teoremi ifade edelim.

Teorem 2.1 $G = (V, E)$ sonlu bir metrik graf olsun. G üzerinde (2.1) ifadesi ile verilen ve tanım kümesi her $e \in E$ kenarı için $f|_e \in H^2(e)$ uzayına ait ve her köşede f fonksiyonunun ve birinci türevinin o noktadaki değerlerini içeren köşe koşullarını sağlayan $f \in L_2(G)$ fonksiyonlarından oluşan L Hamiltonyanını ele alalım. Bu Hamiltonyanın selfadjoint olması için gerek ve yeter koşul köşe koşullarının aşağıdaki formlardan biri şeklinde yazılabilesidir:

- Her $v \in V$ köşesi için köşe koşulları

$$A_v F_v + B_v F_v' = 0$$

sağlanacak şekilde $d_v \times d_v$ tipinde A_v ve B_v matrisleri vardır ve

$$\text{rank}(A_v | B_v) = d_v,$$

$$A_v B_v^* = B_v A_v^*$$

koşulları sağlanır.

- Her $v \in V$ köşesi için

$$i(U_v - I_{d_v})F_v + (U_v + I_{d_v})F_v' = 0$$

olacak biçimde $d_v \times d_v$ tipinde üniter U_v matrisi vardır. Burada I_{d_v} ile $d_v \times d_v$ tipinde birim matris gösterilmektedir.

- Her $v \in V$ köşesi için

$$P_{D,v} F_v = 0,$$

$$P_{N,v} F_v' = 0,$$

$$P_{R,v} = I - P_{D,v} - P_{N,v}$$

$$P_{R,v} F_v' = \Omega_v P_{R,v} F_v,$$

eşitliklerini sağlayan $\mathbb{C}^{d_v}$ uzayında tanımlı $P_{D,v}, P_{N,v}, P_{R,v}$ ortogonal izdüşüm operatörleri ve $P_{R,v} \mathbb{C}^{d_v}$ alt uzayında tanımlı, tersinir ve selfadjoint Ω_v operatörü mevcuttur (Kuchment, 2004; 2008; Berkolaiko ve Kuchment, 2013).

Tanım 2.1 Bir metrik graf, o metrik graf üzerinde tanımlanan diferansiyel operator (Hamiltonyan) ve her köşede verilen köşe koşullarından oluşan yapıya kuantum graf adı verilir (Berkolaiko ve Kuchment, 2013).

2.2. Köşe Koşulları

Bu bölümde kuantum graflarda en sık karşılaşılan köşe koşullarına örnekler verilecektir.

2.2.1. Neumann Koşulları

Literatürde en sık kullanılan köşe koşulları Neumann, Kirchoff ya da standart köşe koşulları olarak bilinen koşullardır. $G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. Bir $v \in V$ köşesi için Neumann koşulları aşağıdaki şekilde verilir;

1. f, v köşesinde süreklidir yani v köşesine bağlı olan her e_i ve e_j kenarı için $f|_{e_i}(v) = f|_{e_j}(v)$,
2. $\sum_{e \in E_v} \frac{df}{dx_e}(v) = 0$ dır. Burada toplam v köşesine bağlı olan e kenarları üzerinden alınmaktadır ve türevler köşeden kenara giden yönde alınmaktadır.

Neumann köşe koşullarını (2.5) matris formunda yazabiliriz. Burada A_v ve B_v matrisleri $d_v \times d_v$ tipinde olup aşağıdaki gibidir:

$$A_v = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \end{bmatrix}, B_v = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 1 & 1 & \cdots & 1 \end{bmatrix}.$$

Buradan $\text{rank}(A_v|B_v) = d_v$ ve $A_v B_v^* = B_v A_v^*$ olduğu kolayca görülebilir. Dolayısıyla Teorem 2.1 in i. maddesinden dolayı her köşesinde Neumann koşullarına sahip bir kuantum graf selfadjointtir.

2.2.2. δ -tipi Köşe Koşulları

$G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. Bir $v \in V$ köşesi için δ -tipi köşe koşulları aşağıdaki şekilde verilir;

1. f, v köşesinde süreklidir,
2. $\sum_{e \in E_v} \frac{df}{dx_e}(v) = \alpha_v$ dir. Burada toplam v köşesine bağlı olan e kenarları üzerinden alınmaktadır ve türevler köşeden kenara giden yönde alınmaktadır. Ayrıca α_v sabit bir sayıdır.

Dikkat edilecek olursa δ -tipi köşe koşullarında $\alpha_v = 0$ alınması durumunda Neumann koşulları elde edilir. Ayrıca δ -tipi köşe koşullarını (2.5) matris formunda yazabiliriz. Burada A_v ve B_v matrisleri $d_v \times d_v$ tipinde olup aşağıdaki gibidir:

$$A_v = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & -1 \\ -\alpha_v & 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \end{bmatrix}, B_v = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 1 & 1 & \cdots & 1 \end{bmatrix}.$$

Buradan

$$A_v B_v^* = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \dots & -\alpha_v \end{bmatrix}$$

olup $A_v B_v^* = B_v A_v^*$ olması için gerek ve yeter koşul $\alpha_v \in \mathbb{R}$ olmasıdır. Dolayısıyla her $v \in V$ köşesi için $\alpha_v \in \mathbb{R}$ ise bu şekilde edilen kuantum graf Teorem 2.1 in i. maddesinden dolayı selfadjointtir.

2.2.3. Dirichlet Köşe Koşulları

$G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. Bir $v \in V$ köşesi için Dirichlet köşe koşulları

$$f(v) = 0$$

biçimindedir. Eğer grafın her köşesinde Dirichlet koşulları varsa bu durumda graf spektrumu bütün kenarların ayrı ayrı spektrumlarının birleşiminden oluşur. Ayrıca Dirichlet koşulları (2.5) matris formunda yazılırsa $A_v = I_{d_v}$ ve $B_v = 0$ olur. Dolayısıyla Teorem 2.1 in i. maddesinden dolayı her köşesinde Dirichlet koşulları mevcut olan graf selfadjointtir.

