

FEN BİLİMLERİ VE MATEMATİKTE GÜNCEL ARAŞTIRMALAR

EDİTÖRLER

PROF. DR. HASAN AKGÜL

PROF. DR. MURAT KÜTÜK

PROF. DR. HÜSNIYE SAĞLIKER

DOÇ. DR. NESLİHAN İYİT

DR. ÖĞR. ÜYESİ FÜSUN ERTEN

MART 2022

gece
kitaplığı

İmtiyaz Sahibi / Publisher • Yaşar Hız

Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • Eda Altunel

Editörler / Editors • Prof. Dr. Hasan Akgül

Prof. Dr. Murat Kütük

Prof. Dr. Hüsniye Sağlıker

Doç. Dr. Neslihan İyit

Dr. Öğr. Üyesi Füsun Erten

Kapak & İç Tasarım / Cover & Interior Design • Gece Kitaplığı

Birinci Basım / First Edition • © Mart 2022

ISBN • 978-625-430-041-7

© 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

web: www.gecekitapligi.com

e-mail: gecekitapligi@gmail.com

Baskı & Cilt / Printing & Volume

Sertifika / Certificate No: 47083

Fen Bilimleri ve Matematikte Güncel Araştırmalar

Mart 2022

Editörler

Prof. Dr. Hasan Akgül

Prof. Dr. Murat Kütük

Prof. Dr. Hüsniye Sağlıker

Doç. Dr. Neslihan İyit

Dr. Öğr. Üyesi Füsun Erten

İÇİNDEKİLER

Bölüm 1

MİKROBİYOM ANALİZİNDE METAGENOMİK YAKLAŞIMLAR

Cüneyt UÇARLI 1

Bölüm 2

SIĞIR HSPB1 GENİ ÜZERİNDEKİ EN ZARARLI NSSNP'LERİN BİYOİNFORMATİK PROGRAMLAR KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Sertaç ATALAY..... 23

Bölüm 3

FEN BİLGİSİ ÖĞRETMEN ADAYLARININ “GIDALARIN IŞINLAMA İLE STERİLİZASYONU” HAKKINDAKİ GÖRÜŞLERİ

Kerem SÜTÇÜ..... 43

Bölüm 4

LİKOPENİN HÜCRESEL ETKİLERİ

Fusun ERTEN 59

Bölüm 6

KARCI KESİRLİ TÜREVİNİN YENİ ÖZELLİKLERİ

Burhan Selçuk 69

Bölüm 6

BİYOFARMASÖTİK PROTEİNLERİN ÜRETİMİNDE KULLANILAN MAYALAR

Yağmur ÜNVER 83

Bölüm 7

YÜKSEK ENTROPİ ALAŞIMLARINA GENEL BAKIŞ

Nuri ERGİN & Necati KOÇAK & Özkan ÖZDEMİR &

Mehmet UYSAL 103

Bölüm 8

DOĞAL ANTİOKSİDAN KAYNAKLARININ ET ÜRÜNLERİNDE KULLANIMI

Tuba Eda ARPA ZEMZEMOĞLU & Nesibe ARSLAN BURNAZ 167

Bölüm 9

X-IŞINLARI YAYAN GÖK CİSİMLERİNDE YAYINIM
MEKANİZMALARI

E.Nihal ERCAN 183

Bölüm 10

BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARDA TAGUCHI
YAKLAŞIMI

Özden Canlı Taşar 197

Bölüm 11

FARKLI PCBM KATKILAMALARINA SAHİP PCDTBT
SHOTTKY BARIYER DIYOTUN IŞIK VE SICAKLIĞA BAĞLI
KARAKTERİZASYONU

Muzaffer Şağban & Özge Tüzün Özmen 219

Bölüm 12

TARİHLENDİRME YÖNTEMLERİ

Ülkü SAYIN, Mustafa TOPAKSU, Mehmet YÜKSEL, Ayhan ÖZMEN,
Hamide AVCI, Emel ECE 235

BÖLÜM 13

ÇOKLU TERCİH MODELLERİ: MULTİNOMİAL LOGİT VE
MULTİNOMİAL PROBİT

Öznur IŞÇI GÜNERİ & Burcu DURMUŞ & Aynur İNCEKIRIK 275



BÖLÜM 1

MİKROBİYOM ANALİZİNDE METAGENOMİK YAKLAŞIMLAR

Cüneyt UÇARLI¹

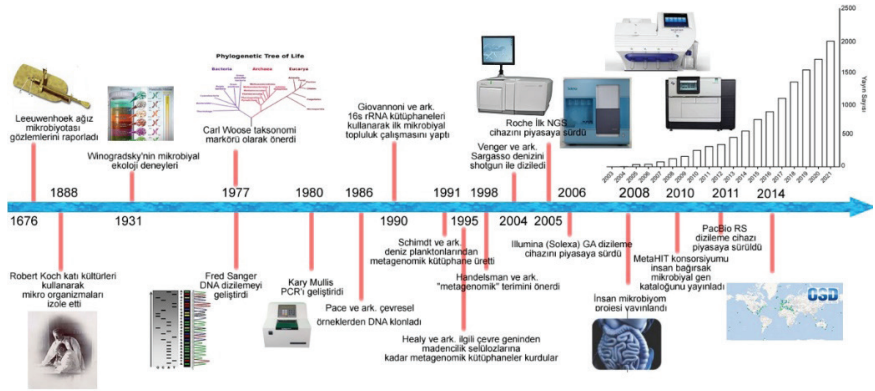
¹ İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküller Biyoloji ve, E-mail:
ucarlicu@istanbul.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-9526-576X

Mikrobiyal ekoloji, mikrobiyoloji ve ekoloji ile ilgili disiplinler arası bir bilim dalıdır. Mikroorganizmaların çevreleri, birbirleriyle ve bitki ve hayvan türleri ile etkileşimlerinin incelenmesidir ve çevredeki mikroorganizmaların çeşitliliğini ve işlevini kapsamlı bir şekilde tanımlamayı amaçlar (Thomas ve diğ., 2012). Araştırmaları, dünyadaki farklı ekolojik nişler içindeki ve içindeki mikroorganizmaların çeşitliliğini analiz etmekten mikroorganizmalar arasındaki, mikroorganizmalar ve makroorganizmalar arasındaki ilişkileri ve mikroorganizmalar ile bunların abiyotik çevresel faktörlerini anlamaya kadar uzanmaktadır. Mikrobiyal çeşitlilik ve mikroplar ve diğer organizmalar arasındaki etkileşimler morfolojik, yapısal, fizyolojik ve/veya genetik seviyelerde analiz edilebilmektedir (Xu, 2012).

Kültürleme, mikroskopi ve kimyasal veya biyolojik analiz ve tekniklerin bu alanda temel araç olarak kullanımı çok eski değildir. 16S rRNA gen dizilimi gibi moleküler yöntemler 1990'larda çevresel sistemlere uygulanmasından sonra dikkate değer bir organizma çeşitliliği ortaya çıkmıştır. Kısa süre sonra, mikrobiyal sistemleri tanımlamaya duyulan açlık, sadece bir veya birkaç genin çeşitliliğinin bilinmesiyle artık tatmin olmamaya başlamıştır. Böylece, belirli bir ortamın toplam genetik çeşitliliğini tanımlamak için farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir (Riesenfeld ve diğ., 2004). Bu yaklaşımlardan birisi, çevresel örneklerden ekstrakte edilen toplam DNA'nın dizilenmesini içeren metagenomiktir. Metagenomik (çevresel genomik, eDNA, ekolojik genomik, ve topluluk genomu gibi terimlerle de ifade edilmektedir) özellikle kültürlenemeyen mikroorganizmaların doğal yaşam ortamlarından direk DNA'larının izole edilmesi ve farklı dizileme teknikleri kullanılarak analiz edilmesidir. "Metagenom" terimi ilk olarak 1998 yılında Handelsman ve diğ. tarafından toprak mikroorganizmalarının yeni doğal bileşikler için kaynak olarak önemini açıkladığında ortaya çıkmıştır (Metagenomik bilimindeki önemli gelişmeleri ve zaman çizelgesini Şekil 1'de görebilirsiniz.). Onlara göre, bilimde yeni bir sınır ortaya çıkıyordu; mikrobiyal çeşitliliğin %99'undan fazlasını oluşturan kültürlenmemiş mikroorganizmalardan yeni kimyasal bileşiklerin madenciliği (Sleator ve diğ.,2008). Mikrobiyal bilimdeki bu yeni kavram, doğada keşfedilmeyi bekleyen şaşırtıcı derecede geniş biyokimyasal fonksiyonlar kataloğuna ilişkin olarak bilim camiasının zihnini açmıştır.

Metagenomik, mikrobiyal toplulukların fonksiyonel gen kompozisyonuna erişim sağlar ve bu nedenle, genellikle yalnızca bir genin (örn.16S rRNA geni) çeşitliliğine dayanan filogenetik araştırmalardan çok daha derin bir anlam taşır. Metagenomik, potansiyel olarak yeni biyokatalizör veya enzimler, kültürlenmemiş organizmalar için fonksiyon ve filogeni arasındaki genomik bağlantılar ve topluluk fonksiyonunun ve yapısının evrimsel profilleri hakkında genetik bilgi verir. Ayrıca ifade edilen aktiviteleri tanımlamak için metatranskriptomik veya metaproteomik yaklaşımlarla tamamlanabilir (Gilbert ve diğ., 2008).

Metagenomik yaklaşımlar, dünyadaki ılımlı ve aşırı ortamlarda bulunan karmaşık mikrobik toplulukların filogenetik ve fonksiyonel çeşitliliğini kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını sağlamaktadır. Yeni nesil DNA dizileme teknolojilerinin de kullanıma sunulmasıyla, metagenomik DNA moleküllerinin uygun maliyetli, yüksek verimli dizilenmesini mümkün kılmıştır ve böylece mikrobik topluluk analizlerinde çözünürlük artmıştır. Aslında, metagenomik shotgun dizileme veri kümelerinin sayısı son birkaç yılda patlamıştır (Thomas ve diğ., 2008). Muhtemelen, metagenomik, son birkaç yılda mikrobiyolojinin en hızlı büyüyen alanı olmuştur ve neredeyse rutin bir uygulama haline gelmiştir. Bunlara ek olarak, metagenomik kütüphanelerin taranması, toprak, deniz suyu, buzul ya rumen (işkembe) gibi çeşitli ortamlardan sayısız yeni biyomolekülün tanımlanmasına yol açmıştır. Gelecekte metagenomik, mikrobiyal topluluk profillerini tanımlamak için 16S rRNA gen parmak izi yöntemleriyle aynı şekilde kullanılacaktır. Bu nedenle metagenomik, mikrobiyal ekoloji alanında çalışan birçok laboratuvar ve bilim insanı için standart bir araç haline gelecektir.



Şekil 1: Leeuwenhoek'ten yeni nesil DNA dizileme tekniklerine mikrobiyal topluluk araştırmalarındaki ilerlemeleri gösteren zaman çizelgesi.

Metagenomik, belirli bir çevre ile ilişkili yerel mikrobiyal topluluğun farklı yönlerini hedefleyen iki ana yaklaşıma bölünmüştür. Birincisi, yapısal metagenomik yaklaşım olarak adlandırılan ana odak, topluluk üyeleri arasında kurulan karmaşık metabolik ağın yeniden yapılandırılması gibi diğer özelliklere genişletilebilen kültüre alınmamış mikrobiyal popülasyonun yapısını incelemektir. İkincisi de fonksiyonel metagenomik yaklaşımdır. Bu yaklaşım binlerce metagenomik klonlu ekspresyon kitaplıklarının oluşturulmasını ve ardından aktiviteye dayalı taramaları içeren, ilgilenilen bir fonksiyonu kodlayan genleri tanımlamayı amaçlar (Tringe ve diğ., 2005)

16S rRNA gen araştırmalarının, öyle olmasa da, genellikle metagenomik çalışmalar olarak adlandırıldığını vurgulamak önemlidir. 16S rRNA gen analizinde, çalışma taksonomik markör olarak kullanılan tek bir gene

odaklanmıştır. Öte yandan, yapısal metagenomik, mikrobiyal topluluk üyelerinin genomlarını araştırmayı amaçlar. Bu anlamda, sonraki yaklaşım, potansiyel olarak tüm mikrobiyomun metabolik yollarını ortaya çıkararak ve topluluk üyelerine küçük veya büyük jeoekolojik roller atayarak topluluk yapısının genel olarak yeniden yapılandırılmasına izin verir. 16S rRNA araştırmaları ve metagenomik birbirini dışlamaz; tam aksine, 16S rRNA analizleri ile genler veya metabolik yollar arasında bir bağlantı kuran yaklaşımların, bir mikrobiyomun fonksiyonel potansiyelini belirlemede faydalı olduğu gösterilmiştir (Langille ve diğ., 2013). Bu nedenle, bu tamamlayıcı stratejilerin kombinasyonu, “topluluğun üyeleri kimlerdir?” ve “fonksiyonel rolleri nelerdir?” gibi mikrobiyal ekolojideki ilgili biyolojik soruların daha derinlemesine araştırılmasına imkan vermektedir (Alves ve diğ., 2018).

Mikrobiyal çeşitlilik iki farklı yaklaşım kullanılarak belirlenebilir: (1) Amplikon dizileme (Hedefli dizileme) veya (2) shotgun metagenomik. Amplikon dizilemede, prokaryotlar için 16S rRNA geni ve genler arası kopyalanmış aralayıcılar (“intergenic transcribed spacers”; ITS) veya ökaryotlar için büyük ribozomal alt birim (“large ribosomal subunit”; LSU) geni gibi taksonomik bilgilendirici primer hedefler kullanılarak mikrobiyal topluluklarda DNA’nın belirli bölgeleri amplifiye edilir (Tonge ve diğ., 2014). İkinci yaklaşımda, shotgun metagenomik, filogenetik belirteçler olarak kullanılacak çok sayıda kodlama ve kodlama yapmayan dizinin karakterizasyonuna izin vererek daha önce izolasyonu olmayan bir topluluktaki organizmalardan büyük parçaların veya hatta tam genomların yeniden yapılandırılmasına yardımcı olabilir (Sharpton ve diğ., 2014).

Hedefli-Amplikon Metagenomik

Her şeyden önce, “metagenomik” terimi, amplikon dizi analizini ifade etmek için kullanılmamalıdır, çünkü bu analiz, bir örnekteki tüm organizmalardan mevcut genomlardaki tüm genlerin toplanması yerine sadece bir gene (16S rRNA gibi) dayanmaktadır. Bu genler arasında 16S rRNA geni en yaygın olarak kullanılanıdır, ancak diğer markörle de (*cpn60*, *rpoB*, 23S rRNA ve diğerleri) prokaryotlar arasında benzer şekilde ayırım yapabilir. Ökaryotik organizmalar için evrensel hedefler, 18S rRNA genini içerir veya alternatif olarak, mantar popülasyonlarını spesifik olarak karakterize etmek için ITS sıklıkla kullanılır (Forbes ve diğ., 2017). Bu tarz analizlerde metagenomik yerine metaprofilleme teriminin kullanılması daha doğrudur. Metaprofilleme taksonomi veya filogenetik amaçlar için bir gen veya işarete (yani 16S rRNA geni) dayalı bir mikrobiyal topluluktaki tüm üyelerin çalışması olarak yorumlanmalıdır. Metaprofilleme, farklı yaşam alanlarından organizmalar içindeki büyük ve karmaşık örneklerde taksonomik ve filogenetik sınıflandırma yapma kolaylığı nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, hemen hemen tüm dizileme teknolojileri

kullanılarak gerçekleştirilebilir (Escobar-Zepeda ve diğ., 2015)

Şu anda maddi olarak, metaprofilleme 16S rRNA amplicon kütüphanesi hazırlanması ve Illumina MiSeq veya Ion Torrent PGM gibi yeni nesil dizileme platformları tarafından dizilenme için en iyi seçenektir. Amplicon diziliminin avantajları; 16S ribozomal geni veya ondan değişken bir bölge gibi sadece bir filogenetik markörün kullanılmasında kaynaklanan sapmalar ile karşılaştırılmasıdır (Bodilis ve diğ., 2012). Karşılaşabilecek tuzaklardan bazıları; tür düzeyinde düşük çözünürlük, birçok türdeki gen kopya sayısında bir çeşitlilik, 16S rRNA genlerinin yatay transferi ve toplam genomun %0.1'den daha azının ribozomal genlerden oluşması, bir örnekte çok düşük miktarda bulunan genomlardan bu markörün amplifikasyonunun engellenmesi sayılabilir (Petrosino ve diğ., 2009). Filogenetik markör olarak ribozomal genler son 40 yıldır kullanılmaktadır ve bu markörün birçok veri tabanında geniş bir şekilde temsil edilmesine neden olarak, metagenomik bir örnekte bulunan hemen hemen tüm mikroorganizmaların taksonomik anotasyonuna izin vermesidir.

Shotgun Metagenomik

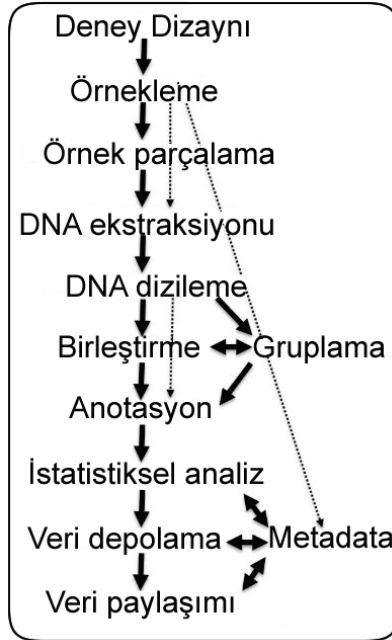
Shotgun metagenomik, bir örnekte bulunan tüm (“meta-”) mikrobiyal genomların ‘genomik’ olarak hedefsiz (“shotgun”) dizilenmesidir. Shotgun dizileme, mikrobiyal toplulukların taksonomik bileşimini ve fonksiyonel potansiyelini profillemek ve tüm genom dizilerini elde etmek için kullanılabilir. Bir metagenomun mikrobiyal çeşitliliğini deşifre ettikten sonra, metabolik potansiyelini anlamak çok uygun olacaktır. Bu, tüm shotgun kütüphanelerini hazırlamak için toplam DNA'nın elde edildiği bütün bir metagenom yaklaşımı kullanılarak başarılabılır. Shotgun metagenomikinin etkisi ve potansiyeli, aynı zamanda taksonomi tür düzeyinde sınıflandırmaya da yansımaktır. Tüm metagenom shotgun dizilemesinden elde edilen birçok mikroorganizma, muhtemelen yeni işlevlere sahip yeni genler sağlayacaktır.

Teorik olarak, tüm bir metagenom shotgun dizileme yaklaşımı gerçekleştirildiğinde, örnekteki tüm genomların bir temsilini elde edebiliriz. Bu bize yalnızca taksonomik anotasyon yapmak için çok çeşitli filogenetik markörler arasında seçim yapmamıza izin vermekle kalmaz, aynı zamanda amplicon dizileme yaklaşımında kullanılan ribozomal markörleri veya başka herhangi birini elde edebiliriz. Tipik bir shotgun metagenomik çalışması, beş adımdan oluşur. İlk çalışma tasarımıdan sonra: (i) örneklerin toplanması, işlenmesi ve dizilenmesi; (ii) dizileme okumalarının ön işlenmesi; (iii) mikrobiyomun taksonomik, fonksiyonel ve genomik özelliklerini profillemek için dizi analizi; (iv) istatistiksel ve biyolojik işlem sonrası analiz ve (v) doğrulama (Quince ve diğ., 2017). Her adımı gerçekleştirmek için çok sayıda deneysel ve hesaplamalı yaklaşım mevcuttur, bu da

araştırmacıların göz korkutucu seçeneklerle karşı karşıya olduğu anlamına gelir. Görünürdeki basitliğine rağmen, potansiyel deneysel önyargılar ve hesaplamalı analizlerin ve bunların yorumlarının karmaşıklığı nedeniyle, shotgun metagenomikinde sınırlamaları vardır.

Hedefli-amplikon ve shotgun metagenomik dizilemenin her birinin avantajları ve dezavantajları vardır. İki yöntemi birbirinden ayıran farklılıklar vardır ve hedeflenen mikrobiyal topluluğun özelliklerine, çalışmaya ayrılan bütçe ve maliyetler, hesaplama ve teknik uzmanlık gereksinimlerini göz önünde tutularak yapılacak metagenomik çalışma için iki yöntem arasında seçim yapılmalıdır. Bir yaklaşımı diğerine karşı kullanma kararı dikkatli bir şekilde düşünülerek verilmelidir ve bu karar söz konusu araştırma ve/veya tanınal hedeflere ve hipotezlere büyük ölçüde bağlı olacaktır (Forbes ve diğ., 2017). Bu bağlamda, hedeflenen-amplikon metagenomik yaklaşımı belirli bir mikrop grubunu (örneğin bakteri) tanımlamak için daha uygundur, oysaki bir shotgun metagenomik yaklaşımı, kullanılan dizileme teknolojisi ve yüksek konakçı DNA içeren materyale sahip numune matrisi ile sınırlandırılan belirli bir numunedeki mikrobiyal DNA'nın tamamını karakterize etmek için daha uygundur.

Tipik bir dizi tabanlı metagenom projesi örnek işleme, dizileme teknolojisi, birleştirme, gruplama, anotasyon, deneysel tasarım, istatistiksel analiz ve veri depolama gibi aşamalardan oluşur (Şekil .2).



Şekil 2: Metagenom projesinin akış diyagramı. Kesikli oklar, atlanabilecek adımları göstermektedir.

Örnekleme Tasarımı ve DNA Ekstraksiyonu

Kültürden bağımsız herhangi bir moleküler mikrobiyal çalışmada en önemli adım nükleik asitlerin hücrelerden çıkarılması ve çevreden geri kazanılmasıdır. Son on yıl içinde, PCR veya PCR tabanlı olmayan aşağı akış topluluk kompozisyon analizlerine kaliteli DNA veya RNA sağlamak için optimize edilmiş çok farklı habitatlardan DNA veya RNA elde etmek için sayısız prosedürler geliştirilmiştir. Çalışma için kullanılan bazı çevresel örnekler sudan, tortudan, bitkilerden, bazen denizden toplanan örneklerden, karasal örneklerden, bağırsak içeriğinden, bentik örneklerden ve dışkılarından toplanır. Mikrobiyal hücreler ve alındıkları habitatlar, nükleik asitlere doğrudan zarar veren, DNA ve RNA'yı kaliteli şekilde elde edilmesini veya aşağı akış uygulamalarını doğrudan inhibe eden bileşikler içerebilmektedir (Bodelier, 2015).

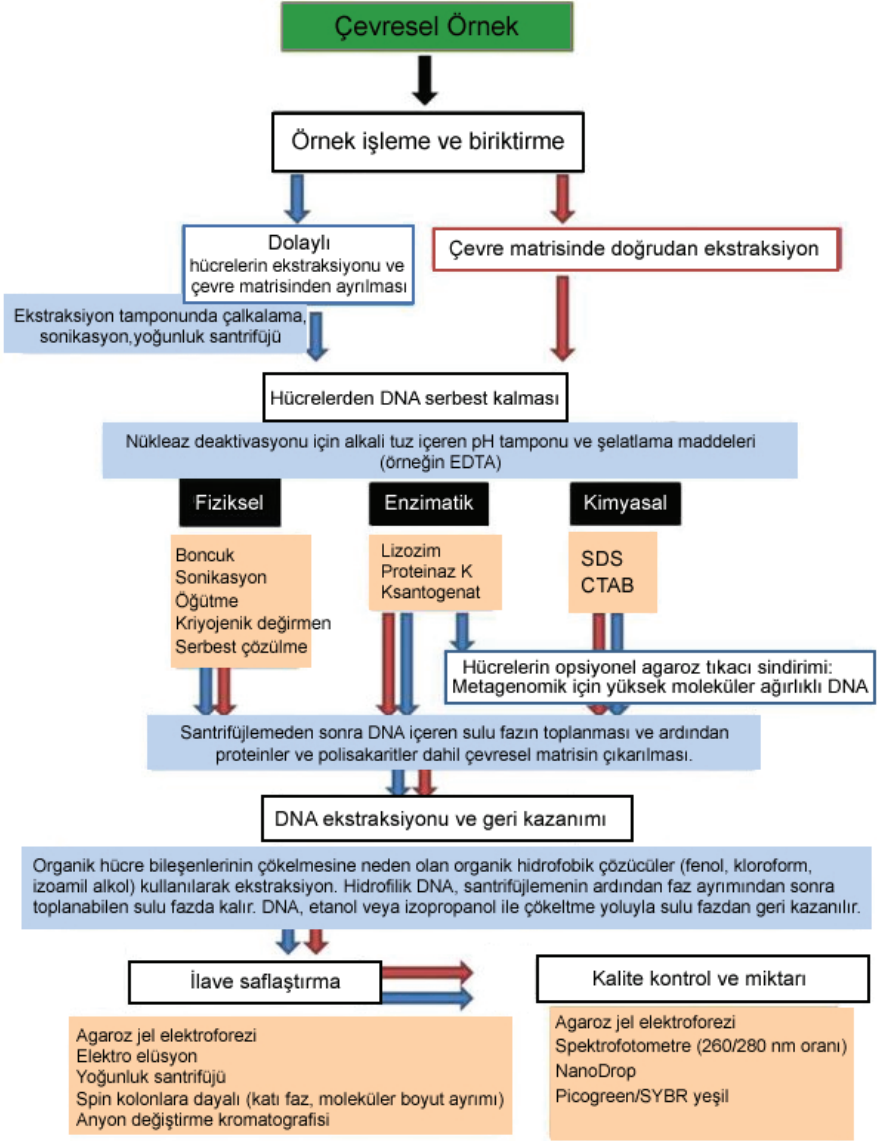
Örnek işleme, herhangi bir metagenomik projesinde ilk ve en önemli adımdır. Çıkarılan DNA örnekte bulunan tüm hücreleri temsil etmelidir. Sonraki aşamada gerçekleştirilecek olan kitaplık üretimi ve dizileme için yeterli miktarda ve yüksek kalitede nükleik asit elde edilmelidir. DNA'yı karmaşık habitatlardan elde ederken karşılaşılan iki ana engel vardır. İlk olarak, DNA'nın hücrelerden serbest bırakılması gerekir. İkincisi, DNA'nın diğer hücre bileşenlerinden ve çevresel kontaminantlardan ayrılmasını gerektiren bozulma ve çökelmeden korunması gerekir. Esas olarak yürütülen biçimlerine göre değişebilen beş temel adımdan oluşan sayısız protokol geliştirilmiştir (Şekil. 3). Bu beş temel adıma; 1) örnek işleme ve toplama, 2) hücrelerden DNA'nın serbest kalması, 3) DNA ekstraksiyonu ve geri kazanımı, 4) DNA'nın saflaştırılması, 5) DNA'nın miktar ve kalitesinin kontrol edilmesi olarak sayabiliriz.

Hedef mikrobiyal topluluk bir konağıyla ilişkiliyse (örn. omurgasız veya bitki), daha sonra fraksiyonlama veya seçici lizis, minimum konak DNA'sının elde edilmesi için uygun olabilir (Burke ve diğ., 2012). Bu, konak genomu büyük olduğunda özellikle önemlidir ve bu nedenle sonraki dizileme aşamasında mikrobiyal topluluğun dizilerinin elde edilmesini zorlaştırabilir. Fiziksel fraksiyonlama, örneğin virüsler deniz suyu örneklerinde, topluluğun sadece belirli bir kısmı analiz hedefi olduğunda da geçerlidir. Burada, hedef fraksiyonu zenginleştirmek için bir dizi seçici filtrasyon veya santrifüjleme adımı veya hatta akış sitometrisi kullanılabilir. Hedef yeterli miktarda zenginleştirildikten sonra ve hedef olmayan malzemenin minimum kontaminasyonundan emin olmak için fraksiyonlama adımları kontrol edilmelidir (Delmont ve diğ., 2010).

Hücrelerin örneklerden fiziksel olarak ayrılması ve izolasyonu, DNA verimini en üst düzeye çıkarmak veya sonraki işlemeye müdahale edebilecek enzimatik inhibitörlerin (humik asitler gibi) birlikte ekstraksiyonunu

önlemek için de önemli olabilmektedir (Watson ve diğ., 2000). Bu durum özellikle toprak metagenom projelerinde ortaya çıkmaktadır. Toprak matrisindeki hücrelerin doğrudan lizisine karşı dolaylı liziz (yani hücrelerin topraktan ayrılmasından sonra), mikrobiyal çeşitlilik, DNA verimi ve sonuçta ortaya çıkan dizi fragman uzunluğu açısından ölçülebilir olmalıdır) (Delmont ve diğ., 2010). Toprak üzerindeki kapsamlı çalışma için, DNA'nın kaliteli ve yüksek miktarda elde edilmesi için alternatif ekstraksiyon prosedürlerinin karşılaştırılarak deneyin tasarlanması son derece önemlidir. Bazı örnek türlerinden, biyopsi veya zemin suları, genellikle sadece çok az miktarda DNA elde edilir. Çoğu dizileme teknolojisi için kütüphane üretimi yüksek nanogram veya mikrogram miktarda DNA gerektirir ve bu nedenle başlangıç malzemesinin amplifikasyonu gerekebilir (Fadiji ve Babaloo, 2020).

Herhangi bir amplifikasyon yönteminde olduğu gibi, amplifikasyonda reaktif kontaminasyonu, kimera oluşumu ve dizi sapması ile ilgili potansiyel problemler vardır ve bunların etkisi, başlangıç materyalinin miktarına ve tipine ve yeterli miktarda nükleik üretmek için gerekli amplifikasyon turu sayısına bağlı olacaktır. Rastgele heksamerler ve faj phi29 polimeraz kullanılarak çoklu yer değiştirme amplifikasyonu ("Multiple displacement amplification"; MDA), DNA verimini artırmak için kullanılan bir seçenektir. Bu yöntem, femtogram düzeyindeki DNA miktarını artırarak mikrogram seviyesine çıkartır ve bu nedenle tek hücreli genomikte ve belirli bir dereceye kadar metagenomikte yaygın olarak kullanılmaktadır (Dean ve diğ., 2001; Ishoey ve diğ., 2008).



Şekil 3: Çevresel örneklerden DNA'yı çıkarmak ve saflaştırmak için uygulanan prosedürlerin aşamaları.

Dizileme

Yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerinin ortaya çıkışı, konakçı organizmada sağlıklı veya hastalıklı bir durumu tanımlamak için konakçıların ve mikropların birbirleriyle etkileşime girdiği metabolik ve düzenleyici mekanizmaları tanımlama ve karakterize etme yeteneğini büyük ölçüde

geliştirmiştir. NGS teknolojileri, mikrobiyomun bileşiminin araştırılması ve mikrobiyal topluluğun genetik, işlevsel ve metabolik özelliklerinin keşfedilmesi için çok değerlidir (Malla ve diğ., 2019).

Son 10-15 yılda metagenomik shotgun dizileme, klasik Sanger dizileme teknolojisinden yeni nesil dizilemeye (NGS) geçmiştir. DNA dizileme teknolojisinin ilk nesli olan Sanger dizileme, otuz yılı aşkın süredir yaygın olarak kullanılan dizileme yöntemlerinden biriydi ve bugün hala düşük verimli DNA dizilimi veya tek DNA varlıklarının dizilimi için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, Sanger dizileme düşük hata oranı ve uzun okuma uzunluğu (>700 bp) nedeniyle dizilemede hala altın standart olarak kabul edilmektedir (Thomas ve diğ., 2012). Sanger dizilemenin bu özellikleri shotgun verileri için birleştirme sonuçlarını olumlu yönde etkilemektedir. Sanger dizilemenin dezavantajı, yoğun emek gerektiren klonlama süreci ve gigabay başına toplam maliyetidir. Çeşitliliğin az olduğu ortamlarda genomların tamamına yakınının dizilenmesi amaçlanıyorsa, Sanger dizilimi hala uygulanabilmektedir.

NGS teknolojilerindeki ilerlemeler, son birkaç on yılda büyük bir paradigma değişikliğine neden olan büyük hacimli yüksek doğrulukta veri sağlamaya yönelik hızlı, uygun maliyetli bir yaklaşım sağlamaktadır. Zaman ve maliyet, dizileme teknolojisiyle ilişkili ana engellerdi. NGS'nin klasik Sanger dizilimine göre avantajları, uygun maliyetli olması, klonlama adımıyla yoksun olması, yüksek verim sunması ve minimum teknik uzmanlık gerektirmesidir. Bununla birlikte, NGS verileriyle ilgili büyük bir zorluk, istatistiksel ve bilimsel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılmasına izin veren milyonlarca dizinin analizidir (Malla ve diğ., 2019).

NGS platformlarının ortaya çıkması ve sürekli olarak yenilerinin piyasaya sürülmesi, DNA dizileme pazarını demokratikleştirmiştir ve bireysel laboratuvarlara veya araştırma ekiplerine de uygun fiyatlı dizileme imkânı sağlamıştır. Mevcut NGS platformlarından Roche 454 GS, Illumina (Hi-seq ve Miseq), Ion Torrent, SOLiD (Life Technologies), Oxford Nanopore ve PacBio metagenomik örneklerle uygulanmıştır (Tablo1) (Malla ve diğ., 2019).. Özellikle 454/Roche ve Illumina metagenomik verilerin elde edilmesinde daha yoğun olarak kullanılmıştır. NGS platformları mikrobiyom araştırmalarının başarılı şekilde yapılmasını sağlamıştır. Bir metagenomik çalışmada yeni nesil dizileme platformlarından hangisinin kullanılacağı, esas olarak çalışmanın amacına, tasarımına ve amacına bağlı olmalıdır. Şu anda, yüksek verimli dizileme kullanan mikrobiyal çalışmaların çoğu, ya fonksiyonel metagenomik ya da ampikon dizilimine odaklanmıştır (Caporaso ve diğ., 2012).