2.2.4. Genişletilmiş δ -tipi Köşe Koşulları

$G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. $0 \leq \alpha_v \leq \pi/2$ olmak üzere $v \in V$ köşesi için genişletilmiş δ -tipi köşe koşulları aşağıdaki şekilde verilir;

1. f, v köşesinde süreklidir,
2. $\cos(\alpha_v) \sum_{e \in E_v} \frac{df}{dx_e}(v) = \sin(\alpha_v) f(v)$ dir. Burada toplam v köşesine bağlı olan e kenarları üzerinden alınmaktadır ve türevler köşeden kenara giden yönde alınmaktadır.

Genişletilmiş δ -tipi köşe koşulları Neumann, Dirichlet ve δ -tipi köşe koşullarını genelleştirmektedir. Eğer $\alpha_v = 0$ alınırsa Neumann, $\alpha_v = \pi/2$ alınırsa Dirichlet ve $0 < \alpha_v < \pi/2$ alınırsa δ -tipi köşe koşulları elde edilir.

2.2.5. δ' -tipi Köşe Koşulları

$G = (V, E)$ bir metrik graf olsun. Bir $v \in V$ köşesi için α_v sabit bir sayı olmak üzere δ' -tipi köşe koşulları aşağıdaki şekilde verilir;

1. f', v köşesinde süreklidir, yani her $e \in E_v$ kenarı için $\frac{df_e}{dx_e}(v)$ değeri aynıdır.

2. $\sum_{e \in E_v} f_e(v) = \alpha_v \frac{df}{dx}(v)$ dir. Burada toplam v köşesine bağlı olan e kenarları üzerinden alınmaktadır.

δ' -tipi köşe koşullarını (2.5) matris formunda yazabiliriz. Burada A_v ve B_v matrisleri $d_v \times d_v$ tipinde olup aşağıdaki gibidir:

$$B_v = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & -1 \\ -\alpha_v & 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \end{bmatrix}, A_v = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 1 & 1 & \cdots & 1 \end{bmatrix}.$$

Buradan

$$A_v B_v^* = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & 0 & \cdots & -\alpha_v \end{bmatrix}$$

olup $A_v B_v^* = B_v A_v^*$ olması için gerek ve yeter koşul $\alpha_v \in \mathbb{R}$ olmasıdır. Dolayısıyla her $v \in V$ köşesi için $\alpha_v \in \mathbb{R}$ ise bu şekilde edilen kuantum graf Teorem 2.1 in 1. maddesinden dolayı selfadjointtir.

3.KOMPAKT Kuantum GRAFLARIN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ

Bu bölümde kompakt kuantum grafların spektrumunun yapısı incelenecek ve bazı örnekler verilecektir.

Teorem 3.1 $G = (V, E)$ kompakt bir metrik graf olsun. $\mathcal{H}$ Hamiltonyanı her $e \in E$ kenarı üzerinde etki eden

$$H: f(x_e) \rightarrow -\frac{d^2 f(x_e)}{dx_e^2} + Q_e(x_e)$$

operatörü ve Teorem 2.1 (i) köşe koşullarından oluşan Hamiltonyan olsun. G kuantum grafinin ya da eşdeğer olarak $\mathcal{H}$ Hamiltonyanının spektrumu $\sigma(\mathcal{H})$, sonlu katlılığa sahip λ_i ayrık özdeğerlerinden oluşur ve $\lambda_i \rightarrow \infty, i \rightarrow \infty$ dur.

İspat. Teorem 2.1 den dolayı $\mathcal{H}$ Hamiltonyanı selfadjointtir. Dolayısıyla rezolvent operatörü $(\mathcal{H} - iI)^{-1}$ mevcuttur ve $L_2(G)$ uzayını sürekli olarak $D(\mathcal{H}) \subset H^2(G) := \bigoplus_{i=1}^{|E|} H^2[0, l_{e_i}]$ kümesine resmeder. Sobolev gömme teoreminden dolayı

$$H^2(G) \rightarrow L_2(G)$$

gömme fonksiyonu ve dolayısıyla rezolvent operatörü $(\mathcal{H} - iI)^{-1}$ kompaktır. Bu ise spektrumun ayrık olduğunu gösterir (Berkolaiko ve Kuchment, 2013).

Örnek 3.1 Kuantum graflara en basit örnek olarak bir $[0, l]$ aralığı alınabilir ($l < \infty$). Bu aralığa iki köşeden ve bir kenardan oluşan en basit kuantum graf gözüyle bakılabilir (bkz Şekil 1).



Şekil 1: Sonlu Bir Aralık

Hamiltonyan olarak

$$L: f \rightarrow -\frac{d^2 f}{dx^2}$$

operatörünü ele alalım. Bu grafin köşelerinde Neumann köşe koşullarının bulunduğunu varsayalım. Bu durumda köşe koşulları

$$f'(0) = 0, -f'(l) = 0$$

biçimindedir. Teorem 2.1 den bu graf selfadjointtir ve Teorem 3.1 den spektrumu ayrıktır. Ayrıca bu operatörün negatif olmayan olduğu kolayca gösterilebilir. Dolayısıyla $\lambda = k^2 > 0$ olmak üzere

$$-f'' = k^2 f \quad (3.1)$$

özdeğer denkleminde bakalım. Bu denklemin genel çözümü a_1 ve a_2 sabit sayılar olmak üzere

$$f(x) = a_1 \cos(kx) + a_2 \sin(kx)$$

biçimindedir. $f'(0) = 0$ koşulunu uygularsak $a_2 = 0$ ve

$$f(x) = a_1 \cos(kx)$$

olur. $f'(l) = 0$ koşulunu uygularsak $a_1 k \sin(kx) = 0$ bulunur. Buradan $a_1 \neq 0$ için

$$k = \pi n / l, n = 1, 2, \dots$$

bulunur. Dolayısıyla pozitif özdeğerler

$$\lambda = k^2 = \left(\frac{\pi n}{l}\right)^2, n = 1, 2, \dots \quad (3.2)$$

ve bu özdeğerlere karşılık gelen özfonksiyonlar

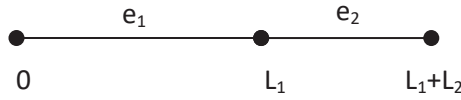
$$f(x) = \cos\left(\frac{\pi n}{l} x\right), n = 1, 2, \dots$$

şeklinde. Ayrıca (3.1) denkleminde $\lambda = k^2 = 0$ alınırsa $f(x) = 1$ fonksiyonu da bir özfonksiyon olur. Dolayısıyla $\lambda = 0$ da bir özdeğerdir. Son eşitlikte ve (3.2) eşitliğinde $n = 0$ alınırsa $f(x) = 1$ özfonksiyonu ve $\lambda = 0$ özdeğeri elde edilir. Dolayısıyla tüm spektrum

$$\lambda = k^2 = \left(\frac{\pi n}{l}\right)^2, n = 0, 1, 2, \dots$$

sayılarından oluşur.

Örnek 3.2 Uzunlukları L_1 ve L_2 olan iki kenardan oluşan kompakt yıldız grafi ele alalım (bkz Şekil 2)



Şekil 2: İki Kenarlı Kompakt Star Graf

Bu grafi uç uca eklenmiş sonlu iki aralık olarak düşünebiliriz. Burada aralıklar $[0, L_1]$ ve $[L_1, L_1 + L_2]$ olarak alınabilir. Burada her köşede Neumann koşulları bulunduğunu varsayalım ve Hamiltonyan olarak $L: f \rightarrow -\frac{d^2 f}{dx^2}$ operatörünü ele alalım. Öz fonksiyonun e_1 kenarı üzerindeki bileşeni f_1 , e_2 kenarı üzerindeki bileşeni f_2 olsun. Bu durumda köşe koşulları

$$\begin{aligned} f_1'(0) &= 0, \\ -f_2'(L_2) &= 0, \end{aligned}$$

$$f_1(L_1) = f_2(L_1), \quad (3.3)$$

$$-f_1'(L_1) + f_2'(L_1) = 0, \quad (3.4)$$

şeklindedir. Teorem 2.1 den bu graf selfadjointtir ve Teorem 3.1 den spektrumu ayrıktır. Ayrıca bu operatörün negatif olmayan olduğu kolayca gösterilebilir. Dolayısıyla $\lambda = k^2 > 0$ olmak üzere (3.1) özdeğer denklemini ele alalım. $f_1'(0) = 0$ koşulundan dolayı

$$f_1(x) = a_1 \cos(kx)$$

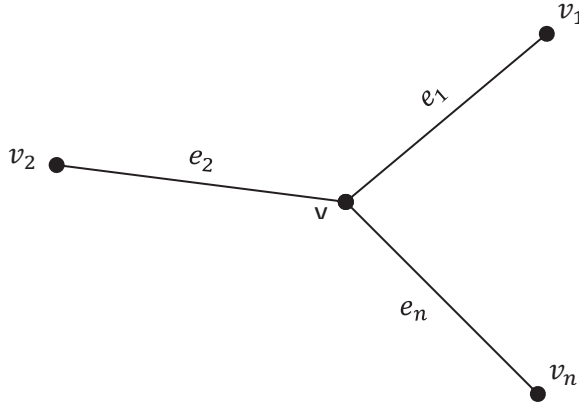
biçimindedir. İkinci mertebeden diferansiyel denklemlerin teklik teoreminden dolayı (3.1) denkleminin e_2 kenarı üzerindeki çözümü fonksiyonun ve birinci türevinin L_1 noktasındaki değeriyle belirlidir. (3.3) ve (3.4) koşullarından

$$f_2(x) = a_1 \cos(kx)$$

şeklindedir. Buradan görülmektedir ki merkez köşenin varlığı öz fonksiyonu değiştirmemektedir, yani bu öz fonksiyon ile merkez köşe kaldırılarak elde edilen $[0, L_1 + L_2]$ aralığından oluşan graf üzerindeki öz fonksiyon aynıdır. Dolayısıyla Şekil 2 deki graf spektral açıdan eşdeğerdir $[0, L_1 + L_2]$ aralığından oluşan grafa eşdeğerdir. Bu grafın spektrumu ise 1. örnekte bulunmuştur. Bu durumu genelleştirerek aşağıdaki kuralı elde edebiliriz.

Uyarı 3.1 Derecesi 2 olan ve Neumann köşe koşullarına sahip köşeler silinebilir. Bu durumda kuantum graflarda genelliği bozmayacağı için döngü ve çoklu kenarların yok olduğunu kabul edebiliriz. Çünkü bu kenarların varlığında kenarın orta noktasına Neumann köşe koşullarına sahip bir köşe eklenerek döngü ya da çoklu kenar kaldırılabilir.

Örnek 3.3 Her birinin uzunluğu l_i sonlu olan n tane kenardan oluşan ($n < \infty$) kompakt yıldız grafi ele alalım (bkz Şekil 3). Burada her köşede Neumann koşulları bulunduğunu varsayalım ve Hamiltonyan olarak $L: f(x_e) \rightarrow -\frac{d^2 f(x_e)}{dx_e^2}$ operatörünü ele alalım. Öz fonksiyonun e_i kenarı üzerindeki bileşeni f_i olsun ($i = 1, 2, \dots, n$).