Tablo 1: Metagenomik için uygun yeni nesil DNA dizileme teknolojileri arasındaki karşılaştırma.

	454/Roche	Illumina Miseq	Ion Torrent	PacBio RSII
Okuma uzunluğu (bp)	1200	300	400	50,000
Kütüphane için amplifikasyon	Evet	Evet	Evet	Hayır
Maliyet/Gb (\$)	9,538	29	29	600
Hata türü	Indel	Nokta mutasyonu	Indel	Indel
Hata oranı (%)	1	0.1	1	13
Çalışma süresi	20 saat	6 gün	7 saat	2 saat

Birleştirme

Birleştirme, özgün DNA dizisini yeniden oluşturmak için kısa okuma parçalarının daha uzun bir DNA dizisinden hizalamayı ve birleştirmeyi ifade eder. Birleştirme, düşük karmaşık örneklerde ve referans genomla yakından ilişkili türlerin genom rekonstrüksiyonu için daha kolay ve verimlidir. Bununla birlikte, okuma kapsamı düşük olduğunda ve yüksek polimorfizm ve tekrarlayan bölgeler sıklığı olduğunda dizilerin birleştirilmesinde problemler ve güçlükler yaşanabilmektedir. Araştırma, kültürlenmemiş organizmaların genomunu elde etmeyi veya topluluğun tanımı yerine karakterizasyon için tam uzunlukta CDS (“CoDing Sequence”) elde etmeyi amaçlıyorsa, kısa okuma parçalarının uzun genomik kontigler elde etmek birleştirilmesi gereklidir. Bu amaçla metagenomik örnekler için iki strateji kullanılabilir: referans tabanlı birleştirme (“co-assembly”) ve de novo birleştirme.

Referans tabanlı birleştirme, Newbler (Roche), AMOS veya MIRA gibi yazılım paketleri ile yapılabilmektedir. Bu yazılım paketleri, hızlı ve bellek açısından verimli algoritmalar içerir ve bu nedenle genellikle dizüstü bilgisayar boyutundaki makinelerde birkaç saat içinde gerçekleştirilebilir. Metagenomik veri kümesi, yakından ilişkili referans genomlarının mevcut olduğu dizileri içeriyorsa, referans tabanlı birleştirme iyi çalışmaktadır. Ancak, örneğin gerçek genomunda referansa göre büyük bir ekleme, silme veya polimorfizm gibi farklılıklar, birleştirmenin parçalanmış olduğu veya farklı bölgelerin kapsanmadığı anlamına gelebilmektedir.

Metagenom *de novo* kavramsal olarak tüm genom birleştirmeye benzer ve genel olarak daha büyük hesaplama kaynakları gerektirir (Simpson ve diğ., 2015). De Bruijn grafiği yaklaşımı şu anda çok popüler bir metagenom birleştirme yöntemidir. Tek taslak genom birleştirmeleri için, okunan

her dizilim sabit uzunluktaki k 'nin üst üste binen alt dizilerine bölünerek bir de Bruijn grafiği oluşturulur. Bu örtüşen " k -mer" kümesi, de Bruijn grafiğinin köşelerini ve kenarlarını tanımlar. Birleştirici programının görevi, genomu/genleri yeniden yapılandıran grafikte bir yol bulmaktır. Bu görev, genomik olmayan diziler oluşturan dizileme hataları ve hatalı birleştirmelere ve birleşmenin parçalanmasına neden olabilen tekrarlayan diziler nedeniyle karmaşıktır (Quince ve diğ., 2017). Bu nedenle, de Bruijn grafiklerine dayalı bütün bir birleştirme araçları sınıfı, çok büyük miktarda veriyi işlemek için özel olarak oluşturulmuştur. De Bruijn birleştirme araçları Velvet veya SOAP için makine gereksinimleri (referans tabanlı birleştirmeye karşılaştırıldığında hala önemli ölçüde yüksektir) çoğu zaman tek bir makinede yüzlerce gigabayt belleğe ihtiyaç vardır ve çalışma süreleri genellikle günlerle ifade edilir.

Metagenom dizilerin birleştirilmesi genelde daha zordur, çünkü her bir kurucu genomun kapsamı, topluluktaki her bir genomun bolluğuna bağlıdır. Genel sıralama derinliği grafikte bağlantılar oluşturmak için yetersizse, düşük bolluklu genomlar parçalanabilir. Grafik oluşumunda kısa bir k -mer boyutunun kullanılması, daha düşük bolluktaki genomların kurtarılmasına yardımcı olabilir, ancak bu, grafikte tekrarlayan k -mer'lerin artan sıklığı anlamına gelir ve genomların doğru yeniden yapılandırılmasını engeller. Birleştirici, düşük bolluklu genomları kurtarmak ile yüksek bolluklu genomlar için uzun, doğru kontig elde etmek arasında bir denge kurmalıdır (Iqbal ve diğ., 2012). Metagenom dizilerinin birleştirilmesindeki diğer problem ise, Mikrobiyal toplulukların çoğunun (hepsi değilse de), bir suş ve tür düzeyinde önemli varyasyonlar içerebilmesidir. Bu yakından ilişkili genomlar, birleştirme grafiğinde tek bir nükleotid varyantı veya tüm bir gen veya operonun varlığı veya yokluğu ile farklılık gösterebilecekleri dallanmalara neden olabilir. Birleştiriciler genellikle bu dallanma noktalarında duracak ve bu da parçalı rekonstrüksiyonlara neden olacaktır. Bu zorlukların üstesinden gelmeye çalışsan metagenom'a özgü de Bruijn tipi birleştiriciler; MetaVelvet, MEGAHIT ve Meta-IDBA geliştirilmiştir. Hangi birleştirici kullanılırsa kullanılsın, sonuç genomlar değil, potansiyel olarak milyonlarca kontig olacaktır. Metagenomik birleştiricilerin gelişimi henüz erken bir aşamadadır ve tipik olarak elde edilen bulguları karşılaştırabilecek hiçbir referans bulunmadığında, metagenomik verilerin gerçekten doğru olup olmadığının belirlenmesi zordur. Birleştiricilerin değerlendirilebileceği gerçek bir altın standart (yani, bilinen referans dizileri olan çeşitli bir mikrobiyal topluluk için gerçek bir veri seti) acilen gereklidir.

Tekli okumalar genellikle daha düşük kaliteye sahiptir ve dolayısıyla aynı genetik bilgi segmentini kapsayan çoklu okumalara göre doğruluk konusunda daha düşük güvene sahiptir. Bunun gibi özel problemler temel olarak okuma parçalarının birleştirilmesini etkilemektedir. Bu nedenle,

okumaların birleştirilmesi bilgi kalitesini artırır. Açıkçası, düşük dizileme derinliği veya kapsama alanı olan karmaşık bir toplulukta, aynı DNA parçasını kapsayan çok sayıda okuma elde etmek pek mümkün değildir. Bu nedenle, birleştirme metagenomik için sınırlı bir değere sahiptir.

Ne yazık ki, birleştirme olmadan daha uzun ve daha karmaşık genetik elementler (örn. CRISPRS) analiz edilemez. Bu nedenle, örneğin ana tekrar sınıflarının çalışmasını sağlayan yüksek güvenilirlikli kontigler elde etmek için metagenomik birleşime ihtiyaç vardır. Ancak, mevcut birleştirme araçlarının hiçbiri sapmasız ve yansız değildir (Thomas ve diğ., 2012). Birleştirme doğruluğunu arttırmak için çeşitli stratejiler önerilmiştir, ancak nadir *k-mer*'lerin çıkarılması gibi stratejiler artık yeterli görülmemektedir, çünkü nadir *k-mer*'ler dizi hatalarını temsil etmemektedir (başlangıçta varsayıldığı gibi), ancak bunun yerine metagenomik karışımda daha az miktarda bulunan pan-genomlardan okumaları temsil eder.

Gruplama

Gruplama (“Binning”), DNA dizilerini, yakından ilişkili organizmalardan tek bir genomu veya genomları temsil edebilecek gruplara ayırma sürecini ifade eder. Gruplama algoritmaları, taksonomik atamayı gerçekleştirmek için farklı stratejiler kullanır: i) dizi kompozisyon sınıflandırması ve ii) referanslara göre dizi hizalaması. İlk olarak, birleşik gruplama, genomların korunmuş nükleotid kompozisyonuna sahip olduğu gerçeğinden yararlanır (örneğin, belirli bir GC veya *k-mer*’lerin belirli bir bolluk dağılımı) ve vektör benzeri bir diziyi temsil etmek ve ardından sorgudaki tüm kelimeler arasındaki benzerliği elde etmek için kısa kelimeler (*k-mer*) kullanır. Bu temsil “genomik imza” olarak da kabul edilebilir (Karlin ve diğ., 1997; Dick ve diğ., 2009). İkinci olarak, bilinmeyen DNA parçası bir geni kodlayabilir ve bu genin bir referans veri tabanındaki bilinen genlerle benzerliği, diziyi sınıflandırmak ve dolayısıyla gruplandırmak için kullanılabilir. Kompozisyon tabanlı gruplama algoritmaları Phylopythia, S-GSOM, PCAHIER ve TACAO’yu içerirken, tamamen benzerlik tabanlı gruplama yazılımları örnekleri arasında IMG/M, MG-RAST, MEGAN, CARMA, Sort-ITEMS ve MetaPhyler sayılabilir (Escobar-Zepeda ve diğ., 2015). PhymmBL ve MetaCluster programları gibi hem kompozisyonu hem de benzerliği dikkate alan çok sayıda gruplama algoritması da vardır. Tüm bu araçlar, kendi kendini organize eden haritalar (“self-organising maps”; SOM’lar) veya hiyerarşik kümeleme dâhil olmak üzere farklı gruplama dizileri yöntemlerini kullanır ve denetimsiz bir şekilde veya kullanıcıdan (denetimli) gelen grupları tanımlamak için girdi ile çalıştırılır.

Herhangi bir gruplandırma algoritmasının kullanılmasıyla ilgili önemli hususlar, mevcut girdi verilerinin türü ve uygun eğitim veri setlerinin

veya referans genomların varlığıdır. Genel olarak, kompozisyon tabanlı gruplama, yeterli bilgi içermediğinden kısa okumalar için güvenilir değildir. Örneğin, 100 bp'lik bir okuma, en iyi ihtimalle tüm 256 olası 4-mer'in yarısından daha azına sahip olabilir ve bu, bu okumayı diğer herhangi bir okumayla güvenilir bir şekilde ilişkilendirecek bir 4-mer dağılımını belirlemek için yeterli değildir. Bununla birlikte, bir kompozisyonel sınıflandırıcıyı tanımlamak için kullanılacak eğitim veri kümeleri (örneğin, bilinen orijinli uzun bir DNA parçası) varsa, kompozisyonel atama geliştirilebilir (McHardy ve diğ., 2007). Bu “eğitim” parçaları ya birleştirilmiş verilerden ya da dizilenmiş fosmitlerden türetilir ve ideal olarak, gruplanmış parçaların yüksek çözünürlüklü, taksonomik atanması için kullanılabilen bir filogenetik markörü (örneğin bir rRNA geni) içermelidir.

Kısa okumalar bilinen bir gene benzerlik içerebilir ve bu bilgi, okumayı belirli bir taksona varsayılan olarak atamak için kullanılabilir. Bu taksonomik atama, açık bir şekilde referans verilerinin mevcudiyetini gerektirir. Sorgu dizisi, bilinen referans genomlarla yalnızca uzaktan ilişkiliyse, yalnızca çok yüksek düzeyde (örneğin filum) bir taksonomik atama mümkündür. Bu taksonomik atama açıkça referans verilerin kullanılabilirliğini gerektirir. Ancak metagenomik veri kümesi iki veya daha fazla genom içeriyorsa bu, bu yüksek takson atamasına girer, o zaman “kimerik” gruplar üretilebilir. Bu durumda, iki genom ek gruplama ile ayrılabilir kompozisyon özelliklerine dayanmaktadır. Bununla birlikte, genel olarak, bu yine bilinmeyen parçaların belirli bir uzunluğa sahip olmasını gerektirebilir.

Anotasyon

Anotasyon, kelimenin tam anlamıyla, birleştirilmiş DNA molekülleri üzerindeki özelliklerin açıklamasıdır. Bu tür özellikler, her şeyden önce, proteinleri kodlayanlar [“açık okuma çerçeveleri” (ORF’ler)] ve ribozomal veya transfer RNA moleküllerini kodlayanlar dahil olmak üzere genlerdir. Anotasyon, bu tür özelliklerin tanımlanmasından ve her özelliğe, kendi özellikleri hakkında anlamlı bir ipucu listesi sağlanmasından oluşur. Anotasyon, genellikle metagenomik verilerin otomatik hesaplamalı işlenmesinin son adımı ve biyolojinin başlangıcıdır (Dong ve Strous, 2019)

Metagenomların anotasyonu için iki farklı başlangıç yolu ele alınabilir. İlk olarak, çalışmanın amacı yeniden yapılandırılmış genomlarsa ve birleştirme işlemi sonucu büyük kontigler elde edildiye, RAST veya IMG gibi genom anotasyonları için mevcut işlem hatlarının kullanılması tercih edilir. Bu yaklaşımın başarılı olması için minimum 30,000 bp veya daha uzun kontig uzunluğu gereklidir. İkincisi, anotasyon tüm topluluk üzerinde gerçekleştirilebilir ve birleştirilmemiş okumalara veya kısa kontiglere dayanır. Burada genom anotasyon araçları, metagenomik analizler için özel

olarak geliştirilmiş araçlardan önemli ölçüde daha az kullanışlıdır. Meta-genomik dizi verilerinin anotasyonu genel olarak iki adımdan oluşur. İlk olarak, ilgilenilen özellikler (genler) tanımlanır, buna özellik tahmini de denir. İkinci olarak olası gen fonksiyonları ve taksonomik komşular atanır, fonksiyonel anotasyon olarak adlandırılır (Thomas ve diğ., 2012)

Özellik tahmini, dizilerin genler veya genomik elemanlar olarak etiketlenme sürecidir. Tamamlanmış genom dizileri için, CDS'yi %95'in üzerinde doğruluk ve düşük bir yanlış negatif oranı ile tanımlayan bir dizi algoritma geliştirilmiştir. FragGeneScan, MetaGeneMark, MetaGene-Annotator/Metagene ve Orphelia dahil olmak üzere CDS'nin metagenomik tahminini işlemek için özel olarak bir dizi araç tasarlanmıştır. Bu araçların tümü, dizi uzantılarını kodlama yapan veya kodlamayan olarak sınıflandırmak için dahili bilgileri (örn. kodon kullanımı) kullanır, ancak bu araçlar kullanılan eğitim setlerinin kalitesi ve kısa veya hataya açık diziler için kullanışlılıkları ile birbirlerinden ayrılırlar. tRNA'lar, sinyal peptitleri veya CRISPR'ler gibi protein dışı kodlama genlerinin tahmini için çok sayıda araç da vardır, ancak önemli hesaplama kaynakları veya uzun bitişik diziler gerektirebilir. Açıkçası sonraki analizler özelliklerin ilk tanımlanmasına bağlıdır ve anotasyon işlem hatlarının kullanıcılarının, kullanılan spesifik tahmin yaklaşımlarının farkında olmaları gerekmektedir.

Fonksiyonel anotasyon, çoğu metagenomik proje için büyük bir hesaplama zorluğunu temsil eder ve bu nedenle şimdi ve önümüzdeki yıllarda çok fazla ilgiyi hak etmektedir. Anotasyon metodlarına rağmen, tahminen metagenomik dizilemenin sadece %20 ila 50'sinin anotasyonlu olabileceği yönündedir ve bu oran tür zenginliği yüksek topluluklarda muhtemelen daha da düşük olacaktır. Bu düşük oran, geriye kalan genlerin önemi ve işlevi hakkında akıllarda soru işareti bırakmaktadır (Gilbert ve diğ., 2008). Prokaryotik genomların %35'e kadarını oluşturabilen psödojenler metagenom fonksiyonel anotasyonundaki diğer bir problemdir (Liu ve diğ., 2004).

Şu anda, metagenomik anotasyon, mevcut "anotasyonlu" verilere karşı homoloji aramalarına dayalı olarak dizileri bilinen işlevlere veya taksonomik birimlere göre sınıflandırmaya dayanmaktadır. Kavramsal olarak, anotasyon nispeten basittir ve küçük veri kümeleri için (< 10,000 dizi) manuel düzeltmeler otomatik olarak yapılan anotasyonların doğruluğunu artırmak için kullanılabilir. Metagenomik veri kümeleri genellikle olarak çok büyüktür, bu nedenle manuel anotasyon yapmak mümkün değildir. Bundan dolayı otomatik anotasyonun daha doğru ve hesaplama açısından ucuz hale getirilmesi zorunludur. BLASTX ile benzerlik araması yapmak, hesaplama açısından pahalıdır (dizileme maliyetinin on katı kadar) (Wilkening ve diğ., 2009). Ne yazık ki, genlerdeki özellik kompozisyonunu tespit etmeyi içeren hesaplama açısından daha az talepkar yöntemler, kısa okumalar için sınırlı başarıya sahiptir. Büyüyen veri kümesi boyutları ile

daha hızlı algoritmalara acilen ihtiyaç duyulmaktadır ve bu sorunu çözmek için benzerlik aramaları için çeşitli programlar geliştirilmiştir.

KEGG, eggNOG, COG/KOG, PFAM ve TIGRFAM gibi metagenomik veri kümelerine işlevsel içerik sağlamak için birçok referans veri tabanı mevcuttur. Ancak, hiçbir referans veri tabanı tüm biyolojik fonksiyonları kapsamadığından, tüm veri tabanı aramalarının yorumlarını tek bir çerçevede görselleştirme ve birleştirme yeteneği önemlidir. Metagenomik veri kümelerini işleyen ve depolayan birkaç büyük ölçekli veri tabanı mevcuttur. MG-RAST, IMG/M ve CAMERA öne çıkan üç sistemdir. Metagenomik verilerin işlenmesinde kullanılan farklı araçlar ve özellikleri tablo 2’de gösterilmiştir.

Deneyel Tasarım ve İstatistiksel Analiz

Yüksek maliyetler nedeniyle, erken dönem metagenomik shotgun dizileme projelerinin çoğu tekrarlanmamıştır veya sadece belirli organizmaların hedeflenen keşfine odaklanmıştır. Dizileme maliyetinin düşürülmesi ve mikrobiyal ekolojideki temel soruları ele almak için metagenomik kullanımının çok daha geniş bir şekilde uygulanabilmesi için, artık uygun çoğaltma ve istatistiksel analiz ile uygun deneysel tasarımlar gerektirmektedir. Birincil metagenomik dizi analizleri için kullanılan yöntemlerden bağımsız olarak, çıktılar, mikrobiyal özelliklere (yani türler, taksonlar, genler ve yollar) karşı örneklerin veri matrislerini içermektedir. İşlem sonrası analiz, bu matrisleri yorumlamak ve bulguların örnek meta verilerle nasıl ilişkili olduğunu deşifre etmek için istatistiksel araçlar kullanılmaktadır (Quince ve diğ., 2017). Bu istatistiksel yaklaşımların çoğu metagenomik için spesifik değildir. Basit bir şekilde, çoklu metagenomik shotgun dizileme projelerinden elde edilen veriler, sütunların örnekleri temsil ettiği ve satırların bir taksonomik grup veya bir gen fonksiyonunu ve bolluk veya varlık/yokluk verilerini içeren alanları gösterdiği tablolara indirgenebilir. Ancak metagenomik veriler genellikle alınan örnek sayısından çok daha fazla tür veya gen fonksiyonu içerdiğinden, çoklu hipotez testi için uygun düzeltmelerin uygulanması gerekir (t-testine dayalı analizler için Bonferroni düzeltmesi gibi).

İdeal olarak ve genel olarak deneysel tasarım, sorulan soruyla (teknik veya operasyonel kısıtlama yerine) yönlendirilmelidir. Örneğin, bir proje belirli bir habitattaki benzersiz takson veya işlevleri tanımlamayı amaçlıyorsa, karşılaştırma için uygun referans örnekleri alınmalı ve tutarlı bir şekilde işlenmelidir. Ayrıca örnek tipleri arasındaki varyasyon gerçek biyolojik varyasyondan, (biyologların en çok ilgileneceği bir şey) ve teknik varyasyondan kaynaklanabilir ve deney planlarken bu dikkatlice düşünülmelidir. Ayrıca, birçok mikrobiyal sistemin son derece dinamik olduğunun da farkında olunmalıdır, bu nedenle örnekleme zamanı ve yöntemleri veri

analizi ve yorumlanması üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Tekrar sayısı sorusunu nihai istatistiksel analizden önce tahmin etmek genellikle zor olsa da, küçük ölçekli deneyler genellikle bir sistemin doğasında bulunan varyasyonun büyüklüğünü anlamak için yararlıdır.

Veri Depolama ve Paylaşımı

Veri paylaşımı genom araştırmaları alanında uzun bir geleneğe sahiptir, ancak metagenomik veriler için bu, meta veriler ve merkezi hizmetler (örn. IMG / M, KAMERA ve MG-RAST) sağlamanın yanı sıra hem verilerin hem de hesaplama sonuçlarının paylaşılması için yepyeni bir organizasyon ve işbirliği seviyesi gerektirecektir.

Tablo 2: Metagenomik ve metaprofilleme analizinde kullanılan yazılımlar.

Araç	Özellikleri
FastQC	Modüler seçenekleri kullanarak yüksek verimli dizi verileri için kalite kontrol aracı. Temel dizi kalitesini, GC içeriği, N sayısı ve duplikasyon sonuçlarını grafik olarak verir.
Fastx-Toolkit	Kısa okuma kalite kontrolü için komut satırı araçları. Bunlar, dizi uzunluğuna ve kimliğine göre işlemeye, kesmeye, format dönüştürmeye ve daraltmaya izin verir.
Meta-QC-Chain	Kalite kontrolü için paralel ortam aracı. Bu, ökaryotik kontaminasyon dizilerin çıkarılması için 18S rRNA veri tabanlarına karşı bir eşleme gerçekleştirir.
Mothur	Kalite analizinden taksonomik sınıflandırmaya, çeşitlilik tahmin edicilerinin hesabı ve ribozomal gen metaprofilleme karşılaştırmasına kadar farklı görevleri gerçekleştirir.
Meta-IDBA	Çoklu <i>k-mer</i> boyutu ile yineleme yaparak hem yüksek hem de düşük bol genomları kapsamaya çalışır.
Quast	Bitişik uzunluk, N50, GC içeriği gibi çeşitli metrikleri hesaplayarak genom/metagenom birleştirmelerini değerlendirir.
MEGAHIT	Hesaplama maliyetini azaltmak için kısa ve öz de Bruijn veri yapısıyla artan <i>k-mer</i> stratejisini kullanır.
QIIME	Ham okumaların kalite ön işlemesi, taksonomik açıklama, çeşitlilik tahmin edicilerinin hesabı ve metaprofil oluşturma veya metagenomik verilerin karşılaştırılmasını yapar.
MEGAN	Metagenomik okumaların taksonomisi ve fonksiyonel analizi. Kısa okumaların BLAST çıktısını temel alır ve karşılaştırmalı metagenomikleri gerçekleştirir. Grafik arayüzü.
MOCAT	Metagenomik okumaların kaliteli işlenmesini, tek kopya işaretleyici gen sınıflandırmasına dayalı taksonomik açıklamayı ve gen kodlama tahminini içeren işlem hattı.
TETRA	Tetranükleotid paternlerinin karşılaştırılmasıyla taksonomik sınıflandırma.
MetaclusterTA	Referans genomlarına bağlı olarak okumaların ve kontiglerin gruplandırılmasına dayalı taksonomik anotasyon yapar.

MaxBin	Metagenomik kısa okumaların ve kontiglerin denetimsiz gruplamasını yapar.
Genometa	Kısa okunan metagenomik verilerin taksonomik ve işlevsel açıklaması. Grafik arayüzü
SORT-Items	Metagenomik okumaların hizalamaya dayalı ortolojisiyle taksonomik açıklama
IDBA-UD	Düzensiz derinliğe sahip metagenomik dizileri de novo olarak birleştirir.
MetaGeneMark	Sezgisel mod ile metagenomik dizilerden gen kodlama dizilerini tahmin eder.
FragGeneScan	Kısa okumalardan gen kodlama dizileri tahmin eder ve kümeler.
MetaORFA	Tahmini ORF'lerden elde edilen peptitleri birleştirir.
Prodigal	Prokaryotik genomlardan hızlı gen tahmini sağlar, normal mod (referans tabanlı) ve anonim mod (metagenomlar) içerir
MinPath	Protein ailesi tahminlerinden yolların yeniden yapılandırılması
MetaPath	Metagenomik örnek KEGG'leri arasında diferansiyel olarak bol olan metabolik yolların tanımlanması
RAMMCM	Metagenomik fonksiyonel anotasyon ve veri kümelemesi
Phyloseq	Ön işleme, çeşitlilik analizi ve grafik üretimi için satır okumaları için araç seti. R, Bioconductor paketi
MetagenomeSeq	Metaprofil oluşturma verilerinde 16S rRNA geninin diferansiyel bolluğunun analizi. R, Bioconductor paketi
ShotgunFunctionalizeR	Bireysel genler (COG ve EC sayıları) ve tam yollar düzeyinde metagenomik fonksiyonel karşılaştırma. R, Bioconductor paketi
MG-RAST	Taksonomik ve fonksiyonel anotasyona, karşılaştırmalı metagenomik. Grafik arayüz.
IMG/M	Fonksiyonel açıklama, genlerin filogenetik dağılımı ve karşılaştırmalı metagenomik.

Sonuç Açıklamaları

Genomik devrimden bu yana kaydedilen ilerlemelere ve kazanılan anlayışa rağmen, mikrobiyal toplulukların in situ işleyişini ve özellikle biyojeokimyasal reaksiyonlara bireysel katkılarını anlamaktan hala çok uzaktayız. Mikrobiyal ekolojide önümüzdeki en zorlu görev, topluluk yapısı, işleyişi ve düzenlemesi kavramlarına ve genel ilkelerine ulaşmak için farklı laboratuvarlar tarafından çeşitli habitatlardan ve çevresel koşullardan elde edilen verileri karşılaştırmak ve entegre etmek olacaktır.

Son otuz yılda, metagenomik kavramını kullanan ilk çalışmalardan bu yana, bu alanda olağanüstü ilerlemeler kaydedilmiştir. Bir metagenom genellikle bir topluluğun DNA'sının elde edildiği belirli bir zamanda anlık görüntüsünü temsil eder. Kültür yöntemleri, DNA ve RNA analizi, protein çalışmaları ve mümkünse metabolik profil gibi farklı yaklaşımları birleştirerek tüm popülasyon dinamiklerini araştırmak için iyi bir deneysel tasarım gereklidir. Mikrobiyal çeşitlilik ve ekoloji ile ilgili soruları daha

geniş ölçüde cevaplamak için çeşitli araçların (moleküler biyoloji, genetik, biyoinformatik ve istatistik gibi) mikrobiyolojiye entegrasyonu gereklidir. Sonuç olarak, çeşitli alanlardaki çok sayıda uzmanın (biyologlar, biyokimyacılar, genetikçiler, fizikçiler ve bilgisayar bilimcileri gibi) kolektif zekâsı, merkezi biyolojik soruları yanıtlamak ve sayısız farklı alana biyoteknolojik çözümler getirmek için zorunluydu

Metagenomik, klasik mikrobiyoloji veya moleküler yöntemlerden daha kısa sürede ve daha iyi doğrulukla yeni genleri ve proteinleri ve hatta kültüre alınamayan organizmaların tam genomlarını keşfetmemizi sağlar. Bununla birlikte, metagenomikte tüm sorularımızı cevaplayabilecek standart yöntemler veya evrensel araçlar yoktur. Aslında, standartların olmaması, benzer projeler arasında tekrarlanabilirliği ve karşılaştırmayı azaltarak metagenomikleri vaka bazında bir vaka çalışması haline getirmektedir. Her metagenom projesinin deneysel tasarımına bağlı olarak belirli gereksinimleri olması ve bu nedenle dizileme teknolojisi ve hesaplama araçlarının dikkatle seçilmesi gerekir. Bilimde var olan tesadüfe rağmen, deneysel tasarımın en önemli kısım olduğunu ve onlara ulaşmak ve projenin arkasındaki biyolojik soruyu cevaplamak için her proje hedefine uyması gerektiğini unutmamalıyız.

Veri kümeleri giderek daha karmaşık ve kapsamlı hale geldikçe, analiz, depolama ve görselleştirme için yeni biyoinformatik araçlar gerekli olacaktır. Ancak bilim insanlarının bu tür araçları manipüle etme ve sonuçlarını yorumlama deneyimi mantıklı bir biyolojik sonucun anahtarı olacaktır. Bu araçlar, mikrobiyal ekoloji, evrim ve çeşitlilik ile ilgili temel soruları ele almak ve yeni hipotezler üretmek ve test etmek için bir araç olarak metagenomiğin en iyi şekilde kullanılmasını sağlayacaktır. Metagenomik, diğer herhangi bir laboratuvar yöntemi kadar yaygın ve sıklıkla kullanılacaktır ve bir örneğin “metagenomize edilmesi”, PCR yapmak gibi laboratuvar rutinine dönüşebilir. Bu nedenle, öğrencilere ve genç bilim insanlarına geçmişte diğer teknikler ve yaklaşımlarla aynı şekilde metagenomik öğretilmesi de son derece önemlidir.

KAYNAKLAR

- Alves, L.D.F., Westmann, C.A., Lovate, G.L., De Siqueira, G.M.V., Borelli, T.C., & Guazzaroni, M.E. (2018). Metagenomic Approaches for Understanding New Concepts in Microbial Science. *International Journal of Genomics*, Article ID 2312987.
- Bodelier, P.L.E. (2015) Extraction Methods, Variability Encountered. In: K. Nelson (Ed.) *Encyclopedia of Metagenomics: Genes, Genomes and Metagenomes: Basics, Methods, Databases and Tools* (pp. 159-167). New York,, Springer,
- Bodilis, J., Nsigue-Meilo, S., Besaury, L., & Quillet, L. (2012). Variable copy number, intra-genomic heterogeneities and lateral transfers of the 16S rRNA gene in pseudomonas. *PLoS ONE*, 7:e35647.
- Burke, C., Kjelleberg, S., & Thomas, T. (2009). Selective extraction of bacterial DNA from the surfaces of macroalgae. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(1):252-256.
- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., Owens, S.M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M., Gormley, N., Gilbert, J.A., Smith, G., & Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME Journal*, 6:1621-4.
- Dean, F.B., Nelson, J.R., Giesler, T.L., & Lasken, R.S. (2001) Rapid amplification of plasmid and phage DNA using Phi 29 DNA polymerase and multiply-primed rolling circle amplification. *Genome Research*, 11(6):1095-9.
- Delmont, T.O., Robe, P., Clark, I., Simonet, P., & Vogel, T.M. (2011). Metagenomic comparison of direct and indirect soil DNA extraction approaches. *Journal of Microbiol Methods*, 86(3):397-400.
- Dick, G.J., Andersson, A.F., Baker, B.J., Simmons, S.L., Thomas, B.C., Yelton, A.P., & Banfield, J.F. (2009). Community-wide analysis of microbial genome sequence signatures. *Genome biology*, 10, R85.
- Dong, X., & Strous, M. (2019). An Integrated Pipeline for Annotation and Visualization of Metagenomic Contigs. *Frontiers in Genetics*, 10:999.
- Escobar-Zepeda, A., De León, A. V. P., & Sanchez-Flores, A. (2015). The road to metagenomics: From microbiology to DNA sequencing technologies and bioinformatics. *Frontiers in Genetics*, 6:348.
- Fadji, A.E., & Babalola, O.O. (2020). Metagenomics methods for the study of plant-associated microbial communities: A review. *Journal of Microbiological Methods*, 170: 105860.
- Forbes, J.D., Knox, N.C., Ronholm, J., Pagotto, F., & Reimer, A. (2017). Metagenomics: The next culture-independent game changer. *Frontiers in Microbiology*, 8:1069.

- Gilbert, J.A., Field, D., Huang, Y., Edwards, R., Li, W., Gilna, P., & Joint, I. (2008). Detection of large numbers of novel sequences in the metatranscriptomes of complex marine microbial communities. *PloS one*, 3(8), e3042.
- Handelsman, J., Rondon, M. R., Brady, S.F., Clardy, J., & Goodman, R.M. (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry & Biology*, 5(10), R245–R249.
- Iqbal, Z., Caccamo, M., Turner, I., Flicek, P., & McVean, G. (2012). De novo assembly and genotyping of variants using colored de Bruijn graphs. *Nature Genetics*, 44(2), 226–232.
- Ishoev, T., Woyke, T., Stepanauskas, R., Novotny, M., & Lasken, R. S. (2008). Genomic sequencing of single microbial cells from environmental samples. *Current Opinion in Microbiology*, 11(3), 198–204.
- Karlin, S., Mrázek, J., & Campbell, A.M. (1997). Compositional biases of bacterial genomes and evolutionary implications. *Journal of Bacteriology*, 179(12), 3899–3913.
- Langille, M. G., Zaneveld, J., Caporaso, J. G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J. A., Clemente, J. C., Burkepille, D. E., Vega Thurber, R. L., Knight, R., Beiko, R. G., & Huttenhower, C. (2013). Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology*, 31(9), 814–821.
- Liu, Y., Harrison, P. M., Kunin, V., & Gerstein, M. (2004). Comprehensive analysis of pseudogenes in prokaryotes: widespread gene decay and failure of putative horizontally transferred genes. *Genome Biology*, 5:R64.
- Malla, M. A., Dubey, A., Kumar, A., Yadav, S., Hashem, A., & Allah, E. F. A. (2019). Exploring the human microbiome: The potential future role of next-generation sequencing in disease diagnosis and treatment. *Frontiers in Immunology*. 9:2868.
- Petrosino, J. F., Highlander, S., Luna, R. A., Gibbs, R. A., & Versalovic, J. (2009). Metagenomic pyrosequencing and microbial identification. *Clinical Chemistry*, 55(5), 856–866.
- Quince, C., Walker, A.W., Simpson, J.T., Loman, N. J., & Segata, N. (2017). Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 35(9), 833–844.
- Riesenfeld, C.S., Schloss, P.D., & Handelsman, J. (2004). Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annual Review of Genetics*, 38, 525–552.
- Sharpton, T. J. (2014). An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Frontiers in Plant Science*, 5:209.