Şekil 3: n Kenarlı Kompakt Star Graf

Teorem 2.1 den bu graf selfadjointtir ve Teorem 3.1 den spektrumu ayrıktır. Ayrıca bu operatörün negatif olmayan olduğu kolayca gösterilebilir. Dolayısıyla $\lambda = k^2 > 0$ olmak üzere (3.1) özdeğer denklemini ele alalım. e_i kenarı üzerinde v_i köşesinin koordinatı 0, merkezdeki v köşesinin koordinatı ise l_i olsun ($i = 1, 2, \dots, n$). Bu durumda köşe koşulları

$$f_i'(0) = 0, i = 1, 2, \dots, n \quad (3.5)$$

$$f_i(l_i) = f_j(l_j), i, j = 1, 2, \dots, n \quad (3.6)$$

$$-\sum_{i=1}^n f_i'(l_i) = 0 \quad (3.7)$$

(3.1) denkleminin genel çözümü

$$f_i(x) = a_i \cos(kx) + b_i \sin(kx)$$

biçimindedir ($i = 1, 2, \dots, n$). (3.5) koşulundan dolayı

$$f_i(x) = a_i \cos(kx), i = 1, 2, \dots, n$$

olur. (3.6) ve (3.7) koşullarından dolayı

$$a_1 \cos(kl_1) = a_2 \cos(kl_2) = \dots = a_n \cos(kl_n) = c, \quad (3.8)$$

$$\sum_{i=1}^n a_i k \sin(kl_i) = 0, \quad (3.9)$$

elde edilir. Kabul edelim ki $c = 0$ olsun. Bu durumda eğer

$$\cos(kl_i) = 0,$$

eşitliği m tane denklem için sağlanıyorsa $\lambda = k^2$ katlılığı $m - 1$ olan bir özdeğerdir. Gerçekten

$$\cos(kl_1) = \cos(kl_2) = \dots = \cos(kl_m) = 0,$$

$$\cos(kl_{m+1}) \neq 0, \cos(kl_{m+2}) \neq 0, \dots, \cos(kl_n) \neq 0$$

olduğunu kabul edelim. $c = 0$ olduğundan (3.8) eşitliğinden

$$a_{m+1} = a_{m+2} = \dots = a_n = 0$$

olmalıdır. (3.9) eşitliğinden

$$0 = \sum_{i=1}^n a_i k \sin(kl_i) = \sum_{i=1}^m a_i k \sin(kl_i)$$

olup buradan öz uzayın boyutu $m - 1$ olur.

Şimdi kabul edelim ki $c \neq 0$ olsun. (3.9) eşitliğini (3.8) eşitliğine bölersek

$$E(k) := \sum_{i=1}^n \tan(kl_i) = 0$$

olur. Eğer $E(k) = 0$ oluyorsa $\lambda = k^2$ bir özdeğerdir. Özel olarak eğer l_i uzunlukları rasyonel olarak bağımsızsa yani

$$l_i/l_j \notin \mathbb{Q}, i \neq j$$

ise bu durumda grafin bütün özdeğerleri basittir ve $\lambda = k^2$ nin bir özdeğer olması için gerek ve yeter koşul $E(k) = 0$ olmasıdır. Gerçekten $i \neq j$ için $l_i/l_j \notin \mathbb{Q}$ olsun. Bu durumda $i \neq j$ iken

$$\begin{aligned} \cos(kl_i) = \cos(kl_j) = 0 &\Rightarrow \exists r_i, r_j \in \mathbb{Z}; kl_i = \frac{\pi}{2}(2r_i + 1), kl_j = \\ &\frac{\pi}{2}(2r_j + 1) \Rightarrow \frac{l_i}{l_j} = \frac{2r_i + 1}{2r_j + 1} \in \mathbb{Q}. \end{aligned}$$

Bu ise $l_i/l_j \notin \mathbb{Q}$ olmasıyla çelişir. Dolayısıyla $\cos(kl_i) = 0$ olacak biçimde en fazla bir tane l_i vardır. Kabul edelim ki bir $1 \leq i \leq n$ için $\cos(kl_i) = 0$ olsun. Bu durumda (3.8) den $i \neq j$ iken $a_j = 0$ olur. Ayrıca (3.9) dan $a_i k \sin(kl_i) = 0$ olup buradan $a_i = 0$ bulunur. Dolayısıyla $\lambda = k^2$ bir özdeğer olmaz. Sonuçta her $1 \leq i \leq n$ için $\cos(kl_i) \neq 0$ olup (3.8) den $a_i \neq 0$ ve $c \neq 0$ olur. Bu durumda (3.9) eşitliğini (3.8) eşitliğine bölebiliriz ve $\lambda = k^2$ nin bir özdeğer olması için gerek ve yeter koşul $E(k) = 0$ olmasıdır. Son olarak $\lambda = k^2$ bir özdeğer yani $E(k) = 0$ ve her $1 \leq i \leq n$ için $a_i \neq 0$ olsun. Bu durumda

$$\{\cos(kx), \cos(kx), \dots, \cos(kx)\}$$

öz uzayın bir bazı olur ve dolayısıyla $\lambda = k^2$ bir basit özdeğerdir.

KAYNAKÇA

- Aizenman, M., Sims, R. and Warzel, S. (2006a). Absolutely continuous spectra of quantum tree graphs with weak disorder. *Communications in Mathematical Physics*, 264, 371-389.
- Aizenman, M., Sims, R. and Warzel, S. (2006b). Stability of the absolutely continuous spectrum of random Schrödinger operators on tree graphs. *Probability Theory and Related Fields*, 136(3), 363-394.
- Alexander, S. (1983). Superconductivity of networks. A percolation approach to the effects of disorder. *Physical Review B*, 27, 1541-1557.
- Axmann, W., Kuchment, P. and Kunyansky, L. (1999). Asymptotic methods for thin high contrast 2D PBG materials. *Journal of Lightwave Technology*, 17(11), 1996-2007.
- Bellazzini, B., Burrello, M., Mintchev, M. and Sorba, P. (2008). Quantum field theory on star graphs. In P. Exner, J. P. Keating, P. Kuchment, T. Sunada and A. Teplyaev (Eds). *Analysis on Graphs and its Applications, Proceedings of Symposia in Pure Mathematics vol 77*. Providence, RI: American Mathematical Society, 639-656.
- Berkolaiko, G. and Kuchment, P. (2013). *Introduction to Quantum Graphs (Mathematical Surveys and Monographs vol 186)*, Rhode Island: American Mathematical Society.
- Bondy, A. and Murty, U. S. R. (2008). *Graph Theory, Graduate Texts in Mathematics*, London: Springer-Verlag.
- Cacciapuoti, C., Figari, R. and Posilicano, A. (2006) Point interactions in acoustics: One-dimensional models. *Journal of Mathematical Physics*, 47, 062901.
- Carlson, R. (2006). Linear network models related to blood flow. In G. Berkolaiko, R. Carlson, S. A. Fulling and P. Kuchment (Eds.). *Quantum Graphs and Their Applications, Contemporary Mathematics*, vol 415, Providence, RI: American Mathematical Society, 65-80.
- Exner, P. and Kovarik, H. (2000). Magnetic strip waveguides. *Journal of Physics A*, 33(16), 3297-3311.
- Exner, P. and Seba, P. (1989). Bound states in curved quantum waveguides. *Journal of Mathematical Physics*, 30, 2574-2580.
- Figotin, A and Kuchment, P. (1996). Band-gap structure of the spectrum of periodic and acoustic media. II. 2D Photonic crystals. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 56, 1561-1620.
- Figotin, A and Kuchment, P. (1998). Spectral properties of classical waves in high contrast periodic media. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 58(2), 683-702.
- Fulling, S. A. and Wilson, J. H. (2008). Vacuum energy and closed orbits in quantum graphs. In P. Exner, J. P. Keating, P. Kuchment, T. Sunada and A. Teplyaev (Eds). *Analysis on Graphs and its Applications, Proceedings of Symposia in Pure Mathematics vol 77*. Providence, RI: American Mathematical Society, 673-679.
- Gnutzmann, S. and Smilansky, U. (2006). Quantum graphs: Applications to quantum chaos and universal spectral statistics. *Advances in Physics*, 55(5), 527-625.