- Simpson, J.T. & Pop, M. (2015). The theory and practice of genome sequence assembly. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 16, 153–172
- Sleator, R.D., Shortall, C., & Hill, C. (2008). Metagenomics. *Letters in applied microbiology*, 47(5), 361–366.
- Thomas, T., Gilbert, J., & Meyer, F. (2012). Metagenomics - a guide from sampling to data analysis. *Microbial Informatics and Experimentation*, 2(1),3.
- Tonge, D.P., Pashley, C.H., & Gant, T.W. (2014). Amplicon-based metagenomic analysis of mixed fungal samples using proton release amplicon sequencing. *PLoS ONE* 9:e93849. doi:
- Tringe, S.G., von Mering, C., Kobayashi, A., Salamov, A.A., Chen, K., Chang, H.W., Podar, M., Short, J. M., Mathur, E.J., Detter, J.C., Bork, P., Hugenholtz, P., & Rubin, E.M. (2005). Comparative metagenomics of microbial communities. *Science*, 308(5721), 554–557.
- Watson, R. J., & Blackwell, B. (2000). Purification and characterization of a common soil component which inhibits the polymerase chain reaction. *Canadian Journal of Microbiology*, 46(7), 633–642
- Wilkening J, Desai N, Meyer F, A W: Using clouds for metagenomics - case study. IEEE Cluster 2009.
- Xu, J. (2012) Microbial Ecology in the Age of Metagenomics: An Introduction. In: K. Nelson (Ed.) *Encyclopedia of Metagenomics: Genes, Genomes and Metagenomes: Basics, Methods, Databases and Tools* (pp. 475-479). New York,, Springer

BÖLÜM 2

SIĞIR HSPB1 GENİ ÜZERİNDEKİ EN ZARARLI NSSNP'LERİN BİYOİNFORMATİK PROGRAMLAR KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Sertaç ATALAY¹

¹ Öğr. Gör. Dr. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Merkez Araştırma Laboratuvarı (NABİLTEM), Tekirdağ, Türkiye satalay@nk.edu.tr ORCID: 0000-0003-4942-7729

GİRİŞ

Protein homeostazı (proteostaz), hücrelerin düzgün çalışması ve hayatta kalması için temel gereksinimdir. Proteostaz ağı, proteinlerin subselelülüler konumu, katlanması ve çözünürlüklerinin korunması ile ilişkili tüm yolları kontrol eder (A. V. Kumar ve Lapierre, 2021). Ancak, sıcaklık, enfeksiyon hastalıkları, ağır metaller, beslenme eksiklikleri, oksidatif stres gibi faktörler tarafından sürekli tehdit altındadır (S.-K. Choi, Kam, Kim, Park, ve Lee, 2019; Höhfeld ve ark., 2021). Moleküler şaperonlar veya stres proteinleri olarak bilinen ısı şok proteinleri (HSP), stres altında proteostazın korunmasında anahtar rol oynar. Hücre bir stres etkenine maruz kaldığında, HSP konsantrasyonu önemli ölçüde artar (Mahat, Salamanca, Duarte, Danko, ve Lis, 2016). HSP'ler, yanlış katlanmış proteinleri belirleyerek doğru şekilde katlanmasına destek olurlar. Restore edilmesi mümkün olmayan proteinleri degradasyon yolağına yönlendirirler. Ayrıca, apoptozu engelleyerek hücrenin canlılığını korumasında rol alırlar (Belhadj Slimen, Najar, Ghram, ve Abdrabba, 2016; Deb ve ark., 2014; Zulkifli ve ark., 2010).

Memelilerde HSP'ler molekül ağırlığına göre; HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 ve küçük ısı şok proteinleri (sHSP) olmak üzere 6 gruba ayrılır (Quan, Duan, Ladd, ve Krell, 2018; Wang, Chen, Zhou, ve Zhang, 2014). sHSP ailesi (molekül ağırlığı 12 ile 42 kDa arasında olanlar) ise 10 üyeden oluşmaktadır; HSP27, MKBP, HSPB3, α A-kristalin, α B-kristalin, HSP20, cvHSP, HSP22, HSPB9 ve ODF1 (Fuller ve ark., 1994; Reinle, Mogk, ve Bukau, 2021). sHSP'ler ATP'den bağımsız moleküler şaperonlardır ve protein denatürasyonuna karşı güçlü bir etkiye sahiptir. Denatüre proteinlerin hidrofobik yüzeyini tanıyarak bağlanırlar ve proteinin geri dönüşümsüz agregasyonunu önleyebilirler. Stres ortadan kalktığına, denatüre proteinden ayrılarak diğer moleküler şaperonların yardımı ile proteinin doğru şekilde katlanmasına yardımcı olurlar (Nakamoto ve Vigh, 2007).

sHSP'ler, evrimsel korunumu düşük, düzensiz bir amino terminal bölgesi (NTD) ile değişken ve esnek karboksi terminal bölgesi (CTD) arasında kalan, yüksek oranda korunmuş α -kristalin bölgesi (ACD) ile karakterizedir (Baldwin ve ark., 2011; Janowska, Baughman, Woods, ve Klevit, 2019) Andrew J Hilton, Gillian R Lioe, Hadi Bagnéris, Claire Benesch, Justin LP Kay, Lewis E

Quaternary dynamics of α B-crystallin as a direct consequence of localised tertiary fluctuations in the C-terminus

Journal of molecular biology

Journal of molecular biology

310-320

413

ber>2</number><dates><year>2011</year></dates><isbn>0022-2836</isbn><urls></urls></record></Cite></EndNote>. Bu üç alan, farklı amino asit içeriklerinden dolayı farklı davranışlar sergilerler. ACD, metal iyonları konsantrasyonu ve pH seviyesindeki değişikliklere yanıt verme yeteneğini kazandıran histidinler açısından zengindir. Bununla beraber, dimerizasyon ve çözünürlük için önemlidir (Delbecq ve Klevit, 2013). CTD, yüksek konsantrasyonda sHSP'nin çözünür kalmasını sağlayan, polar ve yüklü amino asitler bakımından zengindir. NTD, hidrofobik amino asitler bakımından zengindir ve oligomerizasyonda rol alır (Janowska ve ark., 2019).

Isı çok proteini beta-1 (HSPB1) olarak da bilinen HSP27, sHSP ailesine üyedir. Stres faktörlerine karşı hem moleküler şaperon hem de antioksidan olarak işlev gören çok yönlü HSP27 proteini, apoptozun inhibe edilmesinde de önemli rol oynar (S.-K. Choi ve ark., 2019; Shan, Liu, Yan, ve Liu, 2021). HSP27 proteininin NTD'si, oligomerizasyon için önemli WDPF bölgesi ve görevi tam olarak bilinmeyen kısmen korunmuş PSR-LFDQXFGEXLL sekansı içerir (Şekil 1). WDPF bölgesi içerdiği amino asitlerden ismini almıştır; W (triptofan), D (aspartik asit), P (prolin) ve F (fenilalanin) (Delbecq ve Klevit, 2013). Sığır HSP27 proteininin, NTD bölgesi 83, yüksek oranda korunmuş ACD bölgesi 87, CTD'si ise 31 amino asitten oluşmaktadır (Şekil 1). Hücrede büyük oligomerler (800 kDa) olarak bulunan HSP27'nin aktivasyonu fosforilasyon ile düzenlenir. Fosforile olmuş HSP27 çoğunlukla dimer veya tetramerlerden oluşan küçük oligomerlere dönüşür (Baranova ve ark., 2011; Charette ve Landry, 2000; Katsogiannou, Andrieu, ve Rocchi, 2014; Kostenko ve Moens, 2009; Roggalla ve ark., 1999; V Sudnitsyna, V Mymrikov, S Seit-Nebi, ve B Gusev, 2012). İnsan ve sığır HSP27 proteinlerinin amino asit sekansları yüksek oranda benzerdir (%85.4). ACD %92, WDPF bölgesi %100 oranında benzerlik göstermektedir (Şekil 1).

HSP27 proteini, HSPB1 geni tarafından kodlanır. Sığır HSPB1 geni (NCBI Gen ID: 516099), 25. kromozom üzerinde bulunur. 1725 nükleotid uzunluğundaki gen, 3 eksondan oluşmaktadır ve 201 amino asit uzunluğundaki HSP27 proteinini kodlamaktadır. HSPB1 geni sığırlarda, et kalite parametreleri (Frezarim ve ark., 2021; Lim ve ark., 2012; Sevane, Armstrong, Wiener, Wong, ve Dunner, 2014), et verimi (Jung ve ark., 2017; Suh, Lee, Kong, Lee, ve Lee, 2020; Zhang, Lee, Kang, Baik, ve Choi, 2014), üreme özellikleri (Chaudhari ve ark., 2017; Liu ve ark., 2019), sıcaklık stresi (Deb ve Sengar, 2020; Shibata, Matsumoto, Hikino, ve Yamamoto, 2014) gibi önemli ekonomik özellikler ile ilişkili bulunmuştur.

	5	15	25	35	45	55	
Homo sapiens	MTERRVPFSL	LRGPSWDPFR	DWYP-HSRLF	DQAFGLPR	LP	EEWSQWLGGG	SWPGYVRPLP
Bos taurus	MAERRVPFSL	LRGPSWDPFR	DWYPAHSRLF	DQAFGLPR	LP	EEWSQWLSHS	GWPGYVRALP
	WDPF Bölgesi		PSRLFDQXFGEXLL Sekansı				

	65	75	85	95	105	115	
Homo sapiens	PAAIESPAVA	APAYSRALSR	QLSSGVSE	LR	HTADRWRVSL	DVNHFAPEL	TVKTKDGVVE
Bos taurus	AAAIEG----	-PAYNRALSR	QLSSGVSE	LQ	QTADRWRVSL	DVNHFAPEEL	TVKTKDGVVE

	125	135	145	155	165	175	
Homo sapi	ITGKHEERQD	EHGYISRCFT	RKYTLPPGVD	PTQVSSLSLP	EGTLTVEAPM	PKLATQ	SNEI
Bos tauru	ITGKHEERQD	EHGYISRCFT	RKYTLPPGVD	PTLVPSLSLP	EGTLTVEAPL	PKSATQ	SAEI
	α-kristalin Bölgesi						
				
	185	195	205				
Homo sapiens	TIPVTFESRA	QLGGPEAAKS	DETAAK				
Bos taurus	TIPVTFQARA	QLGGPEAGKS	EQPENK				

Şekil 1. İnsan ve sığır HSP27 proteinlerinin hizalanmış amino asit sekansları. WDPF domain kırmızı çerçeve, kısmen korunmuş PSRLFDQXFGEXLL sekansı mavi çerçeve ve α-kristalin domain yeşil çerçeve içine alınmıştır. Hizalama Bioedit v7.0.5.3 (Hall, Biosciences, ve Carlsbad, 2011) programı ile yapılmıştır.

Yanlış anlamlı mutasyonların (nsSNP) protein yapı ve fonksiyonları üzerine etkilerinin laboratuvar çalışmaları ile belirlenmesi zahmetli ve yüksek maliyetlidir. Bu nedenle, biyoinformatik araçlar kullanılarak, hangi nsSNP'lerin en zararlı olabileceğinin tahmin edilmesi, ileride yapılacak laboratuvar çalışmaları için bir öncelik listesi oluşturur (Domené, Scaglia, Gutiérrez, ve Domené, 2021; A. Kumar ve ark., 2014; Lee, Won, Shin, ve Oh, 2020). Bu çalışmada, sığır HSPB1 geni üzerindeki nsSNP'ler biyoinformatik programlar ile değerlendirilmiş ve en yüksek olasılıkla zararlı olanlar belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOTLAR

SNP Verilerinin Alınması

HSPB1 geni (Ensembl Gen ID: ENSBTAG00000011969) üzerinde bulunan SNP verileri, Ensembl varyasyon veri bankasından (Chen ve ark., 2010; McLaren ve ark., 2010) alınmıştır. HSP27 proteinin amino asit sekansı (Transkript ID: ENSBTAT00000044397.3) Ensembl genom tarayıcısından alınmıştır (www.ensembl.org/).

Fonksiyonel Olarak Zararlı nsSNP'lerin Tahmin Edilmesi

Fonksiyonel olarak zararlı nsSNP'lerin belirlenmesi için beş tahmin programı kullanıldı; Protein Analysis Through Evolutionary Relationships (Panther) (Tang ve Thomas, 2016), Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT) (Ng ve Henikoff, 2003), Predictor of Human Deleterious SNP (PhDSNP) (Capriotti ve Fariselli, 2017), Protein Variation Effect Analy-

I-Mutant Analizleri

I-Mutant (Capriotti, Fariselli, Calabrese, ve Casadio, 2005), bir amino asit değişikliğinin protein stabilitesi üzerine etkisini tahmin etmek için Gibbs serbest enerji değişimini (DDG) hesaplayan, destek vektör makinesi tabanlı bir programdır. Pozitif DDG değeri, artan stabiliteye, negatif DDG değerleri ise azalan stabiliteye karşılık gelir. DDG değeri, -0.5'ten daha küçük olduğunda protein stabilitesinde büyük azalma olarak sınıflandırılır. 0.5'ten büyük olduğunda ise protein stabilitesinde büyük artış olarak sınıflandırılır. $-0.5 \leq \text{DDG} \leq 0.5$ aralığında olduğunda ise mutasyon nötr olarak sınıflandırılır.

Proteinin 3 Boyutlu Yapısının Belirlenmesi ve Yapısal Değişikliklerin Görselleştirilmesi

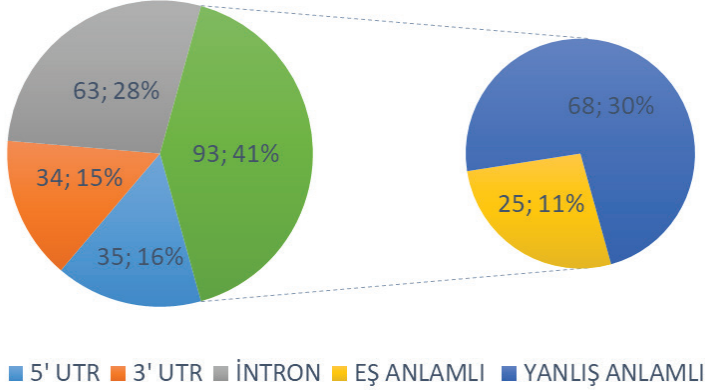
Sığır HSP27 proteinin 3 boyutlu yapısı, Swiss-Model (swissmodel.expasy.org) (Waterhouse ve ark., 2018) kullanılarak tahmin edildi. Bu program homoji modelleme yöntemiyle 3 boyutlu protein yapılarını tahmin etmektedir. PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC) programı oluşturulan 3 boyutlu modelin görselleştirilmesi ve araştırılmasında kullanıldı.

HOPE programı (Nygaard ve ark., 2003), amino asit mutasyonlarının, proteinin fizikokimyasal yapısında neden olduğu değişiklikleri belirlemek için kullanıldı. Program, hem doğal hem de mutant amino asitler için oluşturduğu 3 boyutlu protein yapılarını karşılaştırarak, fizikokimyasal değişiklikleri tahmin etmektedir.

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

SNP Verilerinin Analizi

Ensembl varyasyon veri bankasında göre HSPB1 geni üzerinde 225 SNP bulunmaktadır. Bunlardan 35 tanesi 5' UTR bölgesinde, 34 tanesi 3' UTR bölgesinde, 63 tanesi intron bölgesinde ve 93 tanesi ekson bölgesinde bulunmaktadır. Ekson bölgesinde bulunan 93 SNP'den 25 tanesi eş anlamlı, 68 tanesi ise yanlış anlamlı SNP'lerdir (Şekil 3). Amino asit değişikliğine neden olan 68 nsSNP biyoinformatik programlar ile analiz edilmek üzere dışa aktarılmıştır (EK-1).



Şekil 3. Sığır HSPB1 genindeki SNP'lerin sınıflandırması.

HSP27 Proteininin Fonksiyonu Üzerine Etkili nsSNP'ler

HSPB1 genindeki 68 nsSNP beş farklı (Panther, SIFT, PhDSNP, Pro-vean, SNAP2) tahmin programı kullanılarak analiz edildi. 14 amino asit pozisyonunda, 17 mutasyon tüm programlar tarafından zararlı olarak sınıflandırıldı. HSP27 proteininin, 127 (H), 132 (R) ve 138 (Y) pozisyonlarında bulunan her amino asitte meydana gelen iki polimorfizmin de zararlı olduğu tahmin edildi. Tüm programlar tarafından zararlı olarak sınıflandırılan nsSNP'ler ileri analizler yapılmak üzere listelendi (Tablo 1).

Biyoinformatik tahmin araçlarının fonksiyonel olarak zararlı nsSNP'leri tahmin etmek için büyük potansiyelleri vardır (Koohyanizadeh, Karaji, Falahi, Rezaeiemanesh, ve Salari, 2020). Ancak programlar farklı algoritmalara dayandığı için sadece bir tanesini kullanarak yüksek doğrulukta sonuçlara ulaşmak mümkün olmayabilir (Thusberg ve Vihinen, 2009). Farklı biyoinformatik araçlar kullanarak elde edilen konsensüs sonuçları incelemek, doğruluğu yüksek tahminlerde bulunmaya katkı sağlayacaktır. Bu çalışmada, 5 farklı tahmin aracının zararlı olarak sınıflandırdığı 17 nsSNP ileri analizlere dahil edilmiştir.

Tablo 1. HSPB1 geninde tüm tahmin programları tarafından zararlı olarak sınıflandırılan nsSNP'lerin listesi, nükleotid ve amino asit konumları

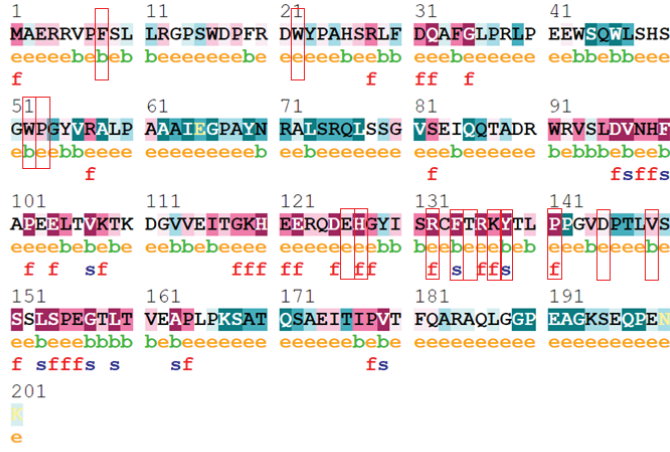
SNP rsID	Alleller	Konum (kromozom:nükleotid)	Amino Asit Polimorfizmi	Amino Asit Konumu
rs434908734	C/T	25:34345481	P/S	7
rs457133750	T/G	25:34345526	W/G	22
rs471930489	T/G	25:34345616	W/G	52
rs438998259	C/G	25:34345620	P/R	53

rs440374660	A/G	25:34346565	E/G	126
rs458985277	C/A	25:34346567	H/N	127
rs477465536	A/C	25:34346568	H/P	
rs462891707	C/G	25:34346582	R/G	132
rs480980753	G/T	25:34346583	R/L	
rs466826858	T/C	25:34346589	F/S	134
rs478987833	A/C	25:34346591	T/P	135
rs464133197	A/C	25:34346598	K/T	137
rs437589967	A/C/G	25:34346601	Y/S	138
rs437589967	A/C/G	25:34346601	Y/C	
rs458037741	C/T	25:34346699	P/S	141
rs449685733	A/G	25:34346712	D/G	145
rs434162957	T/A/G	25:34346724	V/G	149

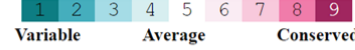
Consurf Analiz Sonuçları

Şiğir HSP27 proteinin 201 amino asit uzunluğundaki fasta sekansı, Consurf analizi için programa girildi. Consurf sonuçlarına göre (Şekil 4), tüm amino asitlerin %30.35'i değişken (n: 61), %31.34'ü ortalama korunmuş (n: 63) ve %38.32'sinin korunmuş (n: 77) olduğu belirlendi. Protein bölgelerine göre evrimsel korunum skoruna bakıldığında ise en yüksek evrimsel korunuma (skor:7-9) sahip amino asit oranının (%59) ACD'de olduğu tespit edildi. En değişken (skor:1-3) amino asit oranına (%48) sahip bölgenin ise CTD olduğu gözlemlendi (Şekil 5).

Proteinin fonksiyonu için zararlı olduğu belirlenen polimorfik amino asitlerin (Tablo 1) konumu, Şekil 4 üzerinde kırmızı çerçeve ile işaretlenmiştir. 14 polimorfik amino asitten 11 tanesi (P7, W52, P53, E126, H127, R132, F134, K137, Y138, P141, V149) korunmuş, 3 tanesi (W22, T135, D145) ortalama korunmuş olarak sınıflandırılmıştır. H127, R132, K137 ve P141'in fonksiyonel, F134, Y138 ise yapısal olduğu tahmin edilmiştir (Tablo 2).

**Legend:**

The conservation scale:



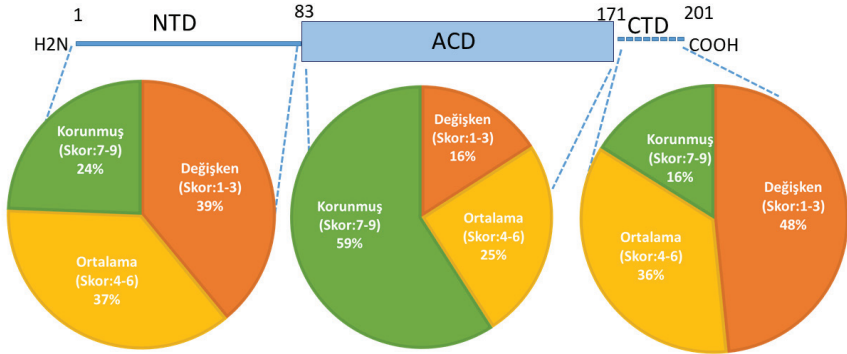
e - An exposed residue according to the neural-network algorithm.

b - A buried residue according to the neural-network algorithm.

f - A predicted functional residue (highly conserved and exposed).

s - A predicted structural residue (highly conserved and buried).

Şekil 4. Sığır HSP27 proteininin Consurf analiz sonuçları. Fonksiyonel olarak zararlı olduğu tahmin edilen amino asitler kırmızı çerçeve içine alınmıştır.



Şekil 5. Consurf analiz sonuçlarına göre sığır HSP27 proteininin bölgelere göre evrimsel korunum oranları

Bir nsSNP'nin zararlı olup olmadığının tahmin edilmesi için evrimsel korunum testinin yapılması temel gereksinimdir (Ramensky, Bork, ve Sunyaev, 2002). Consurf programı, 1-9 arasında puanlama yaparak proteini oluşturan her bir amino asidi evrimsel korunumuna göre sınıflandırmaktadır. Evrimsel korunum puanı en yüksek (9) olan amino asitlerde meydana gelen mutasyonların proteinin fonksiyonunu olumsuz yönde etkileme ola-

sılığı daha yüksektir. Bu nedenle, Tablo 2’de verilen Consurf analiz sonuçlarına göre, evrimsel korunum puanı dokuz olan beş amino asitte meydana gelen sekiz polimorfizm (H127N, H127P, R132G, R132L, F134S, Y138S, Y138C, P141S) ileri analizlere dahil edilmiştir. Bu polimorfizmlerin tamamı en yüksek evrimsel korunuma sahip ACD bölgesinde bulunmaktadır.

Tablo 2. *Sığır HSP27 proteinin Consurf analiz sonuçları*

Amino Asit Konumu / Bölge	Evrimsel Korunum Skoru	Yapısal (Y) / Fonksiyonel (F)	Gömülü (B) / Maruz Kalan (E)	Amino Asit Polimorfizmi
7 / N-terminal	7	-	B	P>S
22 / N-terminal	6	-	E	W>G
52 / N-terminal	7	-	B	W>G
53 / N-terminal	7	-	E	P>R
126 / α -kristalin	7	-	E	E>G
127 / α -kristalin	9	F	E	H>N
				H>P
132 / α -kristalin	9	F	E	R>G
				R>L
134 / α -kristalin	9	Y	B	F>S
135 / α -kristalin	6	-	E	T>P
137 / α -kristalin	8	F	E	K>T
138 / α -kristalin	9	Y	B	Y>S
				Y>C
141 / α -kristalin	9	F	E	P>S
145 / α -kristalin	6	-	E	D>G
149 / α -kristalin	7	-	B	V>G

I-Mutant Analiz Sonuçları

I-Mutant programına protein sekansı ve amino asit polimorfizmleri girilerek ikili sınıflandırma metodu ile DDG değerleri hesaplatıldı (Tablo 3). H127P ve R132L hariç tüm amino asit değişimlerinin protein stabilitesinde önemli ölçüde azalmaya neden olduğu tahmin edildi. H127P ve R132L polimorfizmlerinin DDG değeri, 0.5’ten büyük veya -0.5’ten küçük olmadığı için nötr olarak kabul edildi.

HOPE programı sonuçları ve HSP27 proteinin 3 Boyutlu Yapısının Tahmini

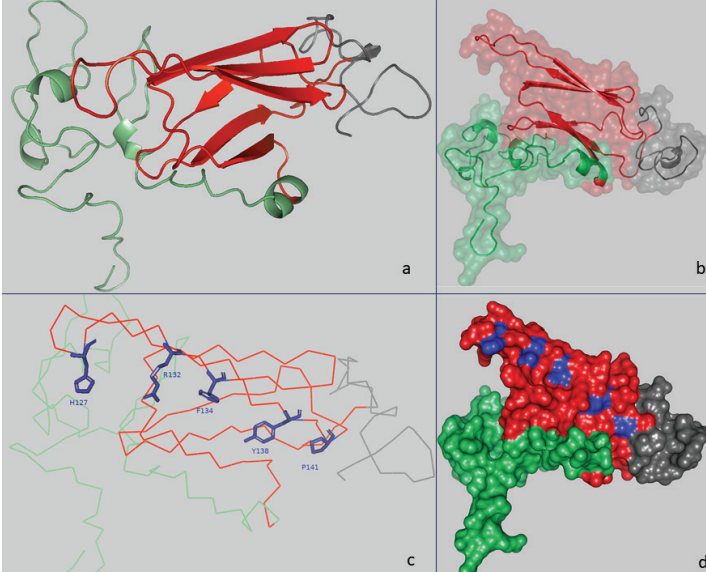
HOPE programına ile yapılan değerlendirmede doğal ve mutant proteindeki farklılıklar tespit edildi (Tablo 3). İki polimorfizmde (R132G ve R132L) yük değişiminin meydana geldiği görüldü. Tüm polimorfizmlerde mutant amino asidin doğal amino aside göre daha küçük olduğu tespit edildi. F134S ve P141S’de mutasyonun hidrofobikliği azalttığı, H127P, R132L ve Y138C’ de ise mutasyonun hidrofobikliği arttırdığı belirlendi. Mutant

amino asitlerin neden olduğu boyut farklılıkları, hidrofobiklik veya yük değişiklikleri proteinin merkezinde boşluk kalmasına, stabilitenin azalmasına veya hedef moleküller ile etkileşimin azalmasına neden olabilir (Abdelmoneim ve ark., 2019).

Tablo 3. HOPE ve I-Mutant sonuçları

Polimorfizm	Yük değişimi (Doğal > Mutant)	Boyut değişimi (Mutant amino asit doğal amino aside göre)	Hidrofobiklik değişimi (Mutant amino asit doğal amino aside göre)	I-Mutant DDG değeri (Kcal/mol)
H127N	-	Daha küçük	-	-0.68
H127P	-	Daha küçük	Daha hidrofobik	0.16
R132G	Pozitif > Nötr	Daha küçük	Daha hidrofobik	-1.71
R132L	Pozitif > Nötr	Daha küçük	Daha hidrofobik	-0.44
F134S	-	Daha küçük	Daha az hidrofobik	-1.99
Y138S	-	Daha küçük	-	-1.72
Y138C	-	Daha küçük	Daha hidrofobik	-1.40
P141S	-	Daha küçük	Daha az hidrofobik	-1.76

Sığır HSP27 proteininin 3 boyutlu yapısının tahmin edilmesi amacıyla fasta sekansı, Swiss-Model programına yüklendi. X ışını kristalografisi ile 3 boyutlu yapısı belirlenmiş proteinleri içeren veri bankasında tarama gerçekleştirildi. En yüksek benzerlik (%88.5), insan HSP27 proteini (PDB No: 6dv5.1.j) ile görüldü. 6dv5.1.j model alınarak sığır HSP27 proteininin 3-boyutlu yapısı oluşturuldu ve PyMol programı ile görüntüledi (Şekil 6-a, b). Zararlı olduğu tahmin edilen amino asit polimorfizmlerinin konumları bu model üzerinde işaretlendi (Şekil 6-c, d)

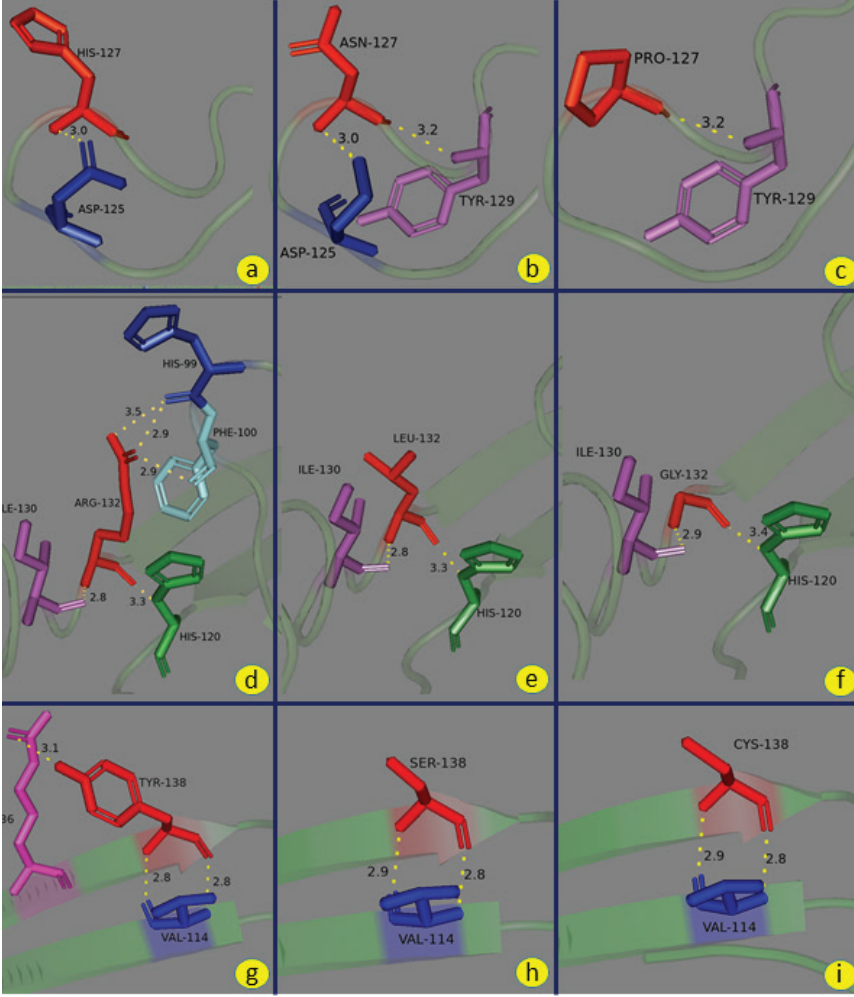


Şekil 6. Swiss-Model programı ile oluşturulan sığır HSP27 proteinin 3 boyutlu yapısı. NTD yeşil, ACD kırmızı, CTD gri renk ile gösterilmiştir. a. ve b. sekonder yapılar ve yüzey yapısı gösterilmiştir. c. ve d. zararlı olduğu tahmin edilen nsSNP'lerin protein üzerindeki konumları mavi renk ile belirtilmiştir.

PyMol programının mutagenesis menüsü kullanılarak, HSP27 proteini incelenen sekiz polimorfizm için (Tablo 3) mutasyona uğratıldı ve hidrojen (H) bağlarında meydana gelen farklılıklar görselleştirilerek incelendi (Şekil 7). 134 ve 141. pozisyonlarda meydana gelen amino asit değişimlerinin (F134S, P141S) H bağları yönünden önemli değişikliklere neden olmadığı görüldü (EK 2). Doğal His127'nin Asp125 ile bir H bağı kurduğu görüldü (Şekil 7. a). Aynı pozisyonadaki mutant Asn127'nin, hem Asp125 ile hem de Tyr129 ile H bağı oluşturduğu (Şekil 7. b) ve mutant Pro127'nin ise sadece Try129 ile bağ kurduğu tahmin edildi (Şekil 7. c). Doğal Arg132'nin Ile130, His120, Phe100 ile bir ve His99 ile 2 H bağı oluşturduğu görüldü (Şekil 7. d). Mutant Leu132 ve Gly132 amino asitlerinin ise sadece Ile130 ve His120 ile bir H bağı oluşturduğu görüldü (Şekil 7. e, f). 138. pozisyon-
daki doğal amino asit Tyr'nin mutant Ser ve Cys'den farklı olarak 136. pozisyon-
daki Gly ile bir H bağı oluşturduğu görüldü (Şekil 7. g, h, i).