- Griffith, J. S. (1953a). A free-electron theory of conjugated molecules: II. A Derived Algebraic Scheme. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 49(4), 650-658.
- Griffith, J. S. (1953b). A free-electron theory of conjugated molecules, part I: poly-cyclic hydrocarbons. *Transactions of the Faraday Society*, 49, 345-351.
- Korotyaev, E. and Lobanov, I. (2007). Schrödinger operators on zigzag nanotubes. *Annales Henri Poincaré*, 8(6), 1151-1176.
- Kottos, T. and Smilansky, U. (1997). Quantum chaos on graphs. *Physical Review Letters*, 79, 4794-4797.
- Kuchment, P. (2002). Graph models of wave propagation in thin structures. *Waves in Random Media*, 12(4), R1-R24.
- Kuchment, P. (2004). Quantum graphs: I. Some basic structures. *Waves in Random Media*, 14(1), 107-128.
- Kuchment, P. (2008). Quantum graphs: an introduction and a brief survey. arXiv:0802.3442 [math-ph].
- Kuchment, P. and Post, O. (2007). On the spectra of carbon nano-structures. *Communications in Mathematical Physics*, 275(3), 805-826.
- Mikhailova, A. B., Pavlov, B. S. and Ryzhii, V. I. (2007). Dirichlet-to-Neumann techniques for the plasma-waves in a slot-diod. In J. Janas, P. Kurasov, A. Laptev, S. Naboko and G. Stolz (Eds.). *Operator Theory, Analysis and Mathematical Physics. Operator Theory: Advances and Applications*, vol 174. Basel: Birkhäuser.
- Mitra, R. and Lee, S. W. (1971). *Analytic Techniques in the Theory of Guided Waves*. London: Collier-Macmillan.
- Nicaise S. (1985) Some results on spectral theory over networks, applied to nerve impulse transmission. In C. Brezinski, A. Draux, A. P. Magnus, P. Maroni and A. Ronveaux (Eds.). *Polynômes Orthogonaux et Applications. Lecture Notes in Mathematics*, vol 1171. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Pauling, L. (1936). The diamagnetic anisotropy of aromatic molecules. *The Journal of Chemical Physics*, 4, 673-677.
- Rubinstein, J. and Schatzman, M. (1998). Asymptotics for thin superconducting rings. *Journal de Mathématiques Pures et Appliquées*, 77(8), 801-820.
- Rubinstein, J. and Schatzman, M. (2001). Variational problems on multiply connected thin strips. I. Basic estimates and convergence of the Laplacian spectrum. *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, 160(4), 271-308.

Bölüm 17

ÇAY AĞACI (*MELALEUCA ALTERNİFOLIA*) YAĞININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Seda KUŞOĞLU GÜLTEKİN¹
İrem Gülfem ALBAYRAK

¹ Üsküdar University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics

Corresponding author: seda.kusoglu@uskudar.edu.tr

1. Giriş

Son 100 yılda, tamamlayıcı tedavi yöntemlerinin artışına bağlı olarak, antimikrobiyal özelliği sebebiyle çoğu medikal topikal formülasyona giren çay ağacı ve onun bileşenleri günümüzde Dünya çapında kullanılmaktadır (Gustafson ve ark.1998, Hammer ve ark. 1998).

Çay ağacının yaprak ve dal uçlarından elde edilen çay ağacı yağı, okaliptüs kokulu uçucu bir yağdır (Kavalalı, 2017).

Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika’da cilt rahatsızlıklarının giderilmesi ve mantar tedavisine gibi çeşitli alanlarda ilaç olarak pazarlanmakta ve kozmetik sektöründe de yaygın kullanılmaktadır (Hammer ve ark. 1998; Kavalalı, 2017). Çay ağacı yağı terpen hidrokarbonlardan; özellikle monoterpenler, seskiterpenler ve bunlara bağlı alkollerden oluşmaktadır (Carson ve Hammer, 2006).

Sahip olduğu antimikrobiyal ve antifungal özelliklere ek olarak literatürde çay ağacı yağının kişilerde alerjik reaksiyonlara ve zehirlenmelere neden olduğu, çeşitli dozlarda farklı hücre tipleri üzerinde toksik etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Aspres ve Freeman, 2003).

1.1. Çay Ağacı Yağının Genel Özellikleri

Myrtaceae familyasından *Leptospermum*, *Melaleuca* ve *Kunzea* cinsleri “çay ağacı” olarak isimlendirilmektedir. Dünya üzerinde *Melaleuca* cinsine ait yaklaşık 230 türün bulunduğu düşünülmektedir. Yapraklarında uçucu yağ taşıyan bu bitkilerden; *M. alternifolia*’dan Avustralya Çay Ağacı Yağı (AÇAY), *M. cajuputi*’dan Cajuput Yağı, *M. quinquenervia*’dan Niaouli Yağı, *Leptospermum scoparium*’dan Manuka Yağı, *Kunzea ericoides*’dan Kanuka Yağı elde edilmektedir (Carson ve Hammer, 2006).