Hidrojen bağları, proteinlerin katlanması ve yapısal özelliklerini korumasına yardımcı olur (Hubbard ve Haider, 2010). Özellikle sekonder yapıların stabilizasyonunda rol oynarlar (Ippolito, Alexander, ve Christianson, 1990). H127N, H127P, R132G, R132L, Y138S ve Y138C polimorfizmleri nedeniyle HSP27 proteininin H bağı profilinde meydana gelen değişiklikler stabilizasyonu dolayısıyla proteinin fonksiyonunu etkileyebilir.

Bu araştırmada farklı biyoinformatik program kullanılarak sığır HSPB1 genindeki nsSNP'lerin etkileri araştırıldı. nsSNP'lerin fonksiyonel sonuçları beş farklı program kullanılarak tahmin edildi. Tüm programların zararlı olarak sınıflandırdığı 14 nsSNP'den (Tablo 2) 8 tanesinin (Tablo 3) yüksek evrimsel korunuma sahip olduğu görüldü. Bu 8 nsSNP'nin stabilite ve fizikokimyasal yapı üzerine etkileri araştırıldı ve tümünün fizikokimyasal yapıyı değiştirdiği, altı tanesinin protein stabilitesini azalttığı görüldü (Tablo 3). HSP27 proteinin 3 boyutlu yapısı homoloji modelleme metodu ile oluşturuldu. Bu yapı üzerinde mutant N127, P127, G132, L132, S138 ve C138 amino asitlerinin doğal amino asitlere göre farklı hidrojen bağı profillerine sahip olduğu belirlendi (Şekil 7). Sonuç olarak, sığır HSPB1 geni üzerindeki en zararlı nsSNP'lerin, H127N, H127P, R132G, R132L, F134S, Y138S, Y138C, P141S olduğu tahmin edildi. Bu çalışmada elde edilen verilerde yapılacak deneysel laboratuvar çalışmaları için bir başlangıç noktası teşkil edebilir.



Şekil 7. HSP27 proteininde doğal ve mutant amino asitlerinin oluşturduğu H bağları. a. 127. pozisyondaki doğal histidin amino asidi. b. 127. pozisyondaki mutant asparajin amino asidi c. 127. pozisyondaki mutant prolin amino asidi. d. 132. pozisyondaki doğal arjinin amino asidi. e. 132. pozisyondaki mutant lösin amino asidi. f. 132. pozisyondaki mutant glisin amino asidi. g. 138. pozisyondaki doğal tirozin amino asidi. h. 138. pozisyondaki mutant serin amino asidi. i. 138. pozisyondaki mutant sistein amino asidi.

REFERANSLAR

- Abdelmoneim, A. H., Mohammed, A. I., Gadim, E. O., Mohammed, M. A., Hamza, S. H., Mirghani, S. A., . . . Hassan, M. A. (2019). In silico analysis of CDC73 gene revealing 11 novel SNPs associated with Jaw Tumor Syndrome. *bioRxiv*, 729764.
- Ashkenazy, H., Abadi, S., Martz, E., Chay, O., Mayrose, I., Pupko, T., & Ben-Tal, N. (2016). ConSurf 2016: an improved methodology to estimate and visualize evolutionary conservation in macromolecules. *Nucleic acids research*, 44(W1), W344-W350.
- Baldwin, A. J., Hilton, G. R., Lioe, H., Bagn eris, C., Benesch, J. L., & Kay, L. E. (2011). Quaternary dynamics of α B-crystallin as a direct consequence of localised tertiary fluctuations in the C-terminus. *Journal of molecular biology*, 413(2), 310-320.
- Baranova, E., Weeks, S., Beelen, S., Bukach, O., Gusev, N., & Strelkov, S. (2011). Three-dimensional structure of α -crystallin domain dimers of human small heat shock proteins HSPB1 and HSPB6. *Journal of molecular biology*, 411(1), 110-122.
- Belhadj Slimen, I., Najar, T., Ghram, A., & Abdrrabba, M. (2016). Heat stress effects on livestock: molecular, cellular and metabolic aspects, a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100(3), 401-412. doi:10.1111/jpn.12379
- Bromberg, Y., & Rost, B. (2007). SNAP: predict effect of non-synonymous polymorphisms on function. *Nucleic acids research*, 35(11), 3823-3835.
- Capriotti, E., & Fariselli, P. (2017). PhD-SNPg: a webserver and lightweight tool for scoring single nucleotide variants. *Nucleic acids research*, 45(W1), W247-W252.
- Capriotti, E., Fariselli, P., Calabrese, R., & Casadio, R. (2005). Predicting protein stability changes from sequences using support vector machines. *Bioinformatics*, 21(suppl_2), ii54-ii58.
- Charette, S. J., & Landry, J. (2000). The interaction of HSP27 with Daxx identifies a potential regulatory role of HSP27 in Fas-induced apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 926(1), 126-131.
- Chaudhari, M., Gupta, I., Verma, A., Singh, A., Das, R., Sailo, L., & Singh, S. (2017). Gene substitution effect of bovine heat shock protein beta-1 gene polymorphism on age at calving in Indian dairy cattle. *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(12), 1513-1518.
- Chen, Y., Cunningham, F., Rios, D., McLaren, W. M., Smith, J., Pritchard, B., . . . Marin-Garcia, P. (2010). Ensembl variation resources. *BMC genomics*, 11(1), 1-16.

- Choi, S.-K., Kam, H., Kim, K.-Y., Park, S. I., & Lee, Y.-S. (2019). Targeting heat shock protein 27 in cancer: a druggable target for cancer treatment? *Cancers*, *11*(8), 1195.
- Choi, Y., Sims, G. E., Murphy, S., Miller, J. R., & Chan, A. P. (2012). Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels.
- Deb, R., Sajjanar, B., Singh, U., Kumar, S., Singh, R., Sengar, G., & Sharma, A. (2014). Effect of heat stress on the expression profile of Hsp90 among Sahiwal (*Bos indicus*) and Frieswal (*Bos indicus* × *Bos taurus*) breed of cattle: a comparative study. *Gene*, *536*(2), 435-440.
- Deb, R., & Sengar, G. S. (2020). Expression pattern of bta-mir-2898 miRNA and their correlation with heat shock proteins during summer heat stress among native vs crossbred cattle. *Journal of Thermal Biology*, *94*, 102771.
- Delbecq, S. P., & Klevit, R. E. (2013). One size does not fit all: the oligomeric states of α B crystallin. *FEBS letters*, *587*(8), 1073-1080.
- Domené, S., Scaglia, P. A., Gutiérrez, M. L., & Domené, H. M. (2021). Applying Bioinformatic Platforms, In Vitro, and In Vivo Functional Assays in the Characterization of Genetic Variants in the GH/IGF Pathway Affecting Growth and Development. *Cells*, *10*(8), 2063. doi:ARTN 2063
10.3390/cells10082063
- Frezarim, G. B., Fonseca, L. F. S., Salatta, B. M., Silva, D. B. d. S., Bresolin, T., Seno, L. D. O., . . . Albuquerque, L. G. (2021). Genes and proteins associated with ribeye area and meat tenderness in a commercial Nellore cattle population. *Genome(ja)*.
- Fuller, K., Issels, R., Slosman, D., Guillet, J.-G., Soussi, T., & Polla, B. (1994). Cancer and the heat shock response. *European Journal of Cancer*, *30*(12), 1884-1891.
- Hall, T., Biosciences, I., & Carlsbad, C. (2011). BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF Bull Biosci*, *2*(1), 60-61.
- Höhfeld, J., Benzing, T., Bloch, W., Fürst, D. O., Gehlert, S., Hesse, M., . . . Köhn, M. (2021). Maintaining proteostasis under mechanical stress. *EMBO reports*, *22*(8), e52507.
- Hubbard, R. E., & Haider, M. K. (2010). Hydrogen bonds in proteins: role and strength. *eLS*.
- Ippolito, J. A., Alexander, R. S., & Christianson, D. W. (1990). Hydrogen bond stereochemistry in protein structure and function. *Journal of molecular biology*, *215*(3), 457-471.
- Janowska, M. K., Baughman, H. E., Woods, C. N., & Klevit, R. E. (2019). Mechanisms of small heat shock proteins. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, *11*(10), a034025.
- Jung, U., Kim, M., Wang, T., Lee, J., Jeon, S., Jo, N., . . . Lee, H. (2017). Upregulated heat shock protein beta-1 associated with caloric restriction and high

- feed efficiency in longissimus dorsi muscle of steer. *Livestock Science*, 202, 109-114.
- Katsogiannou, M., Andrieu, C., & Rocchi, P. (2014). Heat shock protein 27 phosphorylation state is associated with cancer progression. *Frontiers in genetics*, 5, 346.
- Koohyanizadeh, F., Karaji, A. G., Falahi, S., Rezaeiemanesh, A., & Salari, F. (2020). In silico prediction of deleterious single nucleotide polymorphisms in human interleukin 27 (IL-27) gene. *Meta Gene*, 25, 100710.
- Kostenko, S., & Moens, U. (2009). Heat shock protein 27 phosphorylation: kinases, phosphatases, functions and pathology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(20), 3289-3307.
- Kumar, A., Rajendran, V., Sethumadhavan, R., Shukla, P., Tiwari, S., & Purohit, R. (2014). Computational SNP analysis: current approaches and future prospects. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 68(2), 233-239. doi:10.1007/s12013-013-9705-6
- Kumar, A. V., & Lapierre, L. R. (2021). Location, location, location: subcellular protein partitioning in proteostasis and aging. *Biophysical Reviews*, 1-11.
- Landau, M., Mayrose, I., Rosenberg, Y., Glaser, F., Martz, E., Pupko, T., & Ben-Tal, N. (2005). ConSurf 2005: the projection of evolutionary conservation scores of residues on protein structures. *Nucleic acids research*, 33(suppl_2), W299-W302.
- Lee, Y.-S., Won, K., Shin, D., & Oh, J.-D. (2020). Risk prediction and marker selection in nonsynonymous single nucleotide polymorphisms using whole genome sequencing data. *Animal Cells and Systems*, 24(6), 321-328. doi: 10.1080/19768354.2020.1860125
- Lim, D., Lee, S.-H., Cho, Y.-M., Choi, B.-H., Choi, H.-H., Seong, H.-H., . . . Kim, N.-K. (2012). Association of Heat Shock Protein Beta 1 (HSPB1) Gene Expression with Tenderness in Loin Muscle of Korean Cattle (Hanwoo). *Journal of Life Science*, 22(11), 1523-1528.
- Liu, P., Yu, S., Cui, Y., He, J., Zhang, Q., Sun, J., . . . Liao, B. (2019). Regulation by Hsp27/P53 in testis development and sperm apoptosis of male cattle (cattle-yak and yak). *Journal of cellular physiology*, 234(1), 650-660.
- Mahat, D. B., Salamanca, H. H., Duarte, F. M., Danko, C. G., & Lis, J. T. (2016). Mammalian heat shock response and mechanisms underlying its genome-wide transcriptional regulation. *Molecular cell*, 62(1), 63-78.
- McLaren, W., Pritchard, B., Rios, D., Chen, Y., Flicek, P., & Cunningham, F. (2010). Deriving the consequences of genomic variants with the Ensembl API and SNP Effect Predictor. *Bioinformatics*, 26(16), 2069-2070.
- Nakamoto, H., & Vigh, L. (2007). The small heat shock proteins and their clients. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(3), 294-306.

- Ng, P. C., & Henikoff, S. (2003). SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic acids research*, 31(13), 3812-3814.
- Nygaard, V., Løland, A., Holden, M., Langaas, M., Rue, H., Liu, F., . . . Smith-Sørensen, B. (2003). Effects of mRNA amplification on gene expression ratios in cDNA experiments estimated by analysis of variance. *BMC genomics*, 4(1), 1-13.
- Quan, G., Duan, J., Ladd, T., & Krell, P. J. (2018). Identification and expression analysis of multiple small heat shock protein genes in spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (L.). *Cell Stress and Chaperones*, 23(1), 141-154.
- Ramensky, V., Bork, P., & Sunyaev, S. (2002). Human non-synonymous SNPs: server and survey. *Nucleic acids research*, 30(17), 3894-3900.
- Reinle, K., Mogk, A., & Bukau, B. (2021). The diverse functions of small heat shock proteins in the proteostasis network. *Journal of molecular biology*, 167157.
- Rogalla, T., Ehrnsperger, M., Preville, X., Kotlyarov, A., Lutsch, G., Ducasse, C., . . . Buchner, J. (1999). Regulation of Hsp27 oligomerization, chaperone function, and protective activity against oxidative stress/tumor necrosis factor α by phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 274(27), 18947-18956.
- Sevane, N., Armstrong, E., Wiener, P., Wong, R. P., & Dunner, S. (2014). Polymorphisms in twelve candidate genes are associated with growth, muscle lipid profile and meat quality traits in eleven European cattle breeds. *Molecular biology reports*, 41(7), 4721-4731.
- Shan, R., Liu, N., Yan, Y., & Liu, B. (2021). Apoptosis, autophagy and atherosclerosis: relationships and the role of Hsp27. *Pharmacological Research*, 166, 105169.
- Shibata, M., Matsumoto, K., Hikino, Y., & Yamamoto, N. (2014). Effect of indoor concentrate feeding vs. outdoor grazing on the expression of genes involved in muscle growth and nutrient content in Japanese black steer muscle. *Open Journal of Animal Sciences*, 4(05), 297.
- Suh, J.-K., Lee, J.-S., Kong, H., Lee, Y., & Lee, H.-G. (2020). The effect of single-nucleotide polymorphisms within heat shock protein beta 1 on beef quantity in Korean native steers. *Archives Animal Breeding*, 63(2), 417-422.
- Tang, H., & Thomas, P. D. (2016). PANTHER-PSEP: predicting disease-causing genetic variants using position-specific evolutionary preservation. *Bioinformatics*, 32(14), 2230-2232.
- Thusberg, J., & Vihinen, M. (2009). Pathogenic or not? And if so, then how? Studying the effects of missense mutations using bioinformatics methods. *Human mutation*, 30(5), 703-714.

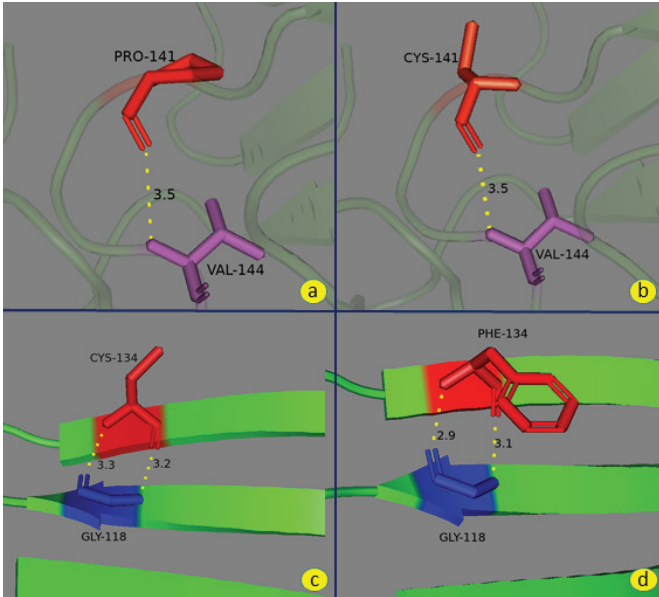
- V Sudnitsyna, M., V Mymrikov, E., S Seit-Nebi, A., & B Gusev, N. (2012). The role of intrinsically disordered regions in the structure and functioning of small heat shock proteins. *Current Protein and Peptide Science*, 13(1), 76-85.
- Wang, X., Chen, M., Zhou, J., & Zhang, X. (2014). HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy. *International journal of oncology*, 45(1), 18-30.
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., . . . Bordoli, L. (2018). SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W296-W303.
- Zhang, Q., Lee, H.-G., Kang, S. K., Baik, M., & Choi, Y.-J. (2014). Heat-shock protein beta 1 regulates androgen-mediated bovine myogenesis. *Biotechnology letters*, 36(6), 1225-1231.
- Zulkifli, I., Norbaidyah, B., Cheah, Y., Soleimani, A., Sazili, A., Goh, Y., & Rajion, M. (2010). A note on heat shock protein 70 expression in goats subjected to road transportation under hot, humid tropical conditions. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 4(6), 973. doi:10.1017/S1751731110000285

EK-1. Ensembl varyasyon veri tabanına göre HSPB1 genindeki nsSNP'lerin bilgileri.

S.No.	Varyant ID	Lokasyon	Alleller	Amino asit polimorfizmi	AA lokasyonu
1	rs478469025	25:34345467	C/A	A/D	2
2	rs445462216	25:34345470	A/G	E/G	3
3	rs464067622	25:34345472	C/A	R/S	4
4	rs482176586	25:34345476	G/C	R/P	5
5	rs449347502	25:34345478	G/C	V/L	6
6	rs467848082	25:34345479	T/G	V/G	6
7	rs434908734	25:34345481	C/T	P/S	7
8	rs446954387	25:34345482	C/A	P/H	7
9	rs432156486	25:34345512	A/C	D/A	17
10	rs457133750	25:34345526	T/G	W/G	22
11	rs475547515	25:34345530	A/C	Y/S	23
12	rs454406881	25:34345550	T/C	F/L	30
13	rs472895726	25:34345587	A/C	E/A	42
14	rs440061824	25:34345592	T/G	S/A	44
15	rs471930489	25:34345616	T/G	W/G	52
16	rs438998259	25:34345620	C/G	P/R	53
17	rs437288732	25:34345622	G/A	G/S	54
18	rs482542288	25:34345640	C/G	P/A	60
19	rs449284563	25:34345656	A/C	E/A	65
20	rs479828781	25:34345697	A/C	S/R	79
21	rs443050602	25:34346557	G/T	R/S	123
22	rs455216833	25:34346558	C/A	Q/K	124
23	rs440374660	25:34346565	A/G	E/G	126
24	rs458985277	25:34346567	C/A	H/N	127
25	rs477465536	25:34346568	A/C	H/P	127
26	rs462891707	25:34346582	C/G	R/G	132
27	rs480980753	25:34346583	G/T	R/L	132
28	rs466826858	25:34346589	T/C	F/S	134
29	rs478987833	25:34346591	A/C	T/P	135
30	rs464133197	25:34346598	A/C	K/T	137
31	rs437589967	25:34346601	A/C/G	Y/S	138
32	rs437589967	25:34346601	A/C/G	Y/C	138
33	rs456186061	25:34346603	A/C	T/P	139
34	rs468308485	25:34346604	C/A/G	T/K	139
35	rs468308485	25:34346604	C/A/G	T/R	139
36	rs458037741	25:34346699	C/T	P/S	141
37	rs449685733	25:34346712	A/G	D/G	145
38	rs461709152	25:34346715	C/T	P/L	146
39	rs480236238	25:34346717	A/C/G/T	T/P	147
40	rs480236238	25:34346717	A/C/G/T	T/A	147
41	rs480236238	25:34346717	A/C/G/T	T/S	147
42	rs447292307	25:34346718	C/T	T/I	147
43	rs434162957	25:34346724	T/A/G	V/D	149

44	rs434162957	25:34346724	T/A/G	V/G	149
45	rs446252460	25:34346726	T/G	S/A	150
46	rs438225121	25:34346741	C/G	P/A	155
47	rs456693447	25:34346751	C/G	T/R	158
48	rs454190449	25:34346760	T/C	V/A	161
49	rs472722250	25:34346762	G/C	E/Q	162
50	rs451428401	25:34346765	G/T	A/S	163
51	rs443518240	25:34346783	G/C	A/P	169
52	rs480170935	25:34346790	A/C	Q/P	171
53	rs440836764	25:34346796	C/G	A/G	173
54	rs459448140	25:34346798	G/C	E/Q	174
55	rs477986571	25:34346799	A/G	E/G	174
56	rs446213032	25:34346801	A/G	I/V	175
57	rs464563400	25:34346813	G/C	V/L	179
58	rs450252390	25:34346820	T/A	F/Y	181
59	rs468743346	25:34346823	A/C/G	Q/P	182
60	rs468743346	25:34346823	A/C/G	Q/R	182
61	rs454070136	25:34346834	C/G	Q/E	186
62	rs466267169	25:34346836	G/T	Q/H	186
63	rs451847331	25:34346840	G/A	G/S	188
64	rs476358240	25:34346844	G/A	G/D	189
65	rs455619556	25:34346856	G/T	G/V	193
66	rs440770354	25:34346858	A/G	K/E	194
67	rs459314521	25:34346864	G/A	E/K	196
68	rs438435117	25:34346870	C/T	P/S	198

Ek-2. HSP27 proteininde doğal ve mutant amino asitlerinin oluşturduğu hidrojen bağları. **a.** Doğal P141 **b.** Mutant C141 **c.** Doğal C134 **d.** Mutant F134



BÖLÜM 3

FEN BİLGİSİ ÖĞRETMEN ADAYLARININ “GIDALARIN IŞINLAMA İLE STERİLİZASYONU” HAKKINDAKİ GÖRÜŞLERİ

Kerem SÜTÇÜ¹

¹ Doç. Dr., Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi
Eğitimi Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0002-5791-1492

GİRİŞ

Gıda ışınlanması, gıda güvenliğini artırmak için iyonlaştırıcı radyasyon veya elektron ışınları kullanan güvenilir bir gıda işleme teknolojisidir. Gıdaların ışınlanması, mikroorganizmaların inaktivasyonuna ve gıdaların raf ömürlerinin uzamasına neden olur [1]. Yumurta, et ürünleri, baharatlar, su ürünleri ve kabuklu yemişler gibi gıdalar günümüzde ışınlama işlemi kullanılarak sterilize edilmektedirler. Besinlerin korunması, besin kaynaklı hastalık ve enfeksiyonların önlenmesi, filizlenme ve olgunlaşmanın kontrolü ve geciktirilmesi, böcek ve haşere kontrolü gibi çeşitli amaçlarla ışınlama ile sterilizasyon teknolojisi kullanılmaktadır [2]. Ancak sterilize edilecek gıdanın türüne, yapısına, hangi hazırlanma aşamasında olduğuna dikkat edilmelidir. Çünkü tüm gıdalar için uygulanacak tek bir ideal sterilizasyon yöntemi bulunmamaktadır. Klasik bir sterilizasyon yöntemi olan ısı işlem yöntemi; gıdalarda fiziksel ve kimyasal değişimlere sebep olabileceği için ısı olmayan yeni yöntemlere olan ihtiyaç artmaktadır. Bu ihtiyacı karşılamak için son yıllarda gıdalara yeni sterilizasyon yöntemleri uygulanması konusunda bilimsel çalışmalar yoğun ilgi görmektedir. Işınlama ile sterilizasyon, yüksek basınç, ultrasonik ses dalgaları kullanımı ve plazma sterilizasyon uygulamaları en çok tercih edilen yeni sterilizasyon yöntemleri arasında bulunmaktadır.

Işınlama ile sterilizasyon; gıdaların iyonize edici radyasyona tutularak gıdalarda bulunan bakteri, küf ve mantar gibi mikroorganizmalardan arındırılma işlemidir. Mikroorganizmaların ışınlama işlemi sonucunda yaşamsal molekülleri yıkılır ve moleküllerde oluşan kimyasal değişiklikler sonucunda aktiviteleri yok olur. Mikrobiyolojik güvenliği ve gıdaların daha uzun depolanabilirliğini artırmak için gıdaların iyonlaştırıcı radyasyonlarla sterilizasyonu, 20. yüzyılın en çok incelenen teknolojilerinden birisidir [3]. İyonlaştırıcı radyasyon, hem gıdaları hem de ilaçları sterilize etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [4-9]. Alternatif yöntemlerin aksine, ışınlama ile sterilizasyon işlemi, hiç bir karantina periyoduna gerek kalmadan, mikroorganizmaları tek bir prosedürde yok etmektedir [10]. Yüksek giricilik özelliği sayesinde sterilize edilecek gıdanın ambalajlı halinde bile kullanılabilir. Ayrıca radyosterilizasyonda sterilize edilecek maddede sıcaklık artışı gözlenmemekte ve ürün radyoaktif özellik kazanmamaktadır [11]. Ayrıca bu işlem herhangi bir kimyasal atık oluşturmadığından çevre için zararlı bir etkisi bulunmamaktadır. Bu avantajlarıyla birlikte ışınlama ile sterilizasyonun bir takım dezavantajları da mevcuttur. Yüksek enerjisi sebebiyle ışınlama işlemi sonucunda gıdada moleküler yıkımlar oluşabilmekte ve bunun sonucunda serbest radikal oluşumuna sebep olabilmektedir. Ayrıca gelecekte kontrolsüz ışınlama işlemlerinin kullanımının söz konusu olması diğer bir dezavantajdır.

ABD’de Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Dise-

ase Control and Prevention), Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration) verilerine göre yılda 6.5-33 milyon gıda kaynaklı hastalık meydana gelmektedir [12]. Ayrıca, üçüncü dünya ülkelerinde tarım ürünlerinin %25'inin marketlere ulaşmadan bozulduğu bildirilmiştir [13].

Işınlama ile sterilizasyon işlemi çok sayıda ülkede gerek kaliteli gerekse güvenli gıda tüketimi için endüstriyel olarak uygulanmaktadır. Gıda ışınlamasının ilk ticari kullanımı 1957'de Almanya'da bir baharat üreticisinin elektronlarla ışınlayarak ürünlerinin hijyenik kalitesini geliştirme çabasıyla başlamıştır [14]. Kanada'da, filizlenmenin önlenmesi için patateslerin ışınlanmasına 1960'da izin verilmiş ve 1980 yılında 10 kGy doza kadar herhangi bir gıda ürününün ışınlanmasının hiçbir toksikolojik tehlikeye ve özel bir mikrobiyolojik soruna sebep olmadığı sonucuna varılmıştır [14]. Ülkemizde ise gıda ışınlama yönetmeliği Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Tarım Köy İşleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı'nın işbirliği ile 1999 yılında yürürlüğe girmiştir. Yönetmelikte yedi gıda grubunun ışınlanmasına izin verilip, ticari olarak yılda 2000 ton çeşitli gıdaların ışınlanması gerçekleştirilmektedir [15].

Pandemiyle mücadele edilen günümüz dünyasında tüketiciye temas edilmemiş ürünlerin sunulması gerekliliğinin ortaya çıkmasıyla birlikte radyasyonla sterilizasyon işleminin kullanımı artmıştır. Gerek fizik, kimya ve biyoloji derslerini lisans düzeyinde almalarından, gerekse ışınlanma işleminin kapsamı, yararlı ve zararlı yönleri hakkında akademik donanıma sahip olmalarında ötürü fen bilgisi öğretmen adaylarının, gıdaların sterilizasyonu gibi sağlığımızla yakından ilişkili olan bir konuda görüşleri incelemek oldukça önem arz etmektedir. Buna rağmen literatürde fen bilgisi öğretmen adaylarının gıdaların ışınlama ile sterilizasyonu hakkında görüşlerini içeren herhangi bir araştırmanın bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda araştırma da fen bilgisi öğretmen adaylarının ışınlama işlemi uygulanarak sterilize edilmiş gıdalar hakkındaki görüşlerini incelemek amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Araştırma Modeli

Bu çalışmada, nitel araştırma yöntemi kullanılmıştır. Araştırma fen bilgisi öğretmen adaylarının gıdaların ışınlanma işlemi uygulanarak sterilize edilmeleri hakkındaki görüşlerini incelemek amacıyla yapıldığı için nitel araştırma desenleri içinden durum çalışması tercih edilmiştir. Bu tip çalışmalarda amaç belirli bir duruma ilişkin sonuçlar ortaya koymaktır.

Katılımcılar

Araştırmanın katılımcıları 2019-2020 eğitim-öğretim yılı güz döneminde bir devlet üniversitesinin eğitim fakültesinde öğrenim gören

40 fen bilgisi öğretmen adayıdır. Katılımcıların 25 (%62.5)'i kadın, 15 (%37.5)'i erkek; 10'u 1.sınıf, 10'u 2.sınıf, 10'u 3.sınıf ve 10'u 4. sınıftır.

Veri Toplama Aracı

Veri toplama aracı olarak açık uçlu soru formu kullanılmıştır. Öğrencilere yöneltilen soruların açık uçlu olması, öğrencilerin gıdaların sterilizasyonu hakkındaki görüşlerini birçok farklı açıdan belirtebilmelerine imkân sağlamıştır. Soru formu hazırlanırken öncelikle literatür taraması yapılmıştır. Bu aşamadan sonra üç sorudan oluşan taslak bir form hazırlanmıştır. Bu form fen bilgisi eğitimi alanında çalışan üç uzman tarafından incelenmiş, uzmanların belirttiği görüş ve düzeltmeler dikkate alınarak son şekli verilmiştir. Açık uçlu soru formunda aşağıdaki sorular sorulmuştur.

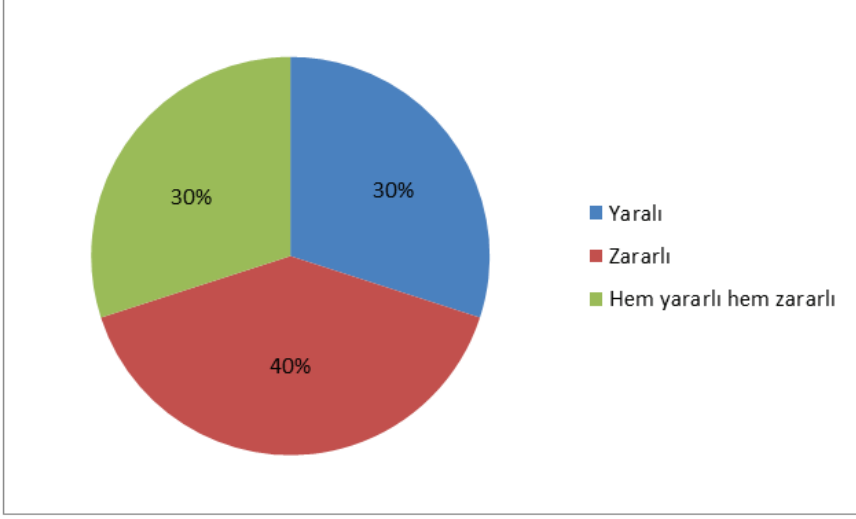
1. Gıdaların ışınlanarak sterilize edilmeleri hakkında ne düşünüyorsunuz?
2. Satın alacağınız herhangi bir gıda üzerinde “ışınlanma ile sterilize edilmiştir” yazısını veya logosunu görürseniz bu gıdayı satın alıp rahatlıkla tüketir misiniz? Neden?
3. Herhangi bir gıdayı tüketirken hangi sterilizasyon işlemine maruz kaldığı sizin için önemli midir? Neden?

Verilerin Analizi

Araştırmada elde edilen verilerin çözümlenmesinde betimsel analiz kullanılmıştır. Betimsel analiz, çeşitli veri toplama teknikleri ile elde edilmiş verilerin daha önceden belirlenmiş temalara göre özetlenmesi ve yorumlanmasını içeren bir nitel veri analiz türüdür. Bu analiz türünde bireylerin görüşlerini çarpıcı bir biçimde yansıtabilmek amacıyla doğrudan alıntılara yer verilmektedir [16]. Araştırmada elde edilen veriler araştırma sorularının ortaya koyduğu temalara göre araştırmacılar tarafından ayrı ayrı incelenerek anlamlı ve mantıklı bir biçimde bir araya getirilmiş ve bu görüşlere vurgu yapan öğrenci sayıları parantez içinde belirtilmiştir. Bunun yanında öğrencilerin görüşlerini yansıtmak için doğrudan alıntılara da yer verilmiştir.

BULGULAR

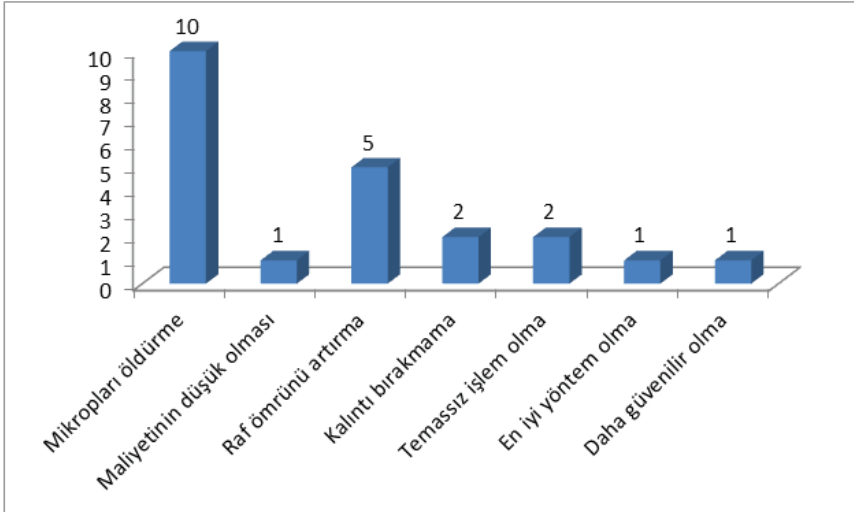
1. Gıdaların ışınlanarak sterilize edilmeleri hakkında ne düşünüyorsunuz? sorusuna ilişkin öğretmen adaylarının vermiş olduğu cevaplar üç temada özetlenmiş ve sonuçlar Grafik 1'de sunulmuştur.