Melaleuca alternifolia’dan çiçekli olduğu ilkbahar ve yaz mevsimlerinde toplanan taze yaprak ve dallardan terapötik özellikte olan Avustralya Çay Ağacı Yağı (AÇAY) elde edilmektedir (Tezgül Çakır ve ark. 2005). Yaprakların su buharı ile damıtılmasıyla yağ bitki ağırlığının ancak %1-2’si kadar elde edilebilen ÇAY, yoğunlaştırılmanın ardından sulu fazdan ayrılır (Huynh ve ark. 2012). ÇAY, aktif antimikrobiyal bileşenlerden lipofilik monoterpenlerden a-pinen, terpinen-4-ol, linalool ve a-terpineol içermektedir (Carson ve Riley, 1995; Kim ve vd., 1995) (Tablo 1). ÇAY’ın içeriğinde yer alan terpinen-4-ol (4-terpinol) mikroorganizmaların hücre membranlarına zarar vererek antimikrobiyal özellik gösterir (Cox, 2001).

Tablo 1

Çay ağacı (M. alternifolia) yağının bileşenleri (Carson ve vd., 2006)

Bileşen	Yapı	Kimyasal Formül	(%)
Terpinen-4-ol	Monosiklik terpen alkol	C ₁₀ H ₁₈ O	40.5
γ-terpinen	Monosiklik terpen	C ₁₀ H ₁₆	20.7
α-terpinen	Monosiklik terpen	C ₁₀ H ₁₆	10.2
α-terpineol	Monosiklik terpen	C ₁₀ H ₁₆	3.3
1,8-sineol	Monosiklik terpen alkol	C ₁₀ H ₁₈ O	3.6
p-simen	Monosiklik terpen	C ₁₀ H ₁₄	0.7
α-pinen	Disiklik terpen	C ₁₀ H ₁₆	2.0
α-terpineol	Monosiklik terpen alkol	C ₁₀ H ₁₈ O	3.3
Aromadendren	Sesquiterpen	C ₁₅ H ₂₄	1.0
γ-kadinen	Sesquiterpen	C ₁₅ H ₂₄	1.5
Limonen	Monosiklik terpen	C ₁₀ H ₁₆	1.0
Globulol	Sesquiterpen alkol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.4

1.2. Çay Ağacı Yağının Geleneksel Kullanımı ve Tarihçesi

Günümüzde krem, şampuan, sabun, losyonlar gibi çeşitli kozmetik ürünlerinde kullanılan ÇAY, ilk olarak 1700’li yıllarda, Kaptan James Cook’un Avustralya seyahati sırasında keşfedilmiştir (Southwell ve vd., 1997). Çay yapmak amacıyla denizciler tarafından gemiye alınan çay ağacı yapraklarının Avustralya’dan diğer bölgelere taşındığı tahmin edilmektedir. Daha sonra İngiliz Botanikçi Sir Joseph Banks, ağaç yapraklarında araştırma yapmak üzere bitkiyi İngiltere’ye getirmiştir (Kavalalı, 2017). Avustralya halkı tarafından uzun yıllardan beri böcek ısırıklarında, soğuk algınlıklarında, cilt enfeksiyonlarında tedavi amaçlı kullanılan bu yağın topikal antiseptik olarak kullanılabileceğinin keşfi 1920’li yıllarda olmuştur (Carson ve Hammer, 2006). 1923 yılında Dr.

Arthur de Ramon Penfold, çay ağacı yapraklarından uçucu yağ elde etmiş ve 1925 yılında ise bu yağın, yüksek antiseptik ve antibakteriyel olduğunu göstermiştir (Kavalalı, 2017). ÇAY'ın, 1920li yıllarda yara temizlenmesinde kullanımının ardından etkileyici sonuçlar alması ile modern tıpta da kullanılmaya başlanmıştır. İkinci Dünya Savaşı sırasında Avustralya ordusunun antimikrobiyal ürün olarak ÇAY kullanması bu yağa verilen önemi arttırmıştır (Carson ve Riley, 1993).

1.3. Çay Ağacı Yağının Kullanım Alanları ve Farmakolojik Etkileri

Günümüzde ÇAY; cilt iltihapları, akne ve uçuk tedavisi, cilt lekelerinin giderilmesi, sedef hastalığı, böcek sokmaları, ayak mantarı, siğil ve hemoroid tedavisinde kullanılan birçok krem ve merhemde içeriğinde bulunmaktadır (Hammer ve vd., 1998; Kavalalı, 2017). Bunlara ek olarak ÇAY'ın farklı yararlarını belirlemek üzere, üremik kaşıntı şikayeti olan hemodiyaliz hastalarına 4 hafta boyunca çay ağacı ve lavanta yağı ile haftada 3 kez aromaterapi masajı uygulanmış ve hastaların şikayetlerinde azalma olduğu belirlenmiştir (Ro ve ark. 2020). *Trichomonas vaginalis* kaynaklı vaginitis ve cervicitis ile *Candida albicans* nedenli vaginitis tedavisinde ÇAY'ın terapötik etkiye sahip olduğu çalışmalarda rapor edilmiştir (Halcon ve Milkus, 2001). Literatürde *M. alternifolia*'nın ilaç ve kozmetik sektöründe kullanımına ek olarak tarım sektöründe pestisitlere alternatif olarak kullanılmaya başlandığı uygulamalar da mevcuttur. Bu uygulamalarda çay ağacı ekstraktlarının bitki zararlılarını kovucu, beslenme engelleyici, yumurta bırakmayı engelleyici etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Gökçe ve vd., 2005; Susurluk ve vd., 2007).