Grafik 1. "Gıdaların ışınlanarak sterilize edilmeleri hakkında ne düşünüyorsunuz?" sorusuna ilişkin öğretmen adaylarının vermiş olduğu cevaplar

Grafik 1'de görüldüğü üzere öğretmen adaylarının %30 (f=12)'u ışınlayarak sterilize etme işleminin yararlı, %40 (f=16)'ı zararlı ve %30 (f=12)'u ise hem yararlı hem de zararlı bir süreç olduğunu belirtmişlerdir.

Gıdaların ışınlanarak sterilize edilmelerinin yararlı bir süreç olduğunu belirten öğretmen adaylarının bu işlemi neden yararlı bulduklarına ait görüşleri Grafik 2'de verilmiştir.



Grafik 2. Öğretmen adaylarının gıdaların ışınlanarak sterilize edilme işlemlerinin neden yararlı bulduklarına ilişkin görüşleri

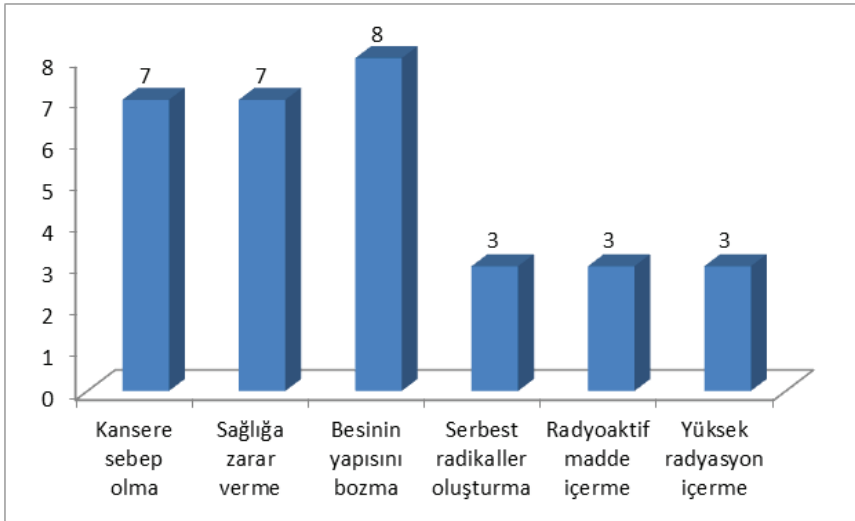
Grafik 2 incelendiğinde; ışınlama işleminin yararlı bir süreç olduğunu belirten öğretmen adayları en çok ışınlama işleminin “mikropları öldürme (f=10)” özelliğinden, ikinci sırada ise ışınlama işleminin “gıdaların raf ömrünü arttırma (f=5)” özelliğinden dolayı yararlı bulmuşlardır. Bu görüşleri sırasıyla; “kalıntı bırakmama (f=2)”, “temassız işlem olma (f=2)”, “düşük maliyet (f=1)”, “en iyi yöntem olma (f=1)” ve “daha güvenilir olma (f=1)” görüşlerinin takip ettiği belirlenmiştir.

İşinleme işlemini yararlı bir süreç olarak gören öğretmen adaylarına ait bazı ifadeler şöyledir:

“Gıdaların ışınlanarak sterilize edilmelerini doğru buluyorum. Çünkü gıdanın herhangi bir temas olmadan sterilize edilmesi insanın içini rahatlatır.”

“İşinleme işlemi mikroorganizmaların yok edilmesini sağlar, gıdaların daha uzun ömürlü olmasını sağlar.”

Gıdaların ışınlanarak sterilize edilmelerinin zararlı bir süreç olduğunu belirten öğretmen adaylarının bu işlemi neden zararlı bulduklarına ait görüşleri Grafik 3’te verilmiştir.



Grafik 3. Öğretmen adaylarının gıdaların ışınlanarak sterilize edilme işlemlerinin neden zararlı bulduklarına ilişkin görüşleri

Grafik 3 incelendiğinde; öğretmen adaylarında zararlı bir uygulama olarak gördükleri ışınlama kullanılarak sterilizasyon işleminin “besinin yapısını bozma (f=8)”, “sağlığa zarar verme (f=7)” ve “kansere sebep olma (f=7)” görüşlerinin ilk sıralarda olduğu görülmüştür. Bununla birlikte “serbest radikaller oluşturma (f=3)”, “radyoaktif madde içirme (f=3)” ve

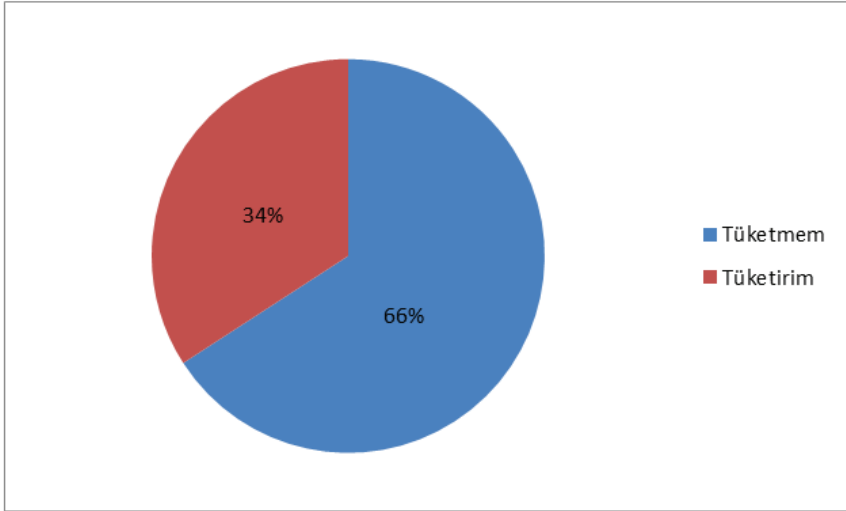
“yüksek radyasyon içerme (f=3)” görüşlerinin son sıralarda olduğu belirlenmiştir.

Işınlama işlemini zararlı bir süreç olarak gören öğretmen adaylarına ait bazı ifadeler şöyledir:

“Gıdaların ışınlanarak sterilize edilmelerini zararlı buluyorum. Çünkü bir maddenin ışınlanarak sterilize edilmesi maddenin veya gıdanın yararlı besinlerini de yok eder.”

“Işınlama yoluyla sterilize edilirken ürünlere aynı zamanda zararlı ışınlarda veriliyor. UV ışınları gibi zararlı ışınlar vücudumuzdaki yapıları bozarak hücrelere zarar verir. Bu yüzdende kanser gibi çok ciddi bir hastalığa neden olur. İnsan vücuduna bu denli zarar veren ışınlar kullanmak sterilizasyonu güvensiz ve zararlı bir hale dönüştürüyor.”

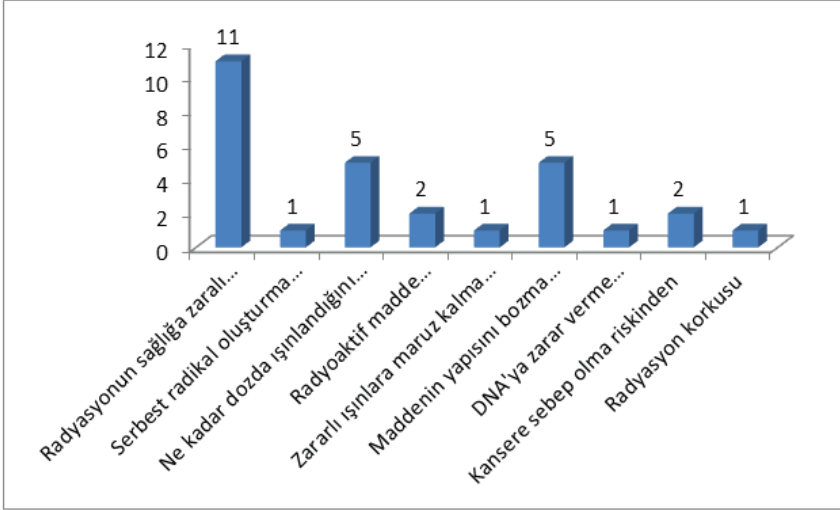
2. Satın alacağınız herhangi bir gıda üzerinde “ışınlanma ile sterilize edilmiştir” yazısını veya logosunu görürseniz bu gıdayı satın alıp rahatlıkla tüketir misiniz? Neden? sorusuna öğretmen adaylarının vermiş olduğu cevaplar iki temada özetlenmiş ve sonuçlar Grafik 4’de sunulmuştur.



Grafik 4. Satın alacağınız herhangi bir gıda üzerinde “ışınlanma ile sterilize edilmiştir” yazısını veya logosunu görürseniz bu gıdayı satın alıp rahatlıkla tüketir misiniz? Neden? sorusuna öğretmen adaylarının vermiş olduğu cevaplar

Grafik 4’e göre, öğretmen adaylarının satın alacakları herhangi bir gıda üzerinde “ışınlanma ile sterilize edilmiştir” yazısını veya logosunu gördüklerinde bu gıdayı %66(f=27)’sının tüketmem, %34(f=14)’ünün tüketirim cevaplarını verdikleri tespit edilmiştir.

Işınlama ile sterilize edilmiş ürünleri tüketmem görüşünü bildiren öğretmen adaylarının bu ürünleri neden tüketmeyeceklerine neden olan görüşleri Grafik 5’te verilmiştir.



Grafik 5. Işınlama ile sterilize edilmiş ürünleri tüketmem görüşünü bildiren öğretmen adaylarının bu ürünleri neden tüketmeyeceklerine neden olan görüşleri

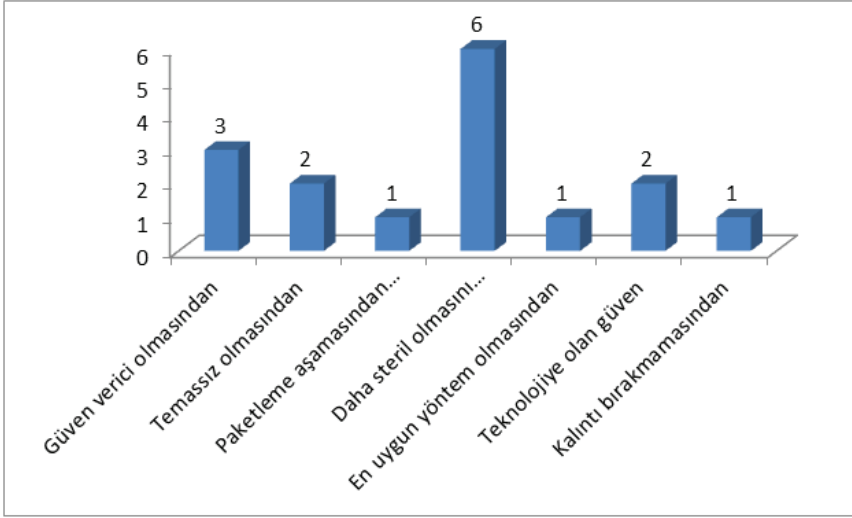
Grafik 5 incelendiğinde; ışınlama işlemi uygulanarak sterilize edilmiş gıdaları tüketmeme sebebi olarak ilk sırada "radyasyonun sağlığa zararlı etkisi" (f=11) yer almıştır. Bu ifadeyi "ne kadar dozda ışılandığını bilme gereksinimi" (f=5) ve "maddenin yapısını bozma ihtimali" (f=5) görüşleri takip etmiştir. Öğretmen adaylarından ışınlama işlemi uygulanmış gıdaları "tüketmem" ifadesini verenler arasında ışınlama işleminde "radyoaktif madde kullanımı" (f=2) ve ışınlama işleminin "kansere sebep olma riski" (f=2) ifadelerinin de olduğu belirlenmiştir. Ayrıca "serbest radikal oluşturma riski" (f=1), "zararlı ışınlarla maruz kalma" (f=1), "DNA'ya zarar verme" (f=1) ve "radyasyon korkusu" (f=1) öğretmen adaylarının ışınlanmış gıda tüketmeme sebepleri arasında belirttiği ifadeler arasında yer almıştır.

Işınlama işlemi uygulanarak sterilize edilmiş gıdaları tüketmem görüşünde olan öğretmen adaylarına ait bazı ifadeler şöyledir:

"Hayır. Çünkü zararlı ışınlarla sterilize edilmiş bir gıdanın vücuda zararı vardır."

"Kullanmam. Çünkü gıdalar uygun dozda sterilize edilmiş gibi görünürken gerçekte ne kadar dozda radyasyon kullanıldığından emin olamam. Ticari firmalar raf ömrünü uzatmak için bunu paket üzerinde göstermeden yüksek doz kullanmış olabilir."

Işılama ile sterilize edilmiş ürünleri tüketirim görüşünü bildiren öğretmen adaylarının bu ürünleri neden tüketebileceklerine olan görüşleri Grafik 6’da verilmiştir.



Grafik 6. Işılama ile sterilize edilmiş ürünleri tüketirim görüşünü bildiren öğretmen adaylarının bu ürünleri neden tüketebileceklerine neden olan görüşleri

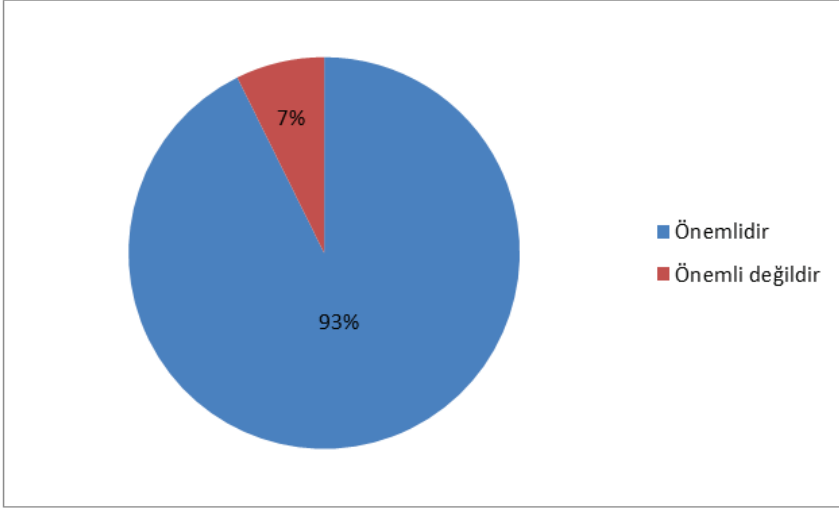
Grafik 6 incelendiğinde; ışılama işlemi uygulanarak sterilize edilmiş gıdaları tüketme sebebi olarak sırasıyla; “daha steril olma” ($f=6$), “güven verici olması” ($f=3$), “temassız olma” ($f=2$), “teknolojiye olan güven” ($f=2$), “paketleme aşamasından sonra uygulanabilirlik” ($f=1$), “en uygun yöntem olması” ($f=1$) ve “kalıntı bırakmama” ($f=1$) ifadelerinin olduğu belirlenmiştir.

Işılama işlemi uygulanarak sterilize edilmiş gıdaları tüketirim görüşünde olan öğretmen adaylarına ait bazı ifadeler şöyledir:

“Rahatlıkla tüketirim, mikroorganizmalardan arındırıldığı için güvenerek yiyebilirim.”

“Rahatlıkla kullanabilirim çünkü tamamen sterilize edilmiştir.”

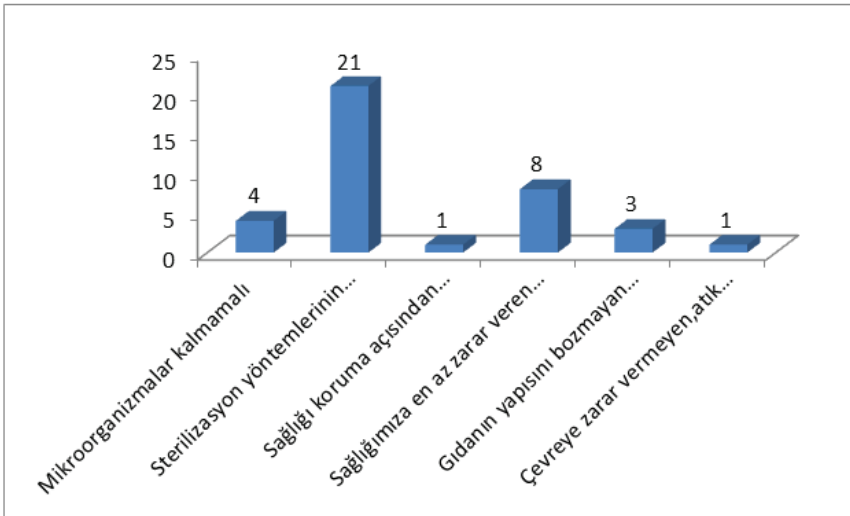
3. Herhangi bir gıdayı tüketirken hangi sterilizasyon işlemine maruz kaldığı sizin için önemli midir? Neden? sorusuna öğretmen adaylarının vermiş olduğu cevaplar iki temada özetlenmiş ve sonuçlar Grafik 7’de sunulmuştur.



Grafik 7. Herhangi bir gıdayı tüketirken hangi sterilizasyon işlemine maruz kaldığı sizin için önemli midir? Neden? sorusuna öğretmen adaylarının vermiş olduğu cevaplar

Grafik 7’de, öğretmen adaylarının %93 (f=38)’ünün tüketeceği gıdanın hangi sterilizasyon işlemine maruz kaldığının önemli olduğu; %7 (f=3)’sinin ise önemli olmadığını görüşünde oldukları tespit edilmiştir.

Tüketeceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemseyen öğretmen adaylarının görüşleri Grafik 8’de verilmiştir.



Grafik 8. Tüketeceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemseyen öğretmen adaylarının görüşleri

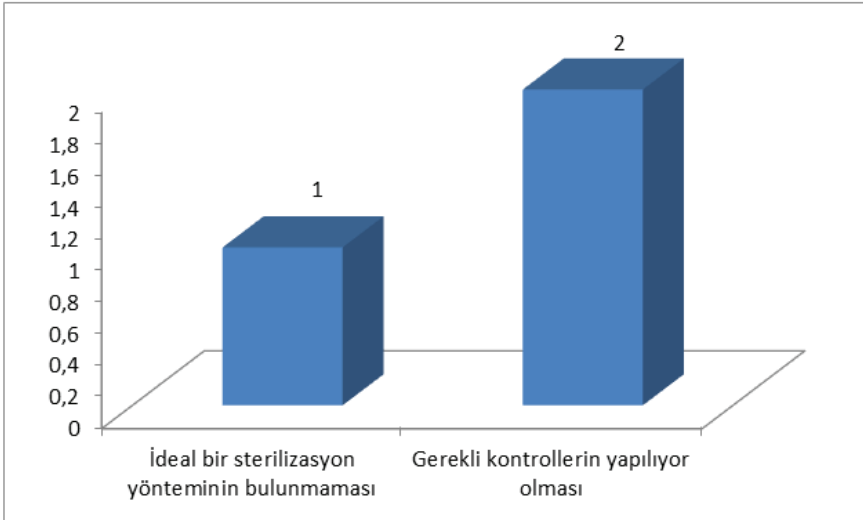
Grafik 8 incelendiğinde, tüketileceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemseyen öğretmen adaylarının çok büyük kısmının (f=21) neden olarak “sterilizasyon yöntemlerinin dezavantajlarının olduğu” görüşünde oldukları belirlenmiştir. Bu görüşü “sağlığımızı en az etkileyen yöntemin tercih edilmesi” (f=8) görüşü takip etmiştir. Bu durumu sırasıyla “mikroorganizmalar kalmamalı” (f=4), “gıdanın yapısını bozmayan yöntemin tercih edilmiş olması” (f=3), “sağlığı koruma açısından sterilizasyon yönteminin önemli etken olması” (f=1) ve “çevreye zarar vermeyen, atık oluşturmayan yöntemin tercih edilmesi” (f=1) görüşlerinin izlediği tespit edilmiştir.

Tüketileceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemseyen öğretmen adaylarının ifadeleri şöyledir:

“Hangi sterilizasyon işlemine maruz kaldığı benim için oldukça önemlidir. Çünkü her sterilizasyon yönteminin olumlu ve olumsuz yönleri vardır.”

“Evet. Çünkü her sterilizasyon yöntemi güvenli değil ve ürünlere uygun sterilizasyon işlemi yapmak önemli. Yanlış bir sterilizasyon işlemiyle üründe zararlı maddeler üretilir ya da yararlı maddeleri yok eder ve bize fayda sağlamasından çok zararı dokunur.”

Tüketileceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemseyen öğretmen adaylarının görüşleri Grafik 9’da verilmiştir.



Grafik 9. Tüketileceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemsemeyen öğretmen adaylarının görüşleri

Grafik 9 incelendiğinde tüketeceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemsemeyen öğretmen adaylarının sırasıyla; “gerekli kontrollerin yapılıyor olması” (f=2) ve “ideal bir sterilizasyon yönteminin bulunmaması” (f=1) görüşlerinde oldukları belirlenmiştir.

Tüketeceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemsemeyen öğretmen adaylarının ifadeleri şöyledir:

“Önemli değil. Her ürün için ayrı bir sterilizasyon yöntemi uygulanır. Kontroller de yapıldığı için güvenerek alırım.”

“Hayır önemli değil. Çünkü gerekli koşullar sağlanmadan hiçbir ürünün sterilize edilemeyeceğine inanıyorum. Ayrıca gerekli kontroller yapı-lacağı için güvenle tüketirim.”

TARTIŞMA VE SONUÇ

İyonize edici radyasyon, hem gıdaları hem de ilaçları sterilize etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [4-9]. Mikrobiyolojik güvenlik ve depolanabilirliği iyileştirmek için gıdalara iyonize edici radyasyon uygulanması en kapsamlı incelenen teknolojilerden biridir [3]. Gıdaların iyonize edici radyasyon uygulamaları son on yılda muazzam bir şekilde artmıştır ve dünya genelinde 40 ülkede bu uygulamaya izin verilmektedir [13]. Bu nedenle bu araştırma ile fizik, kimya ve biyoloji derslerini akademik düzeyde alan fen bilgisi öğretmen adaylarının; gittikçe daha yaygın kullanım alanı bulan radyasyonla sterilizasyon yöntemiyle ilgili görüşleri incelenmiştir. Buna göre öğretmen adaylarının %30’u ışınlayarak sterilize etme işleminin yararlı, %40’ı zararlı ve %30’u ise hem yararlı hem de zararlı bir süreç olduğunu belirtmişlerdir. Işınlama işleminin yararlı bir süreç olduğunu belirten öğretmen adayları en çok ışınlama işleminin mikropları öldürme ve gıdaların raf ömrünü arttırma özelliklerinden dolayı yararlı bulmuşlardır. Bu görüşleri sırasıyla; kalıntı bırakmama, temassız işlem olma, düşük maliyet, en iyi yöntem olma ve daha güvenilir olma görüşleri takip ettiği belirlenmiştir. Bununla birlikte ışınlama işleminin zararlı bir süreç olduğunu belirten öğretmen adayları en çok sağlığa zarar verme ve besinin yapısını bozma özelliklerinden dolayı zararlı bulmuşlardır. Bu görüşleri sırasıyla serbest radikaller oluşturma, radyo aktif madde içerme ve yüksek radyasyon içerme görüşleri takip etmektedir.

Öğretmen adaylarının satın alacakları herhangi bir gıda üzerinde “ışınlanma ile sterilize edilmiştir” yazısını veya logosunu gördüklerinde bu gıdayı çoğunun tüketmeyeceği, daha az bir kısmının tüketeceği tespit edilmiştir. Öğretmen adaylarının ışınlama işlemi uygulanarak sterilize edilmiş gıdaları tüketmeme sebebi olarak ilk sırada radyasyonun sağlığa zararlı etkisidir. Ayrıca öğretmen adayları ne kadar dozda ışınlandığını bil-medikleri, maddenin yapısının bozulma ihtimali, radyoaktif madde kulla-

nılmış olması, zararlı ışınlarla maruz kalma, kansere sebep olma ve serbest radikal oluşturma riskinden dolayı bu gıdaları tüketmeyeceklerini belirtmişlerdir. Bununla birlikte, öğretmen adayları bu yöntemin güven verici ve daha steril olacağından dolayı ışınlama işlemi uygulanarak sterilize edilmiş gıdaları tüketim şeklinde görüş bildirmişlerdir. Ayrıca bu yöntemin teknolojiye olan güven, temassız olması, paketlenme aşamasından sonra uygulanabilirliği, en uygun yöntem olması ve kalıntı bırakmamasından dolayı öğretmen adayları tarafından tercih edilmektedir.

Öğretmen adaylarının büyük çoğunluğunun tüketeceği gıdanın hangi sterilizasyon işlemine maruz kaldığının önemli olduğu; daha az bir kısmının ise önemli olmadığı görüşünde oldukları tespit edilmiştir. Tüketeceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemseyen öğretmen adaylarının çok büyük kısmının neden olarak sterilizasyon yöntemlerinin dezavantajlarının olduğu görüşündedirler. Bu görüşü, sağlığını en az etkileyen yöntemin tercih edilmesi, mikroorganizmaların kalmaması, gıdanın yapısını bozmayan yöntemin tercih edilmiş olması, sağlığı koruma açısından sterilizasyon yönteminin önemli etken olması ve çevreye zarar vermeyen, atık oluşturmayan yöntemin tercih edilmesi görüşleri izlemektedir. Bununla birlikte tüketeceği gıdada hangi sterilizasyon yönteminin uygulandığını önemsemeyen öğretmen adayları gerekli kontrollerin yapılıyor olması ve ideal bir sterilizasyon yönteminin bulunmaması görüşlerinde oldukları belirlenmiştir.

Gıdaların radyasyonla ışınlanması hijyenik kaliteyi artırma, raf ömrünü uzatma, gıda kaynaklı hastalıkların oranını azaltmada kullanılmaktadır [17]. Arvanitoyannis, Stratakos, ve Tsarouhas (2009) yaptıkları bir çalışmada meyve ve sebzelere uygulanan kimyasalların azaltılmasında iyonize edici radyasyonla sterilizasyonun artık bırakmayan özelliğinin önemli bir avantaj olduğunu belirtmişlerdir [18]. Horváthov SuhaJ, Polovka ve Šimko (2007) yaptıkları çalışmada gıdaların iyonize edici radyasyonla etkileşiminin gıda kalitesini uzun süre korumak için oldukça etkili bir yöntem olarak kabul edildiğini bildirmişlerdir [19]. Bayram ve Delincée (2004) çalışmalarında tüketicilerin ışınlanmış gıdaları tüketme oranındaki artışın ışınlama işlemiyle ilgili yeterli bilginin sağlanmasıyla gerçekleşeceğini belirtmişlerdir [20]. Bu bağlamda fizik, kimya ve biyoloji ağırlıklı alan dersleri alan fen bilgisi öğretmen adaylarının iyonize edici radyasyon hakkında donanımlı olduklarından dolayı gerek gıdaların ışınlanarak sterilize edilmelerinin yararlı bir işlem olduğunu gerekse de satın alacağı herhangi bir gıdanın ışınlanarak sterilize edildiğini bilmelerine rağmen rahatlıkla tüketebileceklerini ifade eden öğretmen adaylarının radyasyonla sterilizasyon işleminin avantajlı yönlerinin etkisinde oldukları söylenebilir. Öğretmen adaylarından ışınlanarak sterilize edilmenin yararlı bir işlem olarak gören öğretmen adaylarının buna sebep olarak en fazla daha steril olmasını

sağlama görüşünde olmaları ışınlama işlemiyle sterilize edilmiş gıdaların hem raf ömrünün hem de hijyenik kalitesinin artmasından kaynaklanabilir [21-22].

Literatür incelendiğinde ışınlama işlemi yüksek enerjisinden dolayı uygulanan üründe yıkımlara sebep olabileceğinden bazı dezavantajlara da sahip olduğu görülmektedir [23]. Erbaş ve Şekerci (2011) çalışmalarında ışınlama işlemine maruz kalan gıdalarda yüksek miktarlarda vücutta zararlı etkiler gösteren yüksek aktiviteli kimyasal yapılar oluşabileceğini tespit etmişlerdir [24]. Ghelawi, Moore, Bisby, ve Dodd (2001) tarafından yapılan başka bir araştırmada ışınlanmış gıdaların ne kadar dozda ışınlandığını tespit edecek güvenilirliği ve kullanılabilirliği doğrulanmış bir yöntemin belirlenmesi gerekliliği bildirilmiştir [13]. Yordanov ve Pachova (2006) çalışmalarında ışınlanmış gıdalarda serbest radikaller oluşacağını bunlardan bazılarının canlı organizma üzerinde etkisi iyi çalışılmamış yeni türler oluşturmak için yeniden birleşeceğini bildirmişlerdir [25]. Bu sebeple ışınlama işleminin kontrolünün çok önemli olduğunu ve bu durumla ilgili son 20 yılda birçok çalışma yapıldığını bildirmiştir. Işınlama ile sterilizasyon işlemini zararlı bir uygulama olarak gören öğretmen adayları aldıkları alan eğitimi derslerinde ışınlama işleminin madde üzerindeki yıkıcı etkisi, yüksek enerji içermesi ve bu işlem için radyoaktif maddeler kullanılması konularını öğrendikleri için, ışınlama ile sterilizasyon işleminin zararlı olduğu ve bu şekilde sterilize edilmiş bir gıdayı tüketmeme düşüncelerini etkilemiş olabilecekleri söylenebilir. Aynı zamanda öğretmen adaylarının çok büyük kısmında tüketileceği gıdanın hangi sterilizasyon yöntemine maruz kalmış olmasının önem arz etmesi de bu hâkim düşünceden kaynaklanabilir. Öğretmen adaylarından ışınlanarak sterilize edilmenin zararlı bir işlem olarak gören öğretmen adaylarının buna sebep olarak en fazla radyasyonun sağlığa olan zararlı görüşünde olmaları; ışınlama işlemiyle sterilize edilen gıdalarda kanser, diyabet ve parkinson gibi önemli hastalıklara sebep olduğu bilinen serbest radikallerin oluşmasından kaynaklanabilir [26].

Gıdaların birçoğu tüketiciye sunulmadan önce bir sterilizasyon yöntemine maruz kaldığından sterilizasyon yönteminin seçimi önem kazanmaktadır. Ayrıca bazı sterilizasyon yöntemlerinin dezavantajlarının tüketici tarafından biliniyor olması, tüketicinin tercihini etkilemede önemli rol oynamaktadır. Öğretmen adaylarının sterilizasyon işlemine maruz kalan tüketilecekleri gıdaların bu işlem sonucunda hem hijyenik olması hem de sağlıklarına herhangi bir zarar vermemesi düşüncesinde oldukları sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKÇA

- [1] Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. (2019). Wholesomeness and safety aspects of irradiated foods. *Food chemistry*, 285, 363-368.
- [2] Yılmaz, H. Ö., & Ülger, T. G. (2016). Gıda İşinlamanın Besinlere Etkisi. *Ankara sağlık bilimleri dergisi*, (1-2-3), 1-16.
- [3] Farkas, J., & Mohácsi-Farkas, C. (2011). History and future of food irradiation. *Trends in Food Science & Technology*, 22(2-3), 121-126.
- [4] Murrieta, H. S., Munoz, E. P., Adem, E., Burillo, G., Vazquez, M., & Cabrera, E. B. (1996). Effect of irradiation dose, storage time and temperature on the ESR signal in irradiated oat, and corn and wheat. *Applied Radiation and Isotopes*, 47(11-12), 1657-1661.
- [5] Basly, J. P., Basly, I., & Bernard, M. (1998). Influence of radiation treatment on dobutamine. *International journal of pharmaceutics*, 170(2), 265-269.
- [6] Raffi, J., Yordanov, N. D., Chabane, S., Douifi, L., Gancheva, V., & Ivanova, S. (2000). Identification of irradiation treatment of aromatic herbs, spices and fruits by electron paramagnetic resonance and thermoluminescence. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 56(2), 409-416.
- [7] Gibella, M., Crucq, A. S., Tilquin, B., Stocker, P., Lesgards, G., & Raffi, J. (2000). Electron spin resonance studies of some irradiated pharmaceuticals. *Radiation Physics and chemistry*, 58(1), 69-76.
- [8] Petrişor, D., Damian, G., & Simon, S. (2008). Gamma-irradiated ExtraVit M nutritive supplement studied by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Radiation Physics and Chemistry*, 77(4), 463-466.
- [9] Juárez-Calderón, J. M., Negrón-Mendoza, A., Gómez-Vidales, V., & Ramos-Bernal, S. (2009). Study of dosimetric properties of acetylsalicylic acid in pharmaceutical preparations by EPR spectroscopy. *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 280(2), 245-249.
- [10] Basly, J. P., Basly, I., & Bernard, M. (1998). Electron spin resonance identification of irradiated ascorbic acid: dosimetry and influence of powder fineness. *Analytica chimica acta*, 372(3), 373-378.
- [11] Basly, J. P., Longy, I., & Bernard, M. (1998). Radiosterilization dosimetry by electron-spin resonance spectroscopy: Cefotetan. *Analytica chimica acta*, 359(1-2), 107-113.
- [12] Ay, Ö. 2006. Nükleer tekniklerin gıda sterilizasyonunda kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, 79.
- [13] Ghelawi, M. A., Moore, J. S., Bisby, R. H., & Dodd, N. J. F. (2001). Estimation of absorbed dose in irradiated dates (*Phoenix dactylifera* L.). Test

- of ESR response function by a weighted linear least-squares regression analysis. *Radiation physics and chemistry*, 60(1-2), 143-147.
- [14] Diehl, J. F. (2002). Food irradiation—past, present and future. *Radiation Physics and Chemistry*, 63(3-6), 211-215.
- [15] Çetinkaya, N., Halkman, H. B., & TAEK, S. N. A. (2006). Türkiye’de Gıda İşin-lama Teknolojisindeki Gelişmeler ve Yasal Düzenlemeler. *Türkiye*, 9, 24-26.
- [16] Yıldırım, A., & Şimşek, H. (2011). Sosyal bilimlerde nitel araştırma yöntem-leri Ankara: Seçkin Yayınları. introduction sections of master theses totally 189 citations, in introduction sections of.
- [17] Kwon, J. H., Chung, H. W., & Byun, M. W. (2000). ESR spectroscopy for detecting gamma-irradiated dried vegetables and estimating absorbed doses. *Radiation Physics and Chemistry*, 57(3-6), 319-324.
- [18] Arvanitoyannis, I. S., Stratakos, A. C., & Tsarouhas, P. (2009). Irradiation applications in vegetables and fruits: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(5), 427-462.
- [19] Horváthov Á, J., SuhaJ, M., Polovka, M., & Šimko, P. (2007). The influence of gamma-irradiation on the formation of free radicals and antioxidant status of oregano (*Origanum vulgare* L.). *Czech Journal of Food Sciences (Print)*, 25.
- [20] Bayram, G., & Delincée, H. (2004). Identification of irradiated Turkish foodstuffs combining various physical detection methods. *Food cont-rol*, 15(2), 81-91.
- [21] Polat, Mustafa., & Korkmaz, Mustafa (2004). The ESR spectroscopic featur-es and kinetics of the radiation-induced free radicals in maize (*Zea mays* L.). *Food research international*, 37(4), 293-300.
- [22] Polat, Mustafa., & Korkmaz, Mustafa (2004). The ESR spectroscopic featur-es and kinetics of the radiation-induced free radicals in maize (*Zea mays* L.). *Food research international*, 37(4), 293-300.
- [23] Basly, J. P., Longy, I., & Bernard, M. (1997). ESR identification of radioste-rilized pharmaceuticals: latamoxef and ceftriaxone. *International journal of pharmaceutics*, 158(2), 241-245.
- [24] Erbas, M., & Sekerci, H. (2011). Importance of free radicals and occurring during food processing. *GIDA/The Journal of FOOD*, 36(6).
- [25] Yordanov, N. D., & Pachova, Z. (2006). Gamma-irradiated dry fruits: an example of a wide variety of long-time dependent EPR spectra. *Spectro-chimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 63(4), 891-895.
- [26] Bhat, R., & Sridhar, K. R. (2011). Influence of ionizing radiation and con-ventional food processing treatments on the status of free radicals in lotus seeds: An ESR study. *Journal of food composition and analysis*, 24(4-5), 563-567.



BÖLÜM 4

LİKOPENİN HÜCRESEL ETKİLERİ

Fusun ERTEN¹

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksek Okulu, Tunceli, Türkiye. Orcid: 0000-0003-1657-7253, Email: fusun_87@yahoo.com

GİRİŞ

Likopen aktivitesi moleküler ve fiziksel yapıya, konsantrasyonuna, kaynağa, hücredeki aktif olduğu yerlere ve parsiyel oksijen basıncına bağlı olarak değişir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Kong ve diğerleri, 2010a). Likopen, insan sağlığı üzerine faydalı özelliklere sahiptir. Likopenin biyolojik etkilerinin hücresel mekanizmaları bu bölümde ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir.

Likopenin Antioksidan Aktivitesi

Likopen, proteinlerin, lipidlerin ve DNA'nın oksidasyonuna karşı güçlü bir antioksidandır (Caseiro ve diğerleri, 2020; Erten, 2021; Jaswir, Noviendri, Hasrini ve Octavianti, 2011). Buna ek olarak, likopen hidrojen peroksit, nitrojen dioksit ve hidroksil radikalleri gibi diğer serbest radikaller üzerinde de etkili olabilir (Durairajanayagam, Agarwal, Ong ve Prashast, 2014). Ayrıca, serbest radikallere karşı olan likopen aktivitesi, β -karoten, fitoen ve fitofluen gibi diğer domatesten elde edilen fitokimyasallarının bulunması ile sinerjik etki gösterir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Durairajanayagam ve diğerleri, 2014; Jaswir ve diğerleri, 2011). Likopen serbest radikallere veya okside edici ajanlara maruz kaldığında, polien yapıdaki çift bağlar etkilenebilir (Kong ve diğerleri, 2010b, 2010a). Bu reaksiyonlar sonucunda likopen bozulabilir ve doğal rengini kaybedebilir (Gao ve diğerleri, 2019; Kong ve diğerleri, 2010b, 2010a). Tüm karotenoidler arasında likopen, yapısında bulunan yüksek miktardaki çift bağlar sayesinde serbest oksijen radikallerine karşı koruyucu özelliği en yüksek olandır (Caseiro ve diğerleri, 2020; Faria-Silva ve diğerleri, 2020; Gao ve diğerleri, 2019; Kong ve diğerleri, 2010b, 2010a). Oksijen konsantrasyonu düşük olduğu durumlarda, likopen peroksil radikallerini temizleyerek lipid peroksidasyonunu baskılayabilir (dos Santos ve diğerleri, 2015). Serbest radikal oluşumunun; radikal ekleme, elektron transferi ve allilik hidrojen çıkarılması reaksiyonları gibi basamaklarında likopen etkinlik gösterir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Faria-Silva ve diğerleri, 2020; Kelkel, Schumacher, Dicato ve Diederich, 2011).

Radikal ekleme ve allilik hidrojen çıkarımı basamakları likopenin antioksidan fonksiyonlarına aracılık eden basamaklardır (Chen, Huang ve Hu, 2015). Oluşabilecek reaksiyonlar likopenin yapısal özelliklerinin yanında hücre membranında likopenin yerleşim yeri ile de alakalıdır (Galano ve Francisco-Marquez, 2009). Örneğin, polar ortamlar elektron transferi aşaması için önemli iken hücre membranı veya miçeller de radikal ekleme ve allilik hidrojen çıkartılması basamaklarında önem arz eder (Chen ve diğerleri, 2015). Dahası, likopen ve serbest radikaller arasındaki etkileşim birden fazla basamakta kendiliğinden meydana gelebilir (Galano ve Francisco-Marquez, 2009). Likopen, vitamin E ve C gibi enzimatik olma-

yan hücrel antioksidan sistemlerini de düzeltebilir (Kelkel ve diğerleri, 2011). Vitamin E'nin okside olmasını likopen önleyebilir (Kong ve diğerleri, 2010b, 2010a; P. Palozza, Parrone, Catalano ve Simone, 2010). Likopen singlet oksijen üreten sistemlerde antioksidan etkiye sahipken, peroksit üreten sistemlerde prooksidan aktiviteye sahiptir (Bowen ve diğerleri, 2002; Sahin, Orhan, Sahin ve Kucuk, 2019a). Likopenin antioksidan aktivitesi, likopenin redoks potansiyeli ve aynı zamanda içinde bulunduğu biyolojik ortam nedeniyle pro-oksidan aktivite haline gelebilir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Paola Palozza, 1998). Likopen yüksek konsantrasyonlarda prooksidan düşük seviyelerde antioksidan özellik gösterir (Bowen ve diğerleri, 2002; Sahin ve diğerleri, 2019a). Likopenin çoğu zarar azı karar denilebilir. Likopenin pro-oksidan aktivitesi, dokuların oksijen miktarı, likopen konsantrasyonu ve diğer antioksidanlarla etkileşimleri gibi birçok faktör tarafından düzenlenir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Paola Palozza, 1998). Likopen, bir pro-oksidan olarak, sadece biyolojik sistemlerde faydalı veya zararlı etkiler yaratmakla kalmaz, aynı zamanda insan hastalıklarının ilerlemesini de etkileyebilir (Paola Palozza, 1998).

Likopen normal hücrelerde uygun olmayan bir prooksidan aktiviteyi ROS üretimi yoluyla indükleyerek hücre hasarı yapabilir. Sonuç olarak, normal düzenleyici hücre işlevleri yok olabilir. Dahası hücrel bütünlük zarar görür ve en sonunda neoplastik dönüşüm indüklenebilir (Caseiro ve diğerleri, 2020). Öte yandan, likopen zaten hücre bütünlüğü bozulmuş hücrelerde prooksidan olarak görev yaparsa, malign lezyonların büyümesi ve gelişmesini önleyerek faydalı sonuçlar elde edilebilir (Caseiro ve diğerleri, 2020). Ayrıca, bu bileşiklerin diğer antioksidanlarla birlikte olması karotenoidlerin prooksidan aktivitelerini kısıtlar ve antioksidan etkilerini ise güçlendirebilir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Paola Palozza, 1998)

Antioksidan Enzimlerin Düzenlenmesi

Elektrofil yanıt elemanı transkripsiyon sistemi (EpRE) veya antioksidan yanıt elemanı transkripsiyon sistemi (ARE), detoksifiye edici enzimlerin promotör bölgesindeki CIS düzenleyici dizilere karşılık gelir (Kelkel ve diğerleri, 2011; Sahin ve diğerleri, 2019a). Likopen, bu ARE transkripsiyon sistemini aktive ederek ksenobiyotik metabolizmasını etkiler (Kelkel ve diğerleri, 2011). İlk olarak, likopen ana ARE aktive edici Nrf2 ve inhibitörü (Keap1) arasındaki sitozolitik etkileşimleri kırar. Keap1'den kurtulduktan sonra, Nrf2 kendini çekirdeğe iletir ve faz II enzimlerinin ekspresyonunu indükler. Sonuç olarak, mRNA ve protein seviyeleri artar (Kelkel ve diğerleri, 2011; Sahin ve diğerleri, 2019a). Son çalışmalar faz I metabolizmasının inhibisyonunun ve aflatoxin B1'in metabolik aktivasyonunun ötesinde, likopenin aflatoxin toksisiteye karşı koruyucu etkilerine faz II detoksifikasyon enzimlerinin indüksiyonunun katkıda bulunduğunu göstermektedir (Hedayati ve diğerleri, 2019; Karaca, Yılmaz, Kaya ve Altun, 2021).

Hücreler Arası İletişimin İndüksiyonu

Gap junction iletişimi (GJC), connexin 43 (Cx 43) gibi gap junction proteinlerinden oluşan kanallarla sağlanır (Jaswir ve diğerleri, 2011). GJC, komşu hücreler arasında sinyal moleküllerinin ve besin maddelerinin transferine izin verir (Kelkel ve diğerleri, 2011). GJC ayrıca epitelyal polarizasyonuna da dâhildir ve çeşitli epitel hücrelerinde daha kararlı biyolojik membranların oluşumunda önemli bir rol oynar (Lima ve diğerleri, 2016). Kanseri oluşumunun nedenlerinden biri GJC kaybıdır (Caseiro ve diğerleri, 2020; Faria-Silva ve diğerleri, 2020; Kelkel ve diğerleri, 2011). Böylece tümör hücrelerinin proliferasyonu engellenemez (Durairajanayagam ve diğerleri, 2014). Likopen, GJC'yi doza bağımlı şekilde indükleyebilir ve fibroblastların malign transformasyonunu engelleyebilir (Durairajanayagam ve diğerleri, 2014; Kelkel ve diğerleri, 2011). Likopen tüketimi ile GJC veya Cx 43 ekspresyonu arasında pozitif bir ilişki olduğu raporlanmıştır. Örneğin, sıçan karaciğer epitel hücreleri ile yapılan bir çalışma, likopen oksidasyon ürünü olan 2,7,11-trimethyltetradecahexaene-1,14-dial'ın GJC'yi güçlendirdiğini desteklemektedir (Aust ve diğerleri, 2003; Wang, 2012). İnsan keratinositlerinde yapılan diğer çalışmalarda, aynı molekülün oksidatif bir metaboliti olan likopen-5,6-epoksitin Cx 43 ekspresyonunu artırabileceği ileri sürülmüştür (Ascenso ve diğerleri, 2016; Mein, Lian ve Wang, 2008).

Retinoid Benzeri Etkiler

A vitamini epitel tümörlerinin gelişimi üzerinde profilaktik bir etki gösterir (Aydemir ve diğerleri, 2013; Dogra, Khanduja ve Gupta, 1985). Bazı hayvan çalışmaları, A vitamini eksikliğinin artan tümör oluşumu ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (Aydemir ve diğerleri, 2013). A vitamini dağılımı ve olası toksisitesi göz önüne alındığında, retinoidlerle takviye profilaktik ajanlar için bir alternatif gibi görünmektedir (Aydemir ve diğerleri, 2013; Dogra ve diğerleri, 1985). Retinoidler provitamin A karotenoidlerin oksidatif ürünleridir ve hedef bölgelerde gen ekspresyonunu modüle eder ve farklılaşma, çoğalma, apoptoz ve hücre döngüsü kontrolüne bağlı olarak kanser hücrelerinin büyümesini engeller (Aydemir ve diğerleri, 2013). Diğer karotenoidlerin aksine, likopenin beta-iyonik halkası yoktur ve bu nedenle A vitamini aktivitesi yoktur (Durairajanayagam ve diğerleri, 2014). Öte yandan, bu molekül β karoten ve β -kriptoksantin gibi A vitamini öncüsü karotenoidlerin biyosentezinde önemli bir basamaktır (Ordoñez-Santos ve Ledezma-Realpe, 2013). Aslında likopen, retinoik asit reseptörleri (RAR'ler), özellikle retinoid-X reseptörleri (RXR) aktivasyon yolları üzerinde kısmi bir A vitamini aktivitesine sahiptir ((Lucas ve diğerleri, 2018). Benzer şekilde, A vitamini eksik diyetle yapılan deneysel bir çalışmada, likopen takviyesinin birçok organda retinoik asit yanıtının aracılık ettiği sinyal yollarını etkilediği raporlanmıştır (Aydemir ve diğer-

leri, 2016). Böylece, likopenin A vitamini eksikliğini giderebileceği akla gelebilir (Aydemir ve diğerleri, 2016).

Hücre Döngüsü Üzerine Etkileri

Likopen; tümör hücrelerinde DNA parçalanmasına neden olmaz, ancak tedavi süresine ve kullanılan doza bağlı olarak apoptotik yolu önemli ölçüde indükler (Fernández-Bedmar et al., 2018). ROS tarafından aktive edilen Caspase yolu, transkripsiyon modülasyonu yoluyla apoptoza aracılık eder (Li, Jiang, Cao, Xie ve Huang, 2017). Bazı in vivo ve in vitro çalışmalar, oksidatif stresin hücre apoptozunun sinyal yollarını aktive ettiğini desteklemektedir (Li ve diğerleri, 2017). Ayrıca, sırasıyla anti-apoptotik ve pro-apoptotik proteinler, yani Bcl-2 ve Bax arasında bir dengesizlik meydana geldiğinde Bcl-2 protein ailesi, hücrenin apoptozunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Li ve diğerleri, 2017). Son zamanlarda, likopenin Caspase yolunu inhibe ederek ve Bax/Bcl-2 oranını azalttığını ve özellikle nöronal etki alanında apoptoz inhibisyonuna neden olduğunu göstermektedir (Li ve diğerleri, 2017).

Bunlara ilaveten, PI3K/Akt sinyal yolu da hücre çoğalması, farklılaşma, antiapoptotik düzenleme ve yaşlanmada önemli bir rol oynar (Huang ve diğerleri, 2019). Aslında, aktif Akt, Bcl-2 üzerinden apoptozisi inhibe eder (Huang ve diğerleri, 2019). Bir çalışmada, likopenin PI3K'nın fosforilasyonunu ve aktif Akt ekspresyonunu artırdığını ve likopenin PI3K/Akt yolunun aktivasyonu yoluyla serebrokortikal nöronları apoptozdan koruduğu gösterilmiştir (Erten, 2021; Huang ve diğerleri, 2019).

Genel olarak, likopenin birçok koruyucu mekanizması vardır. İlk olarak, oksidatif strese yatkınlığı azaltarak ve lipid peroksidasyonunu ve DNA hasarını önleyen bir serbest oksijen radikalleri üzerine temizleme aktivitesine sahiptir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Kelkel ve diğerleri, 2011; Sahin, Orhan, Sahin ve Kucuk, 2019b). İkincisi, hücreleri ROS ve elektrofilik moleküllerden koruyan faz II detoksifiye edici enzimlerin transkripsiyonunu indükler (Caseiro ve diğerleri, 2020; Kelkel ve diğerleri, 2011; Sahin ve diğerleri, 2019b). Üçüncü olarak, karsinogenez sırasında baskılanan GJC'yi güçlendirir (Kelkel ve diğerleri, 2011). Ayrıca, hücre döngüsünün ilerlemesini modüle eder ve kanser hücrelerinde apoptozu indükler. Ayrıca insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü (IGF-1R) ve Ras sinyal yollarını inhibe eder (Durairajanayagam ve diğerleri, 2014; Kelkel ve diğerleri, 2011). İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) meme ve endometriyal kanser hücre büyümesinin ana otkrin parakrin düzenleyicileri olduğundan, IGF-1R sinyal yollarındaki likopen baskılanması, diğer tümörlerin yanı sıra endometriyal kanserinde de önemli bir role sahip olabilir (dos Santos ve diğerleri, 2015; Levy ve diğerleri, 1995). İnsan sağlığı üzerine olan yararları esas olarak likopenin antioksidan aktivite-

sinden kaynaklanmaktadır (Zuorro, Lavecchia, Medici ve Piga, 2013). Östrojen pozitif meme kanseri hücrelerinde (MCF-7), likopenin koruyucu aktivitesinin arkasındaki ana rol IGF-1R yolunun inhibisyonudur (Kelkel ve diğerleri, 2011). Öte yandan, prostat ve kolon kanserlerinde likopen, 3-hidroksi-3-methylglutaryl-koenzim A (HMG-CoA) redüktaz ekspresyonunu inhibe ederek Ras sinyal yolağını etkiler (Kelkel ve diğerleri, 2011). Kanser hücrelerinin büyümesini engellemesine rağmen, insan fibroblastları, hücrelerin zamanla büyüme inhibisyonlarından kademeli olarak kaçması nedeniyle likopen etkisine karşı daha az duyarlı görünmektedir. Böylece likopen, bu normal hücreleri önemli ölçüde etkilemeden kansere karşı bir molekül görevi görebilir (dos Santos ve diğerleri, 2015; Levy ve diğerleri, 1995). Melanom büyümesini ve metastazını sağlayan platelet-derived growth factor BB (PDGF-BB), likopen ile inhibe edilebilir (Caseiro ve diğerleri, 2020). Fizyolojik seviyelerine benzer düşük konsantrasyonlarda likopen ve 1.25 dihidroksivitamin D3 hücrelerin çoğalma ve farklılaşmada sinerjik bir etkiye sahiptir (Amir ve diğerleri, 1999; Sahin ve diğerleri, 2018).

Karotenoidlerin kombinasyonlarının, fizikokimyasal özellikleri nedeniyle saf hallerinden daha etkili bir şekilde oksidatif hasarı inhibe edebileceğine dair kanıtlar vardır. Bu nedenle, likopenin diğer bileşiklerle sinerjik etkileşimi, bu molekülün vücutta en yararlı haline ulaşması için kritik öneme sahiptir.

KAYNAKÇA

- Amir, H., Karas, M., Giat, J., Danilenko, M., Levy, R., Yermiahu, T., ... Sharoni, Y. (1999). Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin D3 cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. *Nutrition and cancer*, 33(1), 105–12. doi:10.1080/01635589909514756
- Ascenso, A., Pedrosa, T., Pinho, S., Pinho, F., de Oliveira, J. M. P. F., Marques, H. C., ... Santos, C. (2016). The Effect of Lycopene Preexposure on UV-B-Irradiated Human Keratinocytes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. doi:10.1155/2016/8214631
- Aust, O., Ale-Agha, N., Zhang, L., Wollersen, H., Sies, H. ve Stahl, W. (2003). Lycopene oxidation product enhances gap junctional communication. *Food and Chemical Toxicology*, 41(10), 1399–1407. doi:10.1016/S0278-6915(03)00148-0
- Aydemir, G., Kasiri, Y., Bartók, E. M., Birta, E., Fröhlich, K., Böhm, V., ... Rühl, R. (2016). Lycopene supplementation restores vitamin A deficiency in mice and possesses thereby partial pro-vitamin A activity transmitted via RAR signaling. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(11), 2413–2420. doi:10.1002/MNFR.201600031
- Aydemir, G., Kasiri, Y., Birta, E., Béke, G., Garcia, A. L., Bartók, E. M. ve Rühl, R. (2013). Lycopene-derived bioactive retinoic acid receptors/retinoid-X receptors-activating metabolites may be relevant for lycopene's anti-cancer potential. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5), 739–747. doi:10.1002/MNFR.201200548
- Bowen, P., Chen, L., Stacewicz-Sapuntzakis, M., Duncan, C., Sharifi, R., Ghosh, L., ... van Breemen, R. (2002). Tomato sauce supplementation and prostate cancer: Lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. *Experimental Biology and Medicine*, 227(10), 886–893. doi:10.1177/153537020222701008
- Caseiro, M., Ascenso, A., Costa, A., Creagh-Flynn, J., Johnson, M. ve Simões, S. (2020). Lycopene in human health. *LWT*, 127(November 2019), 109323. doi:10.1016/j.lwt.2020.109323
- Chen, S. J., Huang, L. Y. ve Hu, C. H. (2015). Antioxidative Reaction of Carotenes against Peroxidation of Fatty Acids Initiated by Nitrogen Dioxide: A Theoretical Study. *Journal of Physical Chemistry B*, 119(30), 9640–9650. doi:10.1021/ACS.JPCB.5B04142
- Dogra, S. C., Khanduja, K. L. ve Gupta, M. P. (1985). The effect of vitamin a deficiency on the initiation and postinitiation phases of benzo(A)pyrene-induced lung tumorigenesis in rats. *British Journal of Cancer*, 52(6), 931–935. doi:10.1038/BJC.1985.279

- dos Santos, P. P., Paese, K., Guterres, S. S., Pohlmann, A. R., Costa, T. H., Jablonski, A., ... Rios, A. de O. (2015). Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2). doi:10.1007/S11051-015-2917-5
- Durairajanayagam, D., Agarwal, A., Ong, C. ve Prashast, P. (2014). Lycopene and male infertility. *Asian Journal of Andrology*, 16(3), 420–425. doi:10.4103/1008-682X.126384
- Erten, F. (2021). Lycopene ameliorates propionic acid-induced autism spectrum disorders by inhibiting inflammation and oxidative stress in rats. *Journal of food biochemistry*, 45(10), e13922. doi:10.1111/jfbc.13922
- Faria-Silva, C., Ascenso, A., Costa, A. M., Marto, J., Carvalheiro, M., Ribeiro, H. M. ve Simões, S. (2020). Feeding the skin: A new trend in food and cosmetics convergence. *Trends in Food Science and Technology*, 95, 21–32. doi:10.1016/J.TIFS.2019.11.015
- Fernández-Bedmar, Z., Anter, J. ve Alonso Moraga, Á. (2018). Anti/genotoxic, longevity inductive, cytotoxic, and clastogenic-related bioactivities of tomato and lycopene. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 59(5), 427–437. doi:10.1002/EM.22185
- Galano, A. ve Francisco-Marquez, M. (2009). Reactions of OOH radical with β -carotene, lycopene, and torulene: Hydrogen atom transfer and adduct formation mechanisms. *Journal of Physical Chemistry B*, 113(32), 11338–11345. doi:10.1021/JP904061Q
- Gao, Q., Zhong, C., Zhou, X., Chen, R., Xiong, T., Hong, M., ... Hao, L. (2019). The association between intake of dietary lycopene and other carotenoids and gestational diabetes mellitus risk during mid-trimester: A cross-sectional study. *British Journal of Nutrition*, 121(12), 1405–1412. doi:10.1017/S0007114519000606
- Hedayati, N., Naeini, M. B., Nezami, A., Hosseinzadeh, H., Wallace Hayes, A., Hosseini, S., ... Karimi, G. (2019). Protective effect of lycopene against chemical and natural toxins: A review. *BioFactors*, 45(1), 5–23. doi:10.1002/BIOF.1458
- Huang, C., Wen, C., Yang, M., Gan, D., Fan, C., Li, A., ... Lu, D. (2019). Lycopene protects against t-BHP-induced neuronal oxidative damage and apoptosis via activation of the PI3K/Akt pathway. *Molecular Biology Reports*, 46(3), 3387–3397. doi:10.1007/S11033-019-04801-Y
- Jaswir, I., Noviendri, D., Hasrini, R. F. ve Octavianti, F. (2011). Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(33), 7119–7131. doi:10.5897/JMPRX11.011

- Karaca, A., Yılmaz, S., Kaya, E. ve Altun, S. (2021). The effect of lycopene on hepatotoxicity of aflatoxin B1 in rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 127(5), 429–436. doi:10.1080/13813455.2019.1648516
- Kelkel, M., Schumacher, M., Dicato, M. ve Diederich, M. (2011). Antioxidant and anti-proliferative properties of lycopene. *Free Radical Research*, 45(8), 925–940. doi:10.3109/10715762.2011.564168
- Kong, K. W., Khoo, H. E., Prasad, K. N., Ismail, A., Tan, C. P. ve Rajab, N. F. (2010a). Revealing the power of the natural red pigment lycopene. *Molecules*, 15(2), 959–987. doi:10.3390/molecules15020959
- Kong, K. W., Khoo, H. E., Prasad, K. N., Ismail, A., Tan, C. P. ve Rajab, N. F. (2010b). Revealing the power of the natural red pigment lycopene. *Molecules*, 15(2), 959–987. doi:10.3390/MOLECULES15020959
- Levy, J., Bosin, E., Feldman, B., Giat, Y., Münster, A., Danilenko, M. ve Sharoni, Y. (1995). Lycopene Is A More Potent Inhibitor Of Human Cancer Cell Proliferation Than Either A-Carotene Or β -Carotene. *Nutrition and Cancer*, 24(3), 257–266. doi:10.1080/01635589509514415
- Lima, L. F., Bruno, J. B., Silva, A. M. S. da, Duarte, A. B. G., Figueiredo, J. R. de ve Rodrigues, A. P. R. (2016). Importância das comunicações intercelulares para o desenvolvimento de folículos ovarianos. *Reproducao e Climaterio*, 31(2), 93–104. doi:10.1016/J.RECLI.2015.12.005
- Li, W., Jiang, B., Cao, X., Xie, Y. ve Huang, T. (2017). Protective effect of lycopene on fluoride-induced ameloblasts apoptosis and dental fluorosis through oxidative stress-mediated Caspase pathways. *Chemico-Biological Interactions*, 261, 27–34. doi:10.1016/J.CBI.2016.11.021
- Lucas, R., Mihály, J., Lowe, G. M., Graham, D. L., Szklenar, M., Szegedi, A., ... Rühl, R. (2018). Reduced carotenoid and retinoid concentrations and altered lycopene isomer ratio in plasma of atopic dermatitis patients. *Nutrients*, 10(10). doi:10.3390/NU10101390
- Mein, J. R., Lian, F. ve Wang, X. D. (2008). Biological activity of lycopene metabolites: Implications for cancer prevention. *Nutrition Reviews*, 66(12), 667–683. doi:10.1111/J.1753-4887.2008.00120.X
- Ordoñez-Santos, L. E. ve Ledezma-Realpe, D. P. (2013). Lycopene Concentration and Physico-Chemical Properties of Tropical Fruits. *Food and Nutrition Sciences*, 04(07), 758–762. doi:10.4236/FNS.2013.47097
- Palozza, Paola. (1998). Prooxidant actions of carotenoids in biologic systems. *Nutrition Reviews*, 56(9), 257–265. doi:10.1111/J.1753-4887.1998.TB01762.X
- Palozza, P., Parrone, N., Catalano, A. ve Simone, R. (2010). Tomato Lycopene and Inflammatory Cascade: Basic Interactions and Clinical Implications. *Current Medicinal Chemistry*, 17(23), 2547–2563. doi:10.2174/092986710791556041

- Sahin, K., Orhan, C., Sahin, N. ve Kucuk, O. (2019a). Anticancer Properties of Lycopene. *Reference Series in Phytochemistry*, 935–969. doi:10.1007/978-3-319-78030-6_88
- Sahin, K., Orhan, C., Sahin, N. ve Kucuk, O. (2019b). Anticancer Properties of Lycopene. J.-M. Mérillon ve K. G. Ramawat (Ed.), *Bioactive Molecules in Food* içinde (ss. 935–969). Cham: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-78030-6_88
- Sahin, K., Yenice, E., Tuzcu, M., Orhan, C., Mizrak, C., Ozercan, I. H., ... Kucuk, and O. (2018). Lycopene Protects Against Spontaneous Ovarian Cancer Formation in Laying Hens. *Journal of Cancer Prevention*, 23(1), 25–36. doi:10.15430/JCP.2018.23.1.25
- Wang, X. D. (2012). Lycopene metabolism and its biological significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(5), 1214S-1222S. doi:10.3945/AJCN.111.032359
- Zuorro, A., Lavecchia, R., Medici, F. ve Piga, L. (2013). Enzyme-Assisted Production of Tomato Seed Oil Enriched with Lycopene from Tomato Pomace. *Food and Bioprocess Technology*, 6(12), 3499–3509. doi:10.1007/S11947-012-1003-6/TABLES/8



BÖLÜM 6

KARCI KESİRLİ TÜREVİNİN YENİ ÖZELLİKLERİ

Burhan SELÇUK¹

¹ Burhan Selçuk, Dr. Öğ. Üyesi, Department of Computer Engineering, Faculty of Engineering, Karabuk University, 78050, Karabük, Turkey, ORCID ID: 0000-0002-5141-5148

1. GİRİŞ

Matematik literatüründe, türev 300 yıldan fazladır çalışılan önemli bir kavramdır. Kesir dereceli türev konusu son zamanlarda popüler olmasına karşın çok uzun zamandır bilinen ve çokça çalışılan bir kavramdır [1-4]. Hafıza etkisi içeren dinamik sistemlerde kesir mertebeli türevin daha iyi bir modelleme imkanı sunduğu görülmüştür. Bu yüzden, birçok kesir mertebeli türev tanımı literatürde bulunmaktadır. Bu tanımları ikiye ayırmak pek yanlış olmaz. Birinci grup, singüler çekirdeğe sahip bir integral yardımıyla tanımlanan kesir mertebeden türevlerdir. İkinci grup ise, klasik türev üzerinden tanımlanan limit bazlı türevlerdir. Çok popüler olan birinci grup kesirli türev tanımlarına örnek olarak; Euler, Riemann-Liouville, Caputo, Caputo-Fabrizio, Atangana-Baleanu türevleri verilebilir. Limit bazlı kesirli türev tanımlarına örnek olarak; Conformable, Katugampola ve lokal-M kesir mertebeli türevleri verilebilir. Kesir mertebeli türevler birçok gerçek dünya probleminin matematiksel modellerinde kullanılmaktadır. Birçok matematikçi, bu belirtilen türevlerin farklı varyantlarını tanımlayarak, bu türevlerin dezavantajlarını ortadan kaldırılmaya çalışılmışlardır. Bilimin her alanında olduğu gibi, elektronikte kontrol teorisinde de kesir mertebeden türevlere rast gelinmektedir. Matematikçiler haricinde mühendislerde, kesirli mertebeden türev ile ilgilenmişlerdir. Bu mühendislerden biri de Ali Karcı'dır. 2013 yılında, Karcı tarafından limit bazlı yeni bir kesirli türevi tanımı yapılmış ve bu yeni türevin değişik özellikleri elde edilmiştir. Ayrıca, Karcı bilgisayar bilimlerindeki bazı güncel problemlerde bu yeni türevi kullanıp kayda değer sonuçlar elde etmiştir.

Bu çalışmada, ilk olarak kesirli mertebeden türevler hakkında genel bilgiler verilecektir. Daha sonra, Karcı türevi tanımlı genel özelliklerinden bahsedilecektir. Son olarak, Karcı türevi için yeni özellikler elde edilip, kapsamlı bir tartışma okuyucu ile paylaşılacaktır.

2. KESİR MERTEBEDEN TÜREVLER

Bu kısımda, kesir mertebeden türevler hakkında genel bilgiler verilecektir. Bu çalışmadaki ana motivasyonumuz limit bazlı yeni bir kesirli türev tanımı olduğundan, singüler çekirdeğe sahip integraller yardımıyla tanımlanan sadece iki türev tanımına yer verilmiştir [1-4];

Tanım 2.1. Gama fonksiyonu Γ ile gösterilsin ve $\alpha \in [n - 1, n)$ olsun.

(i) f fonksiyonunun α . mertebeden Riemann-Liouville kesirli türevi aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$D_t^\alpha f(t) = \frac{1}{\Gamma(n - \alpha)} \left(\frac{d}{dt}\right)^n \int_a^t \frac{f(v)}{(t - v)^{\alpha - n + 1}} dv.$$

(ii) f fonksiyonunun α . mertebeden Caputo kesirli türevi aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$D_t^\alpha f(t) = \frac{1}{\Gamma(n - \alpha)} \int_a^t \frac{f^{(n)}(v)}{(t - v)^{\alpha - n + 1}} dv.$$

Birinci tür kesirli türev tanımları gerçek dünya problemlerinde iyi bir modellemeye imkân vermektedirler. Lineerlik özelliklerini sağlamalarına rağmen, klasik türevin sağladığı aşağıdaki özellikleri sağlamamaktadır;

- i) Riemann-Liouville kesirli türevinde sabitin türevi 0 değildir. Fakat Caputo türevinde, sabitin türevi 0 dir.
- ii) Caputo türev tanımı, f fonksiyonunun türevlenebilir olduğunu kabul etmektedir.
- iii) İki türev tanımı içinde, iki fonksiyonun çarpımların türevleri için aşağıdaki eşitlik sağlanmaz;

$$D_t^\alpha (fg) = D_t^\alpha (f)g + fD_t^\alpha (g).$$

- iv) İki türev tanımı içinde, iki fonksiyonun bölümlerinin türevleri için aşağıdaki eşitlik sağlanmaz;

$$D_t^\alpha \left(\frac{f}{g}\right) = \frac{D_t^\alpha (f)g - fD_t^\alpha (g)}{g^2}.$$

- v) İki türev tanımı içinde, aşağıdaki zincir kuralı sağlanmaz;

$$D_t^\alpha (f(g)) = D_t^\alpha (f(g(t)))D_t^\alpha (g(t)).$$

- vi) İki türev tanımı içinde, $D_t^\alpha D_t^\gamma f = D_t^{\alpha + \gamma} f$ kuralı sağlanmaz.
- vii) İki türev tanımı içinde, Rolle teoremi sağlanmaz.
- viii) İki türev tanımı içinde, Ortalama değer teoremi sağlanmaz.