1.4. Çay Ağacı Yağının Toksisitesi ile İlgili Çalışmalar

Literatürde 1940'lı yıllardan itibaren ÇAY'ın antibakteriyel (Atkinson ve Brice, 1995; Thosar ve vd., 2013) ve antifungal (Inouye ve vd., 1998; Inouye ve vd., 2001) etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak bu yağın biyogüvenliği ve toksisitesine dair kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Hornfeldt, 1994; Villar ve vd., 1994; Southwell ve vd., 1997; Bischoff ve Guale, 1998; Jacobs ve Morris ve vd., 2003; Hammer ve vd., 2006; Khan ve vd., 2013).

Çay ağacı yağının ağız yoluyla alınması halinde toksik olduğunu gösteren insan ve hayvan zehirlenmesi vakaları bulunmaktadır. Amerikan Zehir Kontrol Merkezi Denetim Sistemi tarafından 2003 yılında uçucu yağlara maruziyet sonucu 7310 zehirlenme vakası rapor edilmiştir ve bu vakaların 787'sinin ÇAY kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Literatürde ÇAY kaynaklı insan ölüm vakası bulunmamaktadır (Hammer vd., 2006).

Saf halde 10 ml'den az miktarda ÇAY tüketen 23 aylık bir çocukta, maruziyetten yarım saat sonra, ayakta duramama ve koordinasyon kaybı gerçekleşmiştir. Hastanede yapılan müdahale sonrası çocukta gözlenen semptomların ortadan kalktığı belirtilmiştir (Jacobs ve Hornfeldt, 1994). Buna ek olarak literatürde 4 yaşındaki bir çocuğun az miktarda ÇAY yutmasının ataksiye ve bilinç kaybına neden olduğunu gösteren vaka analizi de yer almaktadır (Morris vd., 2003).

ÇAY'ın deri üzerinde yapılan uygulamaları kişilerde alerjiye sebep olabilmektedir. 21 gün boyunca her gün farklı konsantrasyonlardaki ÇAY'ın 28 kişiye deri olarak uygulanması sonucunda, 25 kişide alerjik reaksiyon gözlenmezken 3 kişide alerjik reaksiyon gözlenmiştir (Southwell vd., 1997).

ÇAY'ın toksisitesinin araştırıldığı bir çalışmada, kedi ve köpeklerle ÇAY'ın dermal olarak uygulanması sonucu hayvanlarda ortak olarak depresyon, halsizlik, koordinasyon bozukluğu ve kas titremeleri gözlemlendiği belirtilmiştir (Villar vd., 1994). Daha sonraki yıllarda yapılan bir çalışmada ise, seyreltilmemiş 120 ml ÇAY'ın tıraşlanmış cilde uygulandığı 3 kedide hipotermi, koordinasyon bozukluğu, dehidrasyon ve titreme gözlenmiş; kedilerden birinde ise 3 gün sonra ölüm gözlenmiştir (Bischoff ve Guale, 1998). ÇAY'ın LD₅₀ değerinin sıçanlarda 1.9-2.6 ml/kg'ın akut oral, tavşanlar da ise, 5.0 g/kg'ın akut dermal toksisiteye sahip olduğu belirlenmiştir (Hammer vd., 2006). ÇAY'ın 1.5 gr/kg'den az dozlarda sıçanlara verildiği bir çalışmada, ÇAY'ın verilisinden itibaren 72 saat sonra sıçanlarda uyuşukluk, ataksi ve depresif aktiviteye neden olduğu gözlenmiştir. Dördüncü güne kadar bir sıçan hariç diğer üç sıçanda lokomotor aktivitelerin geri kazanıldığı görülmüştür (Southwell ve vd., 1997). Hamile sıçanlarda hamileliğin 6-15. günleri arasında 6 mg/kg verilen a-terpinenin, embriyoda kemikleşmede ve iskelet yapısının oluşumunda gecikmeye neden olduğu rapor edilmiştir (Araujo ve vd., 1996).

ÇAY ve bileşenlerinin sitotoksitesi ile ilgili literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. HeLa, K562, CTVR-1, Molt-4, HepG2, HL-60, fibroblast ve epitel hücrelerine 24 saat süreyle 20-2700 µg/ml arasında farklı konsantrasyonlarda ÇAY uygulaması yapılmış ve hücre tipine bağlı olarak ÇAY'ın farklı konsantrasyonlarının hücre büyümesini %50 oranında düşürdüğü rapor edilmiştir (Söderberg ve vd., 1996; Schnitzler ve vd., 2001).

Sonuç

Bu derlemede ÇAY hakkındaki genel bilgiler ve yağın toksisitesi ile ilgili çalışmalar sunulmuştur. Uzun yıllardır kullanılan ve günümüzde pek çok topikal formülasyonda yer alan ÇAY, çeşitli deri enfeksiyonları tedavisinde umut vaat etmesine rağmen kişilerde alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir. Ek olarak ÇAY'ın hayvanlardaki toksisite çalışmalarına ait sonuçları doğrudan insanlarla ilişkilendirilemese de, ÇAY'ın oral yolla alındığında diğer uçucu yağlar gibi insanlarda toksisiteye neden olabileceği söylenebilmektedir. Özellikle çocukların ev ortamlarında ÇAY'ı içeren krem ve merhemlere kolay ulaşılabilir olması, gelecekte muhtemel zehirlenme vakaları ile karşılaşılabilineceğini düşündürmektedir. Bu sebeple, ÇAY ve bileşenlerinin neden olduğu toksisite yollarının ve tedavi yollarının aydınlatılabilmesi için, bu madde ile yapılan çalışmalar arttırılmalıdır. ÇAY içeren sağlık ve kozmetik ürünlerini kullanan kişilerin muhtemel riskler konusunda bilgilendirilmesi ve aşırı kullanımın engellenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Araujo, I.B., Souza, C.A.M., De-Carvalho, R.R., Kuriyama, S.N., Rodrigues, R.P., Vollmer, R.S., Alves, E.N. ve Paumgarten, F.J.R. (1996). Study of the embryofoetotoxicity of α -terpinene in the rat. *Food and Chemical Toxicology*, 34, 477–482. Erişim adresi: [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(96\)87358-3](https://doi.org/10.1016/0278-6915(96)87358-3)
- Aspres, N., ve Freeman, S. (2003). Predictive testing for irritancy and allergenicity of tea tree oil in normal human subjects. *Exogenous Dermatology*, 2, 258–261. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1159/000078694>
- Atkinson, N. ve Brice, H.E. (1995). Antibacterial substances produced by flowering plants. II. The antibacterial action of essential oils from some Australian plants. *The Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 33, 547–554. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1038/icb.1955.56>
- Bischoff, K. ve Guale, F. (1998). Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil poisoning in three purebred cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10, 208–210. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1177/104063879801000223>
- Carson, C.F., Hammer, K.A. ve Riley, T. V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 50–62. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.50-62.2006>
- Carson, C.F. ve Riley, T. V. (1993). Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in Applied Microbiology*, 16, 49–55. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1993.tb00340.x>
- Carson, C.F., Riley, T. V. (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*, 78, 264–269. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb05025.x>
- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Gustafson, J.E., Warmington, J.R. ve Wyllie, S.G. (1999). Determining the antimicrobial actions of tea tree oil. *Molecules*, 87–91. Erişim adresi: [doi:10.3390/60100087](https://doi.org/10.3390/60100087)
- Gökçe, A., Stelinski, L.L. ve Whalon, M.E. (2005). Behavioral and Electrophysiological Responses of Leafroller Moths to Selected Plant Extracts. *Environmental Entomology*, 34, 1426–1432. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1603/0046-225X-34.6.1426>
- Gustafson, J.E., Liew, Y.C., Chew, S., Markham, J., Bell, H.C. ve Wyllie, S.G. (1998). Warmington, Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 26, 194–198. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1998.00317.x>