İlaveten, bu tip kesirli mertebeden türevler tekil (singüler) çekirdeğe sahip integraller yardımıyla tanımlandığından, bu tip türev içeren diferansiyel denklemlerin çözümleri integral denklemleri yardımıyla

ifade edilebilir. Bu ise, bu tip diferansiyel denklemlerin analitik çözümünü bulmayı zorlaştırmaktadır.

Bahsedilen dezavantajlardan motive olan araştırmacılar, yeni kesir mertebeden türev tanımları ortaya koymuşlardır. Bunların en popüler olanı; Khalil ve ark. tarafından 2014 yılında klasik türev tanımı üzerinden elde edilen limit bazlı conformable kesirli türev tanımıdır [5].

Tanım 2.2. (i) $f: [0, \infty) \rightarrow R$ ve $\alpha \in (0,1)$ olsun. Her $t > 0$ için, α . mertebeden conformable kesirli türevi aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$D_t^\alpha f(t) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{f(t + \varepsilon t^{1-\alpha}) - f(t)}{\varepsilon}.$$

Eğer, bazı $(0, a)$ aralığında α . mertebeden türevlenebilir ve $\lim_{t \rightarrow 0^+} f^\alpha(t)$ var ise, aşağıdaki eşitlik geçerlidir;

$$f^\alpha(0) = \lim_{t \rightarrow 0^+} f^\alpha(t).$$

(ii) $\alpha \in (n, n + 1]$ ve $t > 0$ için f , t ye göre n . türeve sahip olsun. α . mertebeden conformable kesirli türevi aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$T_t^\alpha f(t) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{f^{([\alpha]-1)}(t + \varepsilon t^{([\alpha]-\alpha)}) - f^{([\alpha]-1)}(t)}{\varepsilon}.$$

Burada, $[\alpha]$ değeri; α tamsayı ise kendisi, α tamsayı değilse α dan büyük en küçük tam sayıdır.

Khalil ve ark. Tanım 2 (ii) den, $\alpha \in (n, n + 1]$ ve $t > 0$ için f , t ye göre $(n + 1)$. türeve sahip aşağıdaki yorumu elde ettiler;

$$T_t^\alpha f(t) = t^{([\alpha]-\alpha)} f^{[\alpha]}(t). \quad (1)$$

(1) de, $\alpha \in (0,1]$ alınırsa aşağıdaki eşitlik elde edilir;

$$T_t^\alpha f(t) = t^{(1-\alpha)} f'(t). \quad (2)$$

Conformable kesir basamaktan türevi, klasik türev gibi lineerlik özelliğini ve birinci tür kesirli türev tanımlarının sağlamadığı temel özellikleri sağlamaktadır. Khalil ve arkadaşları bu çalışma ile 2000 üzerinde atıf almalarına rağmen halen bu türev tanımının gerçek bir kesirli türev olup-olmadığı farklı yönlerden tartışılmaktadır. Bunlardan birincisi, (1) ve (2) nolu eşitliklerde de görüldüğü gibi kesir mertebeden türevin varlığının tamsayı mertebeden türevin varlığına bağlı olmasıdır. Bazı araştırmacılar, conformable türevin klasik türevin sağladığı bütün

özellikleri sağlamasının sebebi olarak bunu öne çıkarmaktadırlar [6]. İkincisi, conformable kesir basamaktan türevin gerçek dünya problemlerinde iyi bir modelleme performansı ortaya koyamamasıdır [7]. Ancak bazı araştırmacılar birinci tip kesir mertebeden türevlerin dezavantajlarını da gözönüne alarak conformable kesir mertebeden türev üzerinde araştırma yapılmasına devam edilmesi gerektiğini belirtmektedirler [8].

Bir başka popüler limit bazlı kesir mertebeden türev tanımı, 2015 yılında Katugampola [9] tarafından conformable kesirli türevin genelleştirilmiş hali olarak aşağıdaki gibi verilmiştir.

Tanım 2.3. $f: [0, \infty) \rightarrow R$ ve $\alpha \in (0,1)$ olsun. Her $t > 0$ için, α . mertebeden Katugampola kesirli türevi aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$D_t^\alpha f(t) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{f(te^{\varepsilon t^{-\alpha}}) - f(t)}{\varepsilon}.$$

Eğer, bazı $(0, a)$ aralığında α . mertebeden türevlenebilir ve $\lim_{t \rightarrow 0^+} D_t^\alpha f(t)$ var ise, aşağıdaki eşitlik geçerlidir;

$$D_t^\alpha f(0) = \lim_{t \rightarrow 0^+} D_t^\alpha f(t).$$

Sousa ve Oliveira tarafından 2018 yılında Katugampola kesirli türevinde üstel fonksiyon yerine bunu kapsayan daha genel bir parametrelili Mittag-Leffler fonksiyonu kullanılarak aşağıdaki tanım verilmiştir [10].

Tanım 2.4. $f: [0, \infty) \rightarrow R$ ve $\alpha \in (0,1)$ olsun. Her $t > 0$ için, f fonksiyonunun α . mertebeden local M -kesirli türevi aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$D_t^{\alpha, \beta} f(t) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{f(t \mathbb{E}_\beta(\varepsilon t^{-\alpha})) - f(t)}{\varepsilon}.$$

Burada, $\mathbb{E}_\beta(\cdot)$, β parametresine bağlı Mittag-Leffler fonksiyonudur.

Eğer, bazı $(0, a)$ aralığında α . mertebeden türevlenebilir ve $\lim_{t \rightarrow 0^+} D_t^{\alpha, \beta} f(t)$ var ise, aşağıdaki eşitlik geçerlidir;

$$D_t^{\alpha, \beta} f(0) = \lim_{t \rightarrow 0^+} D_t^{\alpha, \beta} f(t).$$

Kajouni ve ark. tarafından, 2021 yılında conformable kesir mertebeden türev ile Katugampola kesir mertebeden türevinin birleşiminden elde edilen yeni conformable türev diye isimlendirilen aşağıdaki yeni tanım verilmiştir [11].

Tanım 2.5. $f: [0, \infty) \rightarrow R$ ve $\alpha \in (0,1)$ olsun. Her $t > 0$ için, α . mertebeden yeni conformable kesirli türevi aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$D_t^\alpha f(t) = \lim_{h \rightarrow 0} \frac{f(t + he^{(\alpha-1)t}) - f(t)}{h}.$$

Eğer, bazı $(0, a)$ aralığında α . mertebeden türevlenebilir ve $\lim_{t \rightarrow 0^+} D_t^\alpha f(t)$ var ise, aşağıdaki eşitlik geçerlidir;

$$D_t^\alpha f(0) = \lim_{t \rightarrow 0^+} D_t^\alpha f(t).$$

Conformable kesir basamaktan türevi için verilen eleştiriler diğer limit bazlı türevler içinde verilebilir. Conformable kesir basamaktan türevi gibi diğer türev tanımları da klasik türevin sağladığı temel özellikleri sağlamaktadırlar.

3. KARCİ KESİR MERTEBEDEN TÜREVİ

Bu kısımda, Karcı kesir mertebeden türevi tanıtılacaktır [12-20]. Karcı'nın ana motivasyonlarından bir tanesi birinci tür kesirli mertebeden türevlerin klasik türevin sağladığı temel özellikleri sağlamamasıdır. Diğer bir ana motivasyonu ise, birinci tür kesirli mertebeden türevlerin bir türev alma işleminden ziyade bir eğri uydurma işlemi olduğu yönündeki görüşüdür. Bu görüşünü desteklemek için, temel fonksiyonların kesirli türevlerinin grafiklerini gerçek türevlerin grafikleri ile karşılaştırma yoluna gitmiştir. Karcı türev tanımının klasik türevden farkı, türev tanımında ordinatlar farkı bölü apsisler farkı yerine ordinatların kuvvetlerinin farkı bölü apsislerin kuvvetlerinin farkını almasıdır.

Tanım 3.1. $f(x): R \rightarrow R$ bir fonksiyon ve $\alpha \in R$ olsun. α . mertebeden Karcı türevi aşağıdaki gibi tanımlanmaktadır;

$$D_x^\alpha f(x) = \lim_{h \rightarrow 0} \frac{f^\alpha(x+h) - f^\alpha(x)}{(x+h)^\alpha - x^\alpha}.$$

Bu tanımda, h değeri 0 a çok yakın olduğunda 0/0 belirsizliği ortaya çıkar. Bu belirsizliği ortadan kaldırmak için L'Hopital yöntemi uygulanırsa aşağıdaki ikinci bir tanım elde edilir;

Tanım 3.2. $f(x): R \rightarrow R$ bir fonksiyon ve $\alpha \in R$ olsun. α . mertebeden Karcı türevi aşağıdaki gibi tanımlanmaktadır;

$$D_x^\alpha f(x) = \lim_{h \rightarrow 0} L \left(\frac{f^\alpha(x+h) - f^\alpha(x)}{(x+h)^\alpha - x^\alpha} \right) = \lim_{h \rightarrow 0} \frac{\frac{d(f^\alpha(x+h) - f^\alpha(x))}{dh}}{\frac{d((x+h)^\alpha - x^\alpha)}{dh}}$$

$$= \left(\frac{f(x)}{x} \right)^{\alpha-1} f'(x).$$

Örnek 3.1. Tanım 3.1 ve Tanım 3.2 kullanılarak, bazı temel fonksiyonlar için Karcı türevleri aşağıdaki gibi elde edilir;

- i) $f(x) = c \rightarrow D_x^\alpha f(x) = \lim_{h \rightarrow 0} \frac{c-c}{(x+h)^\alpha - x^\alpha} = 0,$
- ii) $f(x) = x \rightarrow D_x^\alpha f(x) = \lim_{h \rightarrow 0} \frac{(x+h)^\alpha - x^\alpha}{(x+h)^\alpha - x^\alpha} = 1,$
- iii) $f(x) = x^n \rightarrow D_x^\alpha f(x) = \left(\frac{x^n}{x} \right)^{\alpha-1} n x^{n-1} = n x^{\alpha(n-1)},$
- iv) $f(x) = \sin x \rightarrow D_x^\alpha f(x) = \left(\frac{\sin x}{x} \right)^{\alpha-1} \cos x,$
- v) $f(x) = e^x \rightarrow D_x^\alpha f(x) = \left(\frac{e^x}{x} \right)^{\alpha-1} e^x.$

Tanım 3.1 ve tanım 3.2 den şu yorumu yapabilir ki; conformable türevi ile klasik türev arasındaki ilişkinin bir benzeri Karcı türevi ile klasik türev arasında da geçerlidir. α . mertebeden Karcı kesirli türevinin varlığı f fonksiyonunun 1. türevinin varlığına bağlıdır. Bu yüzden, Karcı tarafından elde edilen aşağıdaki teoremler için ön kabul, f ve g fonksiyonlarının 1. türevinin varlığıdır. Bu teoremler ispatsız olarak verilecektir.

Teorem 3.1. $y = f(v), v = g(x)$ ve $\alpha \in R$ olsun. Karcı kesirli türevi için zincir kuralı aşağıdaki gibi verilmektedir;

$$D_x^\alpha y = D_v^\alpha y D_x^\alpha v = \frac{\partial^\alpha y}{\partial v^\alpha} \frac{\partial^\alpha v}{\partial x^\alpha} = \left(\frac{f(v)}{v} \right)^{\alpha-1} f'(v) \left(\frac{v(x)}{x} \right)^{\alpha-1} v'(x),$$

Teorem 3.2. $R \rightarrow R$ tanımlı sürekli iki fonksiyon $f(x)$ ve $g(x)$ olsunlar. Ayrıca, $H(x) = f(x)g(x)$ ve $\alpha \in R$ olduğunu kabul edelim. $H(x)$ fonksiyonunun α . mertebeden Karcı türevi aşağıdaki gibi elde edilmektedir;

$$D_x^\alpha H(x) = \left(\frac{f(x)g(x)}{x} \right)^{\alpha-1} (f'(x)g(x) + f(x)g'(x)).$$

Teorem 3.3. $R \rightarrow R$ tanımlı sürekli iki fonksiyon $f(x)$ ve $g(x)$ olsunlar. Ayrıca, $H(x) = f(x)/g(x)$ ve $\alpha \in R$ olduğunu kabul edelim. $H(x)$ fonksiyonunun α . mertebeden Karcı türevi aşağıdaki gibi elde edilmektedir;

$$D_x^\alpha H(x) = \left(\frac{f(x)}{xg(x)} \right)^{\alpha-1} \frac{f'(x)g(x) - f(x)g'(x)}{g^2(x)}.$$

Teorem 3.4. $f(x): R \rightarrow R$ ve $\alpha, \beta \in R$ olsunlar. Aşağıdaki belirtilenler geçerlidir;

- (i) $\alpha \neq \beta$ ise $D_x^\alpha f \neq D_x^\beta f$ dir,
- (ii) $\alpha = \beta$ ise $D_x^\alpha f = D_x^\beta f$ dir,
- (iii) $\alpha \neq \beta$ ise $D^\beta(D_x^\alpha f) \neq D^\alpha(D_x^\beta f)$ dir,

Teorem 3.5. $f(x)$ sürekli bir fonksiyon olsun. Ayrıca, $\alpha \in R$ ve $f(x)$ fonksiyonunun α . mertebeden Karcı kesirli türevi $D_x^\alpha f$ olsun. O halde, $D_x^\alpha f$ in kesir mertebeden integrali aşağıdaki eşitlik ile elde edilir;

$$f(x) = \int D_x^\alpha f dx^\alpha = \sqrt[\alpha-1]{\frac{f^\alpha(x)x^{\alpha-1}}{f'(x)}}.$$

Teorem 3.6. $f(x)$ ve $g(x)$ monoton artan fonksiyonlar ve $(\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n) \in R$ olsunlar. Bu durumda;

- (i) $\alpha_1 \leq \alpha_2 \leq \dots \leq \alpha_n$ olduğu kabul edilirse, $D_x^{\alpha_1}(fg) \leq D_x^{\alpha_2}(fg) \leq \dots \leq D_x^{\alpha_n}(fg)$ eşitsizlikler geçerlidir,
- (ii) $\alpha_1 \geq \alpha_2 \geq \dots \geq \alpha_n$ olduğu kabul edilirse, $D_x^{\alpha_1}(fg) \geq D_x^{\alpha_2}(fg) \geq \dots \geq D_x^{\alpha_n}(fg)$ eşitsizlikler geçerlidir.

Teorem 3.7. $f(x): R \rightarrow R$, $\alpha \in R$, $\alpha > 1$ ve x_0, x_1 apsileri $f(x)$ fonksiyonunun optimum noktalar olduğunu kabul edelim. O halde, bu yeni türev için iki durum söz konusudur;

- (i) Eğer $f(x_0)$ maksimum ve $f(x_1)$ minimum ve $x_a \in (x_0, x_1)$ dönüm noktası ise, her $x_b \in (x_0, x_1)$ için $D_x^\alpha f(x_a) \leq D_x^\alpha f(x_b)$ eşitsizliği geçerlidir.
- (ii) Eğer $f(x_0)$ minimum ve $f(x_1)$ maksimum ve $x_a \in (x_0, x_1)$ dönüm noktası ise, her $x_b \in (x_0, x_1)$ için $D_x^\alpha f(x_a) \geq D_x^\alpha f(x_b)$ eşitsizliği geçerlidir.

Türev işleminin sonucu vektörel bir büyüklüktür. Karmaşık sayılarda birer vektörel büyüklük olduklarından, bu iki kavram arasında bir korelasyonun var olması gerektiği Karcı'nın iddialarından biri dir. Aşağıdaki teorem, Karcı türevi için bu görüşü desteklemektedir [13].

Teorem 3.8. $f(x)$ reel bir fonksiyon ise, $D_x^\alpha f(x)$ Karcı türevi kompleks bir fonksiyondur.

4. KARCI TÜREVİ İÇİN YENİ ÖZELLİKLER

Bu kısımda, Karcı kesir mertebeden türevi için, klasik türevdeki benzer ispat teknikleri uygulanarak aşağıdaki önemli teoremler ispatlanmıştır.

Teorem 4.1. $f: [0, \infty) \rightarrow R$ ve $\alpha \in R$ olsun. f fonksiyonunun bir $x = x_0$ noktasında α .mertebeden Karcı türevlenebilirse, bu durumda f fonksiyonu $x = x_0$ noktasında süreklidir.

İspat. İlk olarak, aşağıdaki yardımcı fonksiyonu tanımlayalım;

$$B(x) = \frac{f^\alpha(x+h) - f^\alpha(x)}{(x+h)^\alpha - x^\alpha}$$

f fonksiyonu bir $x = x_0$ noktasında α .mertebeden Karcı türevlenebilirse, $B(x)$ fonksiyonunun $x = x_0$ noktasında limiti vardır. Ayrıca,

$$f^\alpha(x+h) - f^\alpha(x) = B(x)((x+h)^\alpha - x^\alpha).$$

yazılabilir. Yukarıdaki eşitlikte, $h = x - x_0 \rightarrow 0$ için limit uygulanırsa

$$\begin{aligned} \lim_{h \rightarrow 0} (f^\alpha(x+h) - f^\alpha(x)) &= \lim_{h \rightarrow 0} B(x) \lim_{h \rightarrow 0} ((x+h)^\alpha - x^\alpha), \\ \lim_{h \rightarrow 0} (f^\alpha(x+h) - f^\alpha(x)) &= 0, \end{aligned}$$

elde edilir. Bu eşitlikte, $x = x_0$ alınır;

$$\lim_{h \rightarrow 0} f^\alpha(x_0 + h) = f^\alpha(x_0) \rightarrow \lim_{h \rightarrow 0} f(x_0 + h) = f(x_0).$$

Böylece, f fonksiyonu $x = x_0$ noktasında süreklidir.

Teorem 4.2 (Rolle Teoremi): $a > 0$ ve $f: [a, b] \rightarrow R$ olsun. Ayrıca, aşağıda verilenlerin doğruluğunu kabul edelim;

- (i) f fonksiyonu $[a, b]$ aralığında sürekli olsun,
- (ii) bazı $\alpha \in R$ için f fonksiyonu α . mertebeden Karcı türevine sahip olsun,
- (iii) $f(a) = f(b)$.

Bu durumda, $c \in (a, b)$ için $D_x^\alpha f(c) = 0$ dir.

İspat. f fonksiyonu $[a, b]$ aralığında sürekli ve $f(a) = f(b)$ olduğundan bir $c \in (a, b)$ yerel ekstremum noktasına sahiptir. Böylece,

$$D_x^\alpha f(c) = \lim_{h \rightarrow 0^+} \frac{f^\alpha(c+h) - f^\alpha(c)}{(c+h)^\alpha - c^\alpha} = \lim_{h \rightarrow 0^-} \frac{f^\alpha(c+h) - c^\alpha(x)}{(c+h)^\alpha - c^\alpha}.$$

elde edilir. Ayrıca,

$$\lim_{h \rightarrow 0^+} \frac{f^\alpha(c+h) - f^\alpha(c)}{(c+h)^\alpha - c^\alpha} \geq 0 \text{ ve } \lim_{h \rightarrow 0^-} \frac{f^\alpha(c+h) - f^\alpha(c)}{(c+h)^\alpha - c^\alpha} \leq 0.$$

dir. Böylece, $D_x^\alpha f(c) = 0$ elde edilmiş olur.

Teorem 4.3 (Ortalama Değer Teoremi): $a > 0$ ve $f: [a, b] \rightarrow R$ olsun. Ayrıca, aşağıda verilenlerin doğruluğunu kabul edelim;

- (i) f fonksiyonu $[a, b]$ aralığında sürekli olsun,
- (ii) bazı $\alpha \in R$ için f fonksiyonu α . mertebeden Karıcı türevine sahip olsun.

Bu durumda, $c \in (a, b)$ için $D_x^\alpha f(c) = \frac{f(b)-f(a)}{b-a}$ dir.

İspat. İlk olarak, aşağıdaki yardımcı fonksiyonu tanımlayalım;

$$T(x) = f(x) - f(a) - \frac{f(b) - f(a)}{b - a}(x - a).$$

$T(a) = 0$ ve $T(b) = 0$ olduğundan, Rolle teoreminden $D_x^\alpha T(c) = 0$ dir. x in, α . mertebeden Karıcı türevi 1 olduğundan aşağıdaki eşitlik elde edilir;

$$D_x^\alpha f(c) = \frac{f(b) - f(a)}{b - a}.$$

Teorem 4.4 (Genişletilmiş Ortalama Değer Teoremi): $a > 0$ ve $f, g: [a, b] \rightarrow R$ olsun. Ayrıca, aşağıda verilenlerin doğruluğunu kabul edelim;

- (i) f ve g fonksiyonları $[a, b]$ aralığında sürekli olsun,
- (ii) bazı $\alpha \in R$ için f ve g fonksiyonları α . mertebeden Karıcı türevine sahip olsun.

Bu durumda, $c \in (a, b)$ için $\frac{D_x^\alpha f(c)}{D_x^\alpha g(c)} = \frac{f(b)-f(a)}{g(b)-g(a)}$ dir.

İspat. İlk olarak, aşağıdaki yardımcı fonksiyonu tanımlayalım;

$$T(x) = f(x) - f(a) - \frac{f(b) - f(a)}{g(b) - g(a)}(g(x) - g(a)).$$

$T(a) = 0$ ve $T(b) = 0$ olduğundan, Rolle teoreminden $D_x^\alpha T(c) = 0$ dir. Buradan aşağıdaki eşitlik elde edilir;

$$\frac{D_x^\alpha f(c)}{D_x^\alpha g(c)} = \frac{f(b) - f(a)}{g(b) - g(a)}$$

Teorem 4.5. *Karcı türevinde lineerlik özelliği geçerli değildir.*

İspat. $a, b, \alpha \in R$ olsun. f ve g fonksiyonları α .mertebeden Karcı türevine sahip olsunlar. Karcı türevinin lineer olması için aşağıdaki eşitliğin geçerli olması gerekmektedir;

$$D_x^\alpha (af(x) + bg(x)) = aD_x^\alpha f(x) + bD_x^\alpha g(x).$$

Tanım 3.2. kullanarak kolayca görülebilmektedir ki bu eşitlik sadece $\alpha = 1$ için geçerli olup, diğer α değerleri için geçerli değildir. Karcı türevinde $\alpha = 1$ olması zaten klasik türev anlamına gelmektedir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, Karcı kesir mertebeden türevi tanıtılıp, yeni özellikleri elde edilmiştir. Elde edilen yeni özellikler;

- (i) Süreklilik,
- (ii) Rolle Teoremi,
- (iii) Ortalama değer teoremi,
- (iv) Genişletilmiş Ortalama değer teoremidir

Karcı türevi, diğer limit bazlı türev tanımları gibi klasik türevin sağladığı birçok özelliği sağlamaktadır. Fakat, Karcı türevinin en büyük iki dezavantajı ise;

- (i) kesir mertebeden türevin varlığının klasik birinci mertebeden türevin varlığına bağlı olması,
- (ii) lineerlik özelliğinin bulunmamasıdır.

Karcı'nın çalışmaları incelendiğinde, verdiği türev tanımının iyi sonuçlar doğurduğunu göstermek için temel fonksiyonlar kullanmıştır. Grafiklerle süslediği bu iyi sonuçlar tek başına yeterli değildir. Karcı türevinin, gerçek dünya problemlerinde iyi bir modelleme imkanı verip-vermediğinin görülmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] K. S. Miller, *An Introduction to Fractional Calculus and Fractional Differential Equations*, J. Wiley and Sons, New York, NY, USA, 1993.
- [2] A. Kilbas, H. Srivastava, and J. Trujillo, "Theory and applications of fractional differential equations," in *Math. Studies*, North-Holland, New York, NY, USA, 2006.
- [3] K. Oldham and J. Spanier, *The Fractional Calculus, Theory and Applications of Differentiation and Integration of Arbitrary Order*, Academic Press, Cambridge, MA, USA, 1974.
- [4] I. Podlubny, *Fractional Differential Equations*, Academic Press, Cambridge, MA, USA, 1999.
- [5] R. Khalil, M. Al Horani, A. Yousef, and M. Sababheh, "A new definition of fractional derivative," *Journal of Computational and Applied Mathematics*, vol. 264, pp. 65–70, 2014.
- [6] A. A. Abdelhakim, "The flaw in the conformable calculus: it is conformable because it is not fractional," *Fract. Calc. Appl. Anal.*, Vol. 22, No 2 (2019), pp. 242–254.
- [7] A.A. Abdelhakim, J.A.T. Machado, "A critical analysis of the conformable derivative," *Nonlinear Dyn* (2019) 95: 3063–3073.
- [8] G. Kaya, Ş. Kartal, "Conformable Kesirsel Mertebeden Tam Değer Fonksiyonlu Lojistik Modelin Kararlılık ve Çatallanma Analizi," *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 9 (3), 1080-1090, 2020.
- [9] U. N. Katugampola, "A new fractional derivative with classical properties," e-print arXiv:1410.6535.
- [10] J. V. C. Sousa , E. C. Oliveira, "On the Local M-Derivative," *Progr. Fract. Differ. Appl.* 4, No. 4, 479-492 (2018).
- [11] A. Kajouni, A. Chafiki, K. Hilal and M. Oukessou, "A New Conformable Fractional Derivative and Applications", *International Journal of Differential Equations*, vol. 2021, Article ID 6245435, 5 pages, 2021.
<https://doi.org/10.1155/2021/6245435>.
- [12] A. Karci, "Kesirli Türev için Yapılan Tanımlamaların Eksiklikleri ve Yeni Yaklaşım," *TOK-2013 Turkish Automatic Control National Meeting and Exhibition*, Malatya, Turkey, 2013.
- [13] A. Karci, "A New Approach for Fractional Order Derivative and Its Applications," *Universal Journal of Engineering Sciences*, 1:110-117, 2013.

- [14] A. Karci, Properties of Fractional Order Derivatives for Groups of Relations/Functions, Universal Journal of Engineering Sciences, vol: 3, pp: 39-45, 2015.
- [15] A. Karci, The Linear, Nonlinear and Partial Differential Equations are not Fractional Order Differential Equations, Universal Journal of Engineering Sciences, vol: 3, pp: 46-51, 2015.
- [16] A. Karci, Generalized Fractional Order Derivatives for Products and Quotients, Science Innovation, vol:3, pp:58-62, 2015.
- [17] A. Karci, Chain Rule for Fractional Order Derivatives, Science Innovation, vol:3, 63-67, 2015.
- [18] A. Karci, The Properties of New Approach of Fractional Order Derivative, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, Vol.30, pp: 487-501, 2015.
- [19] A. Karci, Fractional order entropy New perspectives, Optik - International Journal for Light and Electron Optics, Vol:127, no:20, pp:9172-9177, 2016.
- [20] A. Karci, Malatya Functions: Symmetric Functions Obtained by Applying Fractional Order Derivative to Karci Entropy, Anatolian Science-Journal of Computer Sciences, Vol:2, Issue: 2, pp:1-8, 2017.



BÖLÜM 5

BİYO FARMASÖTİK PROTEİNLERİN ÜRETİMİNDE KULLANILAN MAYALAR

Yağmur ÜNVER¹

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye, e-mail:yunver@atauni.edu.tr, ORCID 0000-0003-1497-081X

Giriş

Metabolik reaksiyonların katalizörleri ve biyolojik yapı bileşenleri olan proteinler, yaşam için önemli olan hücreler arası ve hücre içi etkileşimlerden ve sinyal iletim olaylarından sorumludur. İlaç, gıda, deterjan, biyoyakıt, tekstil, kağıt vb. bir dizi endüstriyel uygulamada kullanılan proteinler (Bill, 2014; Demain ve Vaishnav, 2009), araştırma, tedavi veya hastalık önleme gibi biyolojik rollerde olduğu gibi her organizmanın yaşamında çeşitli işlevleri olan biyomoleküllerdir. İnsanlarda, spesifik polipeptitlerin üretimindeki eksiklik veya biyolojik olarak ilgili proteinin mutant, veya fonksiyonel olmayan versiyonlarının üretimi nedeniyle ortaya çıkan bazı hastalıklar, sistemik veya dokusal seviyelerde gerekli konsantrasyonlara ulaşmak için dış kaynaklardan elde edilen eksik proteinin klinik uygulamasıyla tedavi edilebilir (Manning vd., 1989). Bu nedenle birçok insan proteini önemli bir farmasötik değere sahiptir, ancak doğal kaynaklarından elde edilmeleri zordur. Ayrıca doğadaki protein miktarı, özellikle yüksek saflıkta ve yeterli miktarlarda, kısa sürede ve düşük maliyetli üretim gerektiren belirli proteinlerin elde edilmesi için gerekli araştırmaların geliştirilmesinde çeşitli işlevlerin ihtiyaçlarını karşılayamaz durumdadır (Lestari ve Novientri, 2021). Dolayısıyla, proteinlerin doğal kaynaklardan elde edilmesinin zorlukları ve dezavantajlarından dolayı daha güvenilir ve uygun maliyetli bir alternatif olarak rekombinant protein üretimi geliştirilmiştir. Şimdiye kadar, hem prokaryotik hem de ökaryotik sistemlerde (bakteri, maya, memeli, böcek, transgenik hayvan ve bitki gibi) heterolog genler için çeşitli rekombinant protein ekspresyon sistemleri ve hücre dışı ekspresyon sistemleri gibi çeşitli ekspresyon platformları geliştirilmiştir (Lai vd., 2019). Bu tür biyolojik ekspresyon sistemleri kullanılarak gerçekleştirilen yüksek seviyede heterolog protein üretimi, hem akademik çalışmalar, hem de ticari amaçlar için yaygın olarak kullanılmaktadır. Milyarlarca dolarlık bir pazarı temsil eden rekombinant protein üretimi, temelde biyofarmasötikler ve endüstriyel enzimler (örneğin, gıda, yem, deterjan, kâğıt, biyoyakıtlar ve ince kimyasal sanayi için) olmak üzere ayrılmış olup, yakın zamanda yapılan bir araştırma, protein ekspresyon piyasasının 2020'de 2,2 milyar ABD doları değerinde olduğunu ve 2025 yılına kadar 4,1 milyar ABD dolarına ulaşmasının beklendiğini ortaya koymuştur (<https://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/protein-expression.asp>, erişim tarihi: 27 Ocak 2022). Rekombinant proteinlere yönelik artan talep, endüstriyel enzimlerden biyofarmasötik protein komplekslerine kadar çok çeşitli uygulamalar sunan bu pazarlarda önemli bir büyümeye yol açmaktadır (García-Ortega vd., 2019; Walsh, 2014).

Biyomoleküller, kaynağından başka bir organizmada üretilmek istendiğinde ürünün üretiminden sorumlu hedef genin klonlanması, rekombinant DNA teknolojisi ile gerçekleştirilir (Nielsen ve Villadsen, 1994).

Rekombinant DNA, biyolojik organizmalarda doğal olarak bulunmayan DNA molekülüdür. Bu molekül, farklı kaynaklardan elde edilen genetik materyallerin genetik mühendisliği metotları kullanılarak bir araya getirilmesiyle elde edilir. Elde edilen rekombinant DNA molekülünün bir konakçı hücrede ekspresyonu sonucu üretilen protein, rekombinant (heterolog) protein olarak ifade edilir (Karaoğlan, 2012). 1970'lerde rekombinant DNA teknolojilerinin geliştirilmesiyle birlikte genetik mühendisliğinin tanıtılması, endüstriyel enzimlerin ve biyofarmasötik proteinlerin ticari üretimine olanak tanıyarak mevcut biyoteknoloji endüstrisinin kurulmasına ve gelişmesine yol açmıştır. 80'lerin başında ise Gıda ve İlaç İdaresinin (Food and Drug Administrations; FDA) diyabet tedavisinde klinik kullanımı için onay verdiği, *Escherichia coli*'de üretilen rekombinant insan insülini (Humulin-US/Humuline-EU), piyasaya giren ilk rekombinant farmasötik protein olmuştur (Ferrer-Miralles vd., 2009; "Human insulin receives FDA approval", 1982)

Rekombinant terapötik proteinlerin üretimi, moleküler tıbbın hızla büyüyen alanlarından biridir ve şimdilerde çeşitli hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Yıllık %7 ila %15 arasında büyüme oranları ile tahmini piyasa değerinin 70 ila 80 milyar dolar olarak beklendiği bilinmektedir (Goodman, 2009; Walsh, 2014). "Biyofarmasötik" terimi, rekombinant terapötik proteinleri, nükleik asit bazlı ürünleri ve daha geniş anlamda mühendislik ürünü hücre veya doku bazlı ürünleri ifade etmektedir (Walsh, 2010b). Düzenleyici otoriteler tarafından terapötik uygulamalar için onaylanan ve toplam ilaç pazarının yaklaşık altıda birini oluşturan biyofarmasötiklerin büyük çoğunluğu, çeşitli ekspresyon sistemlerinde rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiş proteinlerdir (Walsh, 2010a). Genel olarak organizmanın normal işleyişi için önemli olan vücut proteinlerinin hasarını veya eksikliğini telafi etmek için kullanılan biyofarmasötikler, hormonlar, enzimler, büyüme faktörleri, kan faktörleri, trombolitikler ve antikoagülanlar, aşılar ve monoklonal antikorlar, interferonlar ve interlökinler olmak üzere sınıflandırılabilirler (Walsh, 2010a).