- Halcón, L. ve Milkus, K. (2004). *Staphylococcus aureus* and wounds: A review of tea tree oil as a promising antimicrobial. *American Journal of Infection Control*, 32, 402–408. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2003.12.008>
- Hammer, K.A., Carson, C.F. ve Riley, T. V. (1998). In-vitro activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42, 591–595. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1093/jac/42.5.591>
- Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T. V. ve Nielsen, J.B. (2006). A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 616–625. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.09.001>
- Huynh, Q., Phan, T.D., Thieu, V.Q.Q., Tran, S.T. ve Do, S.H. (2012). Extraction and refining of essential oil from Australian tea tree, *Melaleuca alterfornia*, and the antimicrobial activity in cosmetic products, in: *Journal of Physics: Conference Series*. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/352/1/012053>
- Inouye, S., Uchida, K. Ve Yamaguchi, H. (2001). In-vitro and in-vivo anti-Trichophyton activity of essential oils by vapour contact. *Mycoses*, 44, 99–107. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2001.00618.x>
- Inouye, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., Takco, K., Akao, M. ve Yamaguchi, H.(1998).
Antisporulating and respiration-inhibitory effects of essential oils on filamentous fungi.
Mycoses, 41, 403–410. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1998.tb00361.x>
- Jacobs, M.R. ve Hornfeldt, C.S.(1994). Melaleuca oil poisoning. *Clinical Toxicology*, 32, 461–464. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3109/15563659409011050>
- Kavalalı, G. (2017). Çay Ağacı Bitkisinin Halk Hekimliğinde Kullanılışının Etnofarmakolojik Olarak Değerlendirilmesi. *Lokman Hekim Dergisi*, 7(2), 211-214.
- Khan, S.A., McLean, M.K. ve Slater, M.R. (2013). Concentrated tea tree oil toxicosis in dogs and cats: 443 cases (2002–2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 244, 95–99. Erişim adresi: <https://doi.org/10.2460/javma.244.1.95>
- Kim, J., Marshall, M.R. ve Wei, C. İ. (1995). Antibacterial Activity of Some Essential Oil Components against Five Foodborne Pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2839–2845. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1021/jf00059a013>

- Morris, M.C., Donoghue, A., Markowitz, J.A. ve Osterhoudt, K.C. (2003). Ingestion of tea tree oil (Melaleuca oil) by a 4-year-old boy. *Pediatric Emergency Care*, 19, 169–171. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1097/01.pec.0000081241.98249.7b>
- Ro, Y.J., Ha, H.C., Kim, C.G. ve Yeom, H.A. (2002). The effects of aromatherapy on pruritus in patients undergoing hemodialysis. *Dermatology Nursing*, 14, 231-256.
- Schnitzler, P., Schön, K. ve Reichling, J. (2001). Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie*, 56, 343–347.
- Southwell, I.A., Freeman, S. ve Rubel, D. (1997). Skin irritancy of tea tree oil. *Journal of Essential Oil Research*, 9, 47–52. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700713>
- Söderberg, T.A., Johansson, A. ve Gref, R. (1996). Toxic effects of some conifer resin acids and tea tree oil on human epithelial and fibroblast cells. *Toxicology*, 107, 99–109. Erişim adresi: [https://doi.org/10.1016/0300-483X\(95\)03242-8](https://doi.org/10.1016/0300-483X(95)03242-8)
- Susurluk, H., Çalışkan, Z., Gürkan, O., Kirmizigül, S. ve Gören, N. (2007). Antifeedant activity of some Tanacetum species and bioassay guided isolation of the secondary metabolites of *Tanacetum cadmeum* ssp. *cadmeum* (Compositae). *Industrial Crops and Products*, 26, 220–228. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.04.002>
- Tezgül Çakır, N., Kaleağasi, S., Kökdil, G. (2005). Umut Vaat Eden Bir Antimikrobiyal: Tea Tree Oil (Çay Ağacı Yağı). *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34(4) 315-327.
- Thosar, N., Basak, S., Bahadure, R.N. ve Rajurkar, M. (2013). Antimicrobial efficacy of five essential oils against oral pathogens: An in vitro study. *European Journal of Dentistry*, 7, 71. Erişim adresi: <https://doi.org/10.4103/1305-7456.119078>
- Villar, D., Knight, M.J., Hansen, S.R. ve Buck, W.B. (1994). Toxicity of melaleuca oil and related essential oils applied topically on dogs and cats. *Veterinary and Human Toxicology*, 36, 139–142. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3109/15563659509000474>