Biyofarmasötiklerin üretiminde ekspresyon sisteminin seçimi, söz konusu rekombinant proteine bağlıdır. Yüksek kalitede rekombinant terapötik proteinlerin üretimi, insanlarda kullanımları için oldukça önemlidir. Örneğin, protein glikozilasyonu önemli bir özelliktir ve bir rekombinant biyofarmasötüğün etkinliği, serum yarı ömrü ve antijenikliğinde çok önemli bir rol oynar (Tripathi ve Shrivastava, 2019). Bu yüzden, üretimde proteini istenen kalite ve miktarda üretebilen ekspresyon sisteminin kullanımı tercih edilir. En basit ve en ucuz ekspresyon sistemi olarak bilinen *E. coli* bakterilerinin proteini doğru katlama ile ilgili problemleri ve post-translasyonel modifikasyon eksikliği nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Memeli, maya ve böcek sistemleri gibi ekspresyon konak sistemleri, yan

etkilerden kaçınmak için rekombinant bir üründe insan benzeri bir glikan modeli üretmek üzere genetik olarak tasarlanabilir. Rekombinant proteinlerin glikan modelinin modifikasyonu için kullanılan son yaklaşımlar, uygun bir ekspresyon konağının seçilmesini, gliko-mühendislik ve protein glikozilasyonunu kontrol etmek için akış yukarı (upstream) proses optimizasyonunu içerir (Tripathi ve Shrivastava, 2019). Dolayısıyla, büyütülmesi için kompleks ve pahalı besi ortamına ihtiyaç duymasına ve viral kontaminasyonlara karşı savunmasız olmasına rağmen, glikozilasyon gibi translasyon sonrası modifikasyonu yapabilen memeli ekspresyon sistemi ile en yüksek derecede protein kalitesi elde edilebilir. Mayalar ise birçok durumda optimal olmayan bir glikozilasyon modeline sahip olmasına rağmen, proteinlerin doğru katlanması ve translasyon sonrası modifikasyon yapabilmeleri yönünden avantajlıdır. Ayrıca genetik manipülasyonları kolaydır ve büyük ölçekli biyoreaktörlerde ucuz besi ortamlarında geliştirilebilirler (Berlec ve Štrukelj, 2013; Demain ve Vaishnav, 2009; Mattanovich vd., 2012; Walsh, 2010b). Geliştirilen biyofarmasötik ürünlerin sırasıyla %15, %31 ve %43'ünü oluşturan biyofarmasötik protein üretimi için *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* ve memeli hücreleri en yaygın olarak kullanılan konakçı sistemlerdir. Onaylanmış biyofarmasötiklerin diğer %11'i ise hibridoma hücreleri (bazı monoklonal antikorlar), bitkiler, transgenik hayvanlar, böcek hücreleri veya diğer konakçılar tarafından üretilir (Berlec ve Štrukelj, 2013).

Mayalar tek hücreli organizmalardır ve en basit ökaryotlar arasındadır. Yüksek ökaryotlarınkine benzer bir alt hücre organizasyonuna sahiptirler ve bir çekirdek, mitokondri, endoplazmik retikulum (ER), Golgi aygıtı, salgı vezikülleri, vakuoller ve mikro cisimler içerirler (Berlec ve Štrukelj, 2013). Mayalar, alkollü içecekler ve ekmek yapımı için gıda ve fermentasyon süreçlerinde binlerce yıldır kullanılmakta olup, aynı zamanda endüstriyel biyoteknolojinin temellerini oluşturan hammaddelerin biyotransformasyonu için insanlık tarafından kullanılan ilk mikroorganizmalardır (Martínez vd., 2012; Mattanovich vd., 2012). Bu tek hücreli mikroorganizmalar, rekombinant proteinlerin üretimi için oldukça ilgi çekici konakçılar olmuştur. Manipüle edilmeleri kolaydır ve hızlı büyürler, ökaryotik post-translasyonel modifikasyonları gerçekleştirebilir ve üretilen proteinleri verimli bir şekilde salgılayabilirler. Ayrıca, yüksek hücre yoğunluğu ve protein verimi sağlayan üstün fermentasyon yetenekleri üretim süreçlerini daha ekonomik hale getirirken, sentezlenen biyomoleküller, pirojenlerin, patojenlerin veya viral inklüzyonların olmaması dolayısıyla güvenlidir (Gerd Gellissen vd., 2005). Bu yüzden, maya hücreleri, genellikle güvenli (GRAS; Generally Recognized As Safe) organizmalar olarak kabul edilir ve bu durum, biyofarmasötik protein üretimi için konakçı olarak kullanımları açısından oldukça avantajlıdır (Martínez vd.,

2012). Dolayısıyla, son zamanlarda mayaların endüstriyel önemi, çeşitli sağlık sektörlerinde terapötik rekombinant proteinlerin üretimi ve kullanımının mümkün olmasıyla, fermentasyonda geleneksel kullanımının ötesine geçmiştir (Martínez vd., 2012). Geleneksel fırıncı mayası olarak bilinen *Saccharomyces cerevisiae*, genetik mühendisliği ve rekombinant protein üretiminin ilk günlerinden beri biyofarmasötik üretim için en iyi karakterize edilmiş ökaryotlardan ve en yaygın kullanılan konak sistemlerinden biridir (Martínez vd., 2012). Bununla birlikte, *Pichia pastoris*, *Yarrowia lipolytica*, *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces lactis* ve *Schizosaccharomyces pombe* gibi birkaç geleneksel olmayan maya türü, rekombinant proteinlerin endüstriyel üretimi için alternatif konakçılar olarak artan bir ilgi görmüştür (H. Kim vd., 2015).

Saccharomyces cerevisiae

Saccharomyces cerevisiae, ilk ve en iyi bilinen maya ekspresyon sistemidir. Şimdiye kadar bira, şarap yapımı ve fırıncılıkta geleneksel kullanımından yararlanan bu maya, 1980'lerde ekspresyon konakçısı olarak kullanılmıştır (Llopis vd., 2014). Dolayısıyla, genetik mühendisliği ve rekombinant protein üretiminin ilk günlerinden beri biyofarmasötik üretim için en iyi karakterize edilmiş ökaryotlardan ve en yaygın kullanılan konakçı sistemlerinden biridir (Martínez vd., 2012). 1996 yılında, *S. cerevisiae*'nin (S288C strain) genomu, tamamen dizilenen ilk ökaryotik genom olmuştur (Matheson vd., 2017). Bu mikroorganizmanın tüm genomunun dizilenmesi, genom organizasyonu ve evriminin birçok yönü hakkında değerli bilgiler sağlamıştır (Duina vd., 2014). Pahalı olmayan besi ortamında hızlı büyüme göstermesi, genetik manipülasyonunun kolay olması, proteolitik işleme, katlama, disülfid bağı oluşumu ve karboksilasyon olmadan translasyon sonrası modifikasyonları yapabilme yeteneğine sahip olması gibi avantajlara sahip olmasının yanı sıra, yüksek hücre yoğunluklarına ulaşamayan, sınırlı salgılama ve aşırı (hiper) veya düzensiz glikozilasyon sergileyen endüstriyel bir mikroorganizmadır (Berlec ve Štrukelj, 2013). Bu mikroorganizmanın sahip olduğu pek çok olumlu özelliği, önemli rekombinant enzimlerin ve terapötik proteinlerin üretimi için zemin hazırlamıştır. Diğer yandan, *S. cerevisiae*, gen ekspresyonunun düzenlenmesi, yaşlanma, apoptoz, sinyal iletimi, hücre döngüsü kontrolü, programlanmış hücre ölümü, metabolizma, nörodejeneratif hastalıklar, otofaji ve diğer birçok önemli biyolojik prosedür üzerinde çalışmak için en yaygın kullanılan ökaryotik model organizmalardan biridir (Biddick ve Young, 2009; Brocard-Masson ve Dumas, 2006; Hohmann vd., 2007; Karathia vd., 2011; López-Mirabal ve Winther, 2008; Miller-Fleming vd., 2008; Munoz vd., 2012; Murakami ve Kaerberlein, 2009; Nasheuer vd., 2002; Owsianowski vd., 2008; Reggiori ve Klionsky, 2013) .

S. cerevisiae tarafından üretilen FDA onaylı rekombinant protein olan hepatit B yüzey antijeninin üretimi (Sanchez-Garcia vd., 2016; Valenzuela vd., 1982), daha sonra insan serum albümini, insan serum transferrini, insülin öncüsü, glukagon, hirudin, urat oksidaz ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi çeşitli ticari biyofarmasötiklerin üretimine de yol açmıştır (Demain ve Vaishnav, 2009; Walsh, 2014). Diğer yandan, *S. cerevisiae* hücrelerinde protein üretimi sırasında hiperglikozilasyonun görülmesi, üretim sorunları arasında yer alsa da glikozilasyon yolunun insandaki gibi (human-like glycosylation) olmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir (Nasab vd., 2013; Xu vd., 2016). Ek olarak, genetik ve dejeneratif hastalıklarla bağlantılı insan proteinlerinin %30'unun ortologları bu mayada var olduğundan, *S. cerevisiae*, temel hücresel süreçleri araştırmada hâlâ daha ilgi çekici bir ökaryotik model organizmadır (Galao vd., 2007; Petranovic ve Nielsen, 2008). Ayrıca bu ekspresyon sisteminde rekombinant proteinler, hücre içinde (intraseküler) ifade edilebilir veya bir salgılama sinyal peptidi kullanılarak protein hücre dışı ortama (ekstraseküler) bırakılabilir. Bu sinyal peptidin (mating factor $\alpha 1$; MF $\alpha 1$) ön dizisi (pre-prosekans) tüm maya ekspresyon sistemlerinde işlevseldir ve sıklıkla kullanılır (Ahmad vd., 2014). *S. cerevisiae* ekspresyon sistemi kullanılarak üretilen ticari biyofarmasötikler, Tablo 1'de verilmiştir (H. Kim vd., 2015) (H. Kim vd. (2015)'den alınan bilgiler güncellenmiştir).

Tablo 1. *S. cerevisiae* ekspresyon sistemi kullanılarak üretilen ticari biyofarmasötikler

Protein	Ticari adı	Terapi alanı	Üretici firma
Hepatit veya hepatit ile birlikte diğer bulaşıcı hastalıkların aşılırları (İ)	Comvax	<i>H. influenzae</i> tip B ve hepatit B	Merck
	Recombivax	Hepatit B	Merck
	Euvax B	Hepatit B	Sanofi Pasteur (Fransa)
	Engerix-B	Hepatit B	GlaxoSmithKline (GSK)
	Fendrix	Hepatit B	GlaxoSmithKline (GSK)
	Ambirix	Hepatit A ve B	GlaxoSmithKline (GSK)
	Twinrix	Hepatit A ve B	GlaxoSmithKline (GSK)
	Tritanrix-HB	Difteri, tetanoz, boğmaca ve hepatit B	GlaxoSmithKline (GSK)
	Infanrix-Penta	Difteri, tetanoz, boğmaca, çocuk felci ve hepatit B	GlaxoSmithKline (GSK)
	Infanrix-Hexa	Difteri, tetanoz, boğmaca, çocuk felci ve hepatit B	GlaxoSmithKline (GSK)
	Hexyon	Difteri, tetanoz, boğmaca, hepatit B, çocuk felci ve <i>H. influenzae</i> tip B	Sanofi Pasteur (Fransa)
Procomvax	<i>H. influenzae</i> tip B ve hepatit B	Sanofi Pasteur (Fransa)	
Primavax	Difteri, tetanoz ve hepatit B	Sanofi Pasteur (Fransa)	
HBVaxPro	Çocuklarda ve ergenlerde Hepatit B	Merck Sharp and Dohme	

İnsan papilloma virüs (HPV) vaccine (İ)	Gardasil	İnsan papilloma virüsünün (HPV) neden olduğu rahim ağzı kanseri	Merck, Sanofi Pasteur, Merck Sharp and Dohme
İnsülin (E)	Actrapid, Velosulin, Monotard, Insulatard, Protaphane, Mixtard, Ultratard, Actraphane	Diyabet	Novo Nordisk
İnsülin aspart (E)	Novolog, Novolog Penfill, Novolog FlexPen, NovoRapid, NovoRapid Penfill, Novomix 30, Novolog mix 70/30	Diyabet	Novo Nordisk
İnsülin detemir (E)	Levemir, Levemir FlexPen	Diyabet	Novo Nordisk
Glukagon benzeri peptid-1(GLP-1) (E)	Victoza	Tip II diyabet	Novo Nordisk
Glukagon (E)	GlucaGen Glucagon	Hipoglisemi	Novo Nordisk Eli Lilly
İnsan büyüme hormonu (HGH) (E)	Valtropin	Cücelik, hipofiz turner sendromu	Biopartners (Almanya)
Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) (E)	Leukine Leucomax	Kanser, kemik iliği nakli	Berlex Laboratories Novartis
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) (İ)	Regranex	Alt ekstremitte diyabetik nöropatik ülserler	Ortho-McNeil-Janssen Pharmaceuticals (ABD)
	GEM 21S	Periodontal bozukluklar	Luitpold Pharmaceuticals (ABD)
Desirudin (E)	Revasc	Venöz tromboz	Canyon Pharmaceuticals (İngiltere)
Lepirudin (E)	Refludan	Heparin kaynaklı trombositopeni tip II	Hoechst Marion Rousse (ABD) Behringwerke AG (Almanya)
Rasburikaz (İ)	Fasturtec, Elitek	Hipertürisemi	Sanofi-Synthelabo (Fransa), Sanofi-Aventis (Fransa)

E:Ekstrasellüler ekspresyon, İ:İntrasellüler ekspresyon

Pichia pastoris

Pichia pastoris (*Komagataella phaffii*), askosporlu bir mayadır. 1919 yılında Guilliermond tarafından Fransa'da bir kestane ağacının salgısından izole edilmiştir. Yirminci yüzyılın ortalarında ise bu mayanın tek karbon kaynağı olarak metanolü kullanma yeteneği keşfedilmiştir (Ogata vd., 1969). Önceleri Philips Petrol Şirketi, bu mayayı hayvan yemi katkı maddesi olarak tek hücre protein (SCP) üretiminde kullanmış, ancak 1973'teki

petrol krizi nedeniyle metanol fiyatlarındaki dikkate değer artış, tek hücre protein üretim süreçlerini ekonomik olmaktan çıkarmıştır. 1980'lerde ise *P. pastoris*, güçlü ve sıkı bir şekilde düzenlenmiş, metanolla indüklenebilir alkol oksidaz 1 promotörünün (P_{AOX1}) kontrolü altında rekombinant proteinlerin üretimi için heterolog bir konakçı sistem olarak kullanılmaya başlanmıştır (Cregg vd., 1985). Sonraları, bu maya araştırmacıların dikkatini çekmiş ve şu anda rekombinant protein üretim araştırmalarında en yaygın kullanılan maya ekspresyon sistemi haline gelmiştir. Öyle ki, *P. pastoris*, endüstriyel enzimler ve biyofarmasötikler dahil olmak üzere heterolog proteinlerin üretimi için mükemmel bir ekspresyon konakçısıdır (Looser vd., 2014). Şimdiye kadar, bu ekspresyon sistemi, insan eritropoietin, fitaz, fosfolipaz C, tripsin, insan süperoksit dismutaz, insan serum albümini, kollajen ve insan monoklonal antikor 3H6 Fab fragmanı dahil olmak üzere çok sayıda rekombinant proteinin üretilmesi için başarıyla kullanılmıştır (Irani vd., 2016).

P. pastoris, rekombinant protein üretimi için yaygın olarak kullanılan farklı konakçı organizmalar arasında en verimli ve çok yönlü ekspresyon platformlarından biri olarak kabul edilmektedir (García-Ortega vd., 2019). Bu ekspresyon sistemi, farklı rekombinant proteinlerin ekspresyonu için çeşitli avantajlara sahiptir. Bu ekspresyon sisteminin avantajlarından biri, CHO (Chinese hamster ovary; Çin hamsteri yumurtalık) hücre hatları gibi gelişmiş ökaryotik ekspresyon sistemleri ile yüksek benzerliğe sahip olmasıdır. Bu sistem ucuzdur, ayrıca nispeten hızlı ekspresyon sürelerine, ko-translasyonel ve post-translasyonel modifikasyonları yapabilme yeteneğine sahiptir. Endüstriyel fermentörlerin kullanımıyla, bu sistemle küçük ölçekli kültür hacimlerinden daha büyük ölçekli hacimlerde ilgili proteinler üretilebilir (Karbalaeei vd., 2020). Diğer maya türleri ile karşılaştırıldığında, *P. pastoris*'in rekombinant proteinleri, kültür ortamına doğrudan salgılayabilme yeteneğine sahip olması, üretilen rekombinant proteinlerin saflaştırılmasında kolaylık sağlaması açısından önemlidir (Tachioka vd., 2016). Ayrıca, bu maya tanımlı besi ortamında yüksek hücre yoğunluğunda büyüebilir (Baghban vd., 2019).

Son otuz yılda hem endüstriyel ölçekte hem de laboratuvarında binlerce biyomolekül üretmek için *P. pastoris*, çok yönlü bir hücre fabrikası olarak geliştirilmiştir. Şimdiye kadar, *P. pastoris* ekspresyon sisteminde toplam hücre proteininin %30'unu veya toplam salgılanan proteinin %80'ini oluşturan 5000'den fazla rekombinant protein üretilmiştir (Potvin vd., 2012). Ayrıca *P. pastoris*'te 70'den fazla ticari ürün ve bu ekspresyon sistemini kullanan 300'den fazla lisanslı endüstriyel proses üretilmektedir (<http://www.pichia.com>). 1993 yılında *Pichia* ekspresyon sisteminin RCT (Research Corporation Technologies) tarafından satın alınmasından bu yana, 70'den fazla terapötik ve endüstriyel ürün FDA tarafından onaylanmıştır

ve ürünler piyasada veya geliştirmenin son aşamasındadır. *pichia.com* web sayfasında listelenen ve sağlık hizmeti pazarında RCT tarafından lisanslanan biyofarmasötik ürünlerin biri Kalbitor®'dur (DX-88 ekallantid). Dyax (Cambridge, MA) tarafından üretilen bu ürün, rekombinant bir kallikrein inhibitör proteindir. Kalıtsal anjiyo ödem tedavisinde kullanılan bu protein, *Pichia*'da sentezlenen ilk FDA onaylı biyofarmasötiktir (Thompson, 2010). Bir diğeri, rekombinant insan insülini olup diyabet tedavisinde kullanılmak üzere Biocon (Hindistan) tarafından üretilen Insugen®'dir. Kan damarı genişlemesi için Mitsubishi Tanabe Pharma (Japonya) tarafından üretilen ve bir rekombinant serum albümini olan Medway®, her ikisi de Shantha/Sanofi (Hindistan) tarafından üretilen rekombinant Hepatit B aşısı, Shanvac® ve rekombinant interferon alfa 2b, Shanferon®, vitreomaküler adezyon tedavisi için ThromboGenics (Belçika) tarafından üretilen rekombinant mikroplazmin, Ocriplasmin®, her ikisi de Ablynx (Belçika) tarafından üretilen romatoid artrit tedavisi için anti IL-6 reseptörü tek domain antikor fragmanı, Nanobody® ALX-0061®, solunum sinsityal virüsü (RSV) enfeksiyonu tedavisi için anti-RSV tek domain antikor fragmanı, Nanobody® ALX-00171® ve interstisyel sistit tedavisi için Trillium (Kanada) tarafından üretilen heparin bağlayıcı EGF benzeri büyüme faktörü (HB-EGF) *P. pastoris* ekspresyon sistemi kullanılarak geliştirilen diğer biyofarmasötik ürünlerdir.

Yarrowia lipolytica

Yarrowia lipolytica, önemli lipolitik ve proteolitik aktiviteler sergileyen büyük miktarlarda lipit biriktirme kabiliyetine sahip yağlı, dimorfik bir mayadır. Deniz suları, topraklar, gıda sistemleri ve mikorizalar gibi çeşitli habitatlarda bulunur (Groenewald vd., 2014; Madzak ve Beckerich, 2013). Süt ürünleri, peynir, yoğurt, et ve zeytinyağı gibi lipitçe veya proteince zengin ortamlardan izole edilebilir. Yabani tip *Y. lipolytica* suşu, alkalın proteaz, hücre dışı proteaz, RNaz, fosfataz, lipaz ve esteraz gibi birçok endojen enzimi üretebilir ve salgılayabilir (H. H. Liu vd., 2015). Önemli bir enzim olarak lipazlar, gıda endüstrisi, biyoremediasyon ve ince kimyasalların ve farmasötiklerin üretimi gibi birçok alanda kullanılabilir. *Y. lipolytica* kaynaklı lipazların karakterizasyonu ve biyoteknolojik uygulamalarından bahsedilen bir derlemede lipaz üretkenliğinin ve aktivitesinin genetik kodlayıcı genler ve çeşitli çevresel faktörlerden etkilendiği bildirilmiştir (Patrick Fickers vd., 2005). En az 16 farklı gen tarafından kodlanan lipaz ailesinin üyelerinden Lip2p, Lip7p ve Lip8p dahil olmak üzere lipazlarla ilgili önemli bilgiler edinilmiştir (P. Fickers vd., 2005; Patrick Fickers vd., 2005). Lipaz Lip2p'nin, 2-bromo-aril asetik asit esterlerinin rasemik bir karışımını çözmek için seçici bir katalizör olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Guieysse vd., 2004). Diğer yandan, *Y. Lipolytica*'dan elde edilen hücre dışı lipaz Lip2p'nin ekzokrin pankreas yetmezliği teda-

visi için farmasötik olarak kullanılabilceği de bildirilmiştir (Turki vd., 2010). 2012 yılında Aptalis Pharma (Amerika) şirketi tarafından üretilen rekombinant pankrelipaz enziminin Ultresa® ticari adıyla piyasaya çıkarıldığı duyurulmuştur. *Y. lipolytica*'da, oleik asit ile indüklenebilir promotörün kontrolü altında 425 mg/L rekombinant insan interferon α 2b (huIFN α 2b) üretimi de gerçekleştirilmiştir (Gasmi vd., 2011). Bu maya, büyük miktarlarda rekombinant protein ve metabolit üretme kabiliyeti dolayısıyla rekombinant proteinlerin, eritritol, sitrik asit ve lipidlerin üretimi dahil olmak üzere çok sayıda endüstriyel uygulama için kullanılmıştır (Madzak, 2015; Trassaert vd., 2017). Genellikle hidrokarbonla kontamine olan topraklarda bulunduğu ve karbon kaynağı olarak trigliseritleri, yağ asitlerini, n-alkanları ve n-parafinleri metabolize edebildiğinden kirli toprak ve suların biyoremediasyonu amacıyla da ilgi görmüştür (Bankar vd., 2009; Madzak vd., 2004).

Y. lipolytica suşları karotenoidlerin ve çeşitli heterolog enzimlerin üretimi için genetik olarak tasarlanmıştır (Grenfell-Lee vd., 2014; Pignede vd., 2000; Tiels vd., 2012). Ayrıca, bu maya lakkaz ve epoksit hidrolaz gibi heterolog protein üretimi için ideal bir ekspresyon konakçısı olarak kabul edilmektedir (H. H. Liu vd., 2015). Şimdiye kadar, *Y. lipolytica* türleri tarafından 130'dan fazla rekombinant protein üretilmiştir (Madzak, 2015). Yüksek ökaryotlara benzer şekilde verimli salgılama sinyali tanıma yoluyla çeşitli proteinler salgılayabilmesi (Madzak, 2015), *S. cerevisiae*'ye göre daha az hipermannozilasyon yapabilmesi (Song vd., 2007) ve yüksek hücre yoğunluklu fermentasyon ile yetiştirme için uygun olması (J. W. Kim vd., 2000) gibi birçok avantaja sahiptir. Dolayısıyla, bu mikroorganizma protein ekspresyonu için uygun bir konakçı olarak kabul edilmektedir.

Rekombinant protein üretimi için sıklıkla kullanılan *Y. lipolytica* suşları, E129, Pold, Polf, Polg ve Polh'dir (Madzak vd., 2004). Bu suşlar, rekombinant protein üretiminde önemli yeteneklere sahiptir. Sitrik asit, tek hücre yağı (SCO; single cell oil) ve tek hücre proteini (SCP; single cell protein) üretimi için birkaç *Y. lipolytica* suşu yakın zamanda tasarlanmıştır (Cui vd., 2011; X. Y. Liu vd., 2010; Madzak, 2015).

Hansenula polymorpha

Hansenula polymorpha (*Pichia angusta*, *Ogataea polymorpha*) yaygın olarak kullanılan metilotrofik maya türlerinden biridir (Nel vd., 2009). Tek karbon ve enerji kaynağı olarak metanol varlığında büyüyebilir. Nitrat asimilasyon kabiliyeti ve 50 °C'ye kadar termotoleransı ile diğer metilotroflardan farklıdır (Radecka vd., 2015). Tüm genom dizisinin aydınlatılması (Ramezani-Rad vd., 2003), bu mayanın biyofarmasötik proteinlerin verimli ekspresyonuna yönelik moleküler araştırması için iyi bir fırsat sağlamıştır. *H. polymorpha*'da protein glikozilasyon yolunun varlığı, bi-

yolojik olarak aktif olan ökaryotik rekombinant proteinlerin üretilmesine olanak tanır. Dahası, diğer mayalardan farklı olarak, proteine daha az şeker rezidüsü ekleyerek rekombinant proteinlerin hiperglikozilasyonunu önler (Sudbery, 1996). Bu durum, proteinleri daha az alerjik ve farmasötik olarak daha uygun hale getirir. Bu özelliğine ek olarak, metanol ile indüklenebilir güçlü bir metanol oksidaz promotörüne (MOX) (G. Gellissen, 2000) ve rekombinant proteini yüksek seviyede salgılama kapasitesine sahip olması (Van Dijk vd., 2000) sebebiyle, bu maya rekombinant protein üretimi için umut verici bir alternatif konakçısıdır. Diğer yandan, nispeten yüksek optimum büyüme sıcaklığı (37 °C), bu mikroorganizmayı özellikle termostabil proteinlerin (Jenzelewski, 2005) ve ayrıca memeli proteinlerinin üretimi için uygun hale getirmiştir (G. Gellissen, 2000). Endüstriyel proste yüksek hücre yoğunluğuna ulaşabilmesi ve düşük maliyetli substratları kullanabilmesi açısından da avantajlıdır (Gerd Gellissen, 2002).

H. polymorpha'da rekombinant terapötik proteinlerden, hepatit B virüsü yüzey antijeni, rotavirüs VP6 proteini, insan papilloma virüsü tip 16 (HPV type 16) L1-L2 kimerik proteini ve granülosit koloni stimule edici faktörün (GCSF) üretiminin gerçekleştirildiği çalışmalar mevcuttur. Diğer yandan, Dynavax Europe (Almanya) ve üretim ortakları tarafından üretilen hepatit B aşılı HepavaxGene®, Gen Vax B® ve Biovac-B®, pentavalent aşı (difteri, *Haemophilus influenzae* tip b, hepatit-B, boğmaca ve tetanoz) Quinvaxem®, hirudin Thrombexx®, α -interferon, Reiferon® ve insülin, Wosulin® *H. polymorpha* ekspresyon sistemi kullanılarak geliştirilen biyofarmasötik ürünlerdir (<https://www.dynavax.com>).

Kluyveromyces lactis

Kluyveromyces cinsi, 1956 yılında Hollandalı mikrobiyolog Albert Jan Kluyver'in (1888-1956) onuruna adlandırılmıştır. Bu cins, 2003'te yapılan genom dizi analizi sonucuna göre, bugün sadece altı türden oluşmaktadır. *Kluyveromyces* cinsinin en yaygın kullanılan türlerinden biri olan *K. lactis*, araştırma ve endüstriyel biyoteknoloji için en önemli maya türlerinden biri olarak ortaya çıkmıştır (Spohner vd., 2016). Bu mikroorganizma, ksilitol, sellobiyoz, ksiloz, arabinoz ve laktozu kullanma yeteneğine sahiptir (Nonklang vd., 2008). *K. lactis*'te rekombinant sığır kimozin enziminin üretimi, gıda endüstrisinde peynir üretimi için sıklıkla kullanılır. *S. cerevisiae*'nin bu enzimin sadece inaktif bir formunu üretebildiği, aktif formunun ise *K. lactis*'te üretilebildiği bildirilmiştir (Almeida vd., 2015; Van Den Berg vd., 1990). Bu mikroorganizmanın diğer maya türlerine göre en önemli avantajı ise ekonomik ve ekolojik öneme sahip peynir altı suyu üzerinde büyüme yeteneğidir.

K. lactis, süt endüstrisindeki başarılı uygulamalarının yanı sıra, farmasötik endüstrisinde heterolog proteinlerin büyük ölçekli üretimi için konakçı olarak kullanılmıştır. Örneğin, kanser tedavisi veya akut ve kronik hepatit B ve kronik hepatit C tedavisinde kullanılabilen interferon- α (Chen vd., 1992; Kumar vd., 2005; Musch vd., 2004), otoimmün bozuklukları tedavi etmek için kullanılan insan interleukin 1- β (Fleer vd., 1991), hematopoetik sistemin bozukluklarıyla mücadele etmek için makrofaj koloni uyarıcı faktörü (M-CSF) (Hua vd., 1994), diyabet tedavisi için insülin prekürsörü (Feng vd., 1997), insan serum albümini (Saliola vd., 1999), büyüme hormonu (Ferminán ve Domínguez, 1998) ve çeşitli antikörlerin (Robin vd., 2003; Swennen vd., 2002) üretimi için heterolog ekspresyon konakçısı olarak kullanılmıştır. Ayrıca bu mikroorganizmada, *P. pastoris* ve *S. cerevisiae* mayalarında olduğu gibi, glikozilasyon yolunun insandaki gibi olmasına yönelik çalışmalar mevcuttur (De Pourcq vd., 2010; B. Liu vd., 2009).

Schizosaccharomyces pombe

Schizosaccharomyces pombe bir fisyon mayasıdır. Bu maya, taksonomik ve evrimsel olarak tomurcuklanan *Saccharomyces cerevisiae*'dan uzaktır. Fisyon mayası olarak adlandırılır, çünkü yüksek ökaryotik hücrelerin çoğalmasına benzer şekilde ikiye bölünme (fisyon) yoluyla çoğalır (Takegawa vd., 2009). *S. pombe*'nin heterolog protein üretiminde endüstriyel uygulaması hâlâ sınırlı olsa da translasyon sonrası modifikasyonlar, RNA interferansı, transkripsiyon başlatma ve hücre döngüsü kontrolü gibi hücresel süreçler açısından yüksek yapıli ökaryotlara benzerliği, bu mayayı memeli proteinlerinin üretimi için umut verici bir platform haline getirmiştir (H. Kim vd., 2015). Daha yüksek yapıli organizmalarda glikozile edilen proteinler gibi karmaşık yapılara sahip moleküllerin ekspresyonu için ilgi çekici bir konakçı olarak kabul edilmektedir (Takegawa vd., 2009).

S. pombe tarafından rekombinant olarak üretilen Fosfolipaz A2 inhibitörü insan lipocortin I'in, toplam çözünür proteinin %50'sini oluşturduğu ve bir N-terminal asetilasyon yapısına sahip olduğu bildirilmiştir (Giga-Hama vd., 1994). Diğer yandan, bu ekspresyon sistemi, yenilebilir bir insan papilloma virüsü-tip-16 aşısının üretimi için kullanılmıştır (Sasagawa vd., 2005). Başka bir çalışmada ise *S. pombe*'nin aynı anda bir kaç geninin manipüle edilmesiyle insan büyüme hormonu üretiminin birkaç katına çıkarıldığı bildirilmiştir (İdiris vd., 2010).

Kaynaklar

- Ahmad, M., Hirz, M., Pichler, H., Schwab, H. 2014. Protein expression in *Pichia pastoris*: Recent achievements and perspectives for heterologous protein production. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Almeida, C. M., Gomes, D., Faro, C., Simões, I. 2015. Engineering a cardosin B-derived rennet for sheep and goat cheese manufacture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(1).
- Baghban, R., Farajnia, S., Rajabibazl, M., Ghasemi, Y., Mafi, A. A., Hoseinpoor, R., Aria, M. 2019. Yeast Expression Systems: Overview and Recent Advances. *Molecular Biotechnology*.
- Bankar, A. V., Kumar, A. R., Zinjarde, S. S. 2009. Environmental and industrial applications of *Yarrowia lipolytica*. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Berlec, A., Štrukelj, B. 2013. Current state and recent advances in biopharmaceutical production in *Escherichia coli*, yeasts and mammalian cells. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*.
- Biddick, R., Young, E. T. 2009. The disorderly study of ordered recruitment. *Yeast*.
- Bill, R. M. 2014. Playing catch-up with *Escherichia coli*: Using yeast to increase success rates in recombinant protein production experiments. *Frontiers in Microbiology*.
- Brocard-Masson, C., Dumas, B. 2006. The fascinating world of steroids: *S. cerevisiae* as a model organism for the study of hydrocortisone biosynthesis. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 22(1).
- Chen, X., Gao, B., Shi, W., Li, Y. 1992. Expression and secretion of human interferon alpha A in yeast *Kluyveromyces lactis*. *Yi chuan xue bao = Acta genetica Sinica*, 19(3).
- Cregg, J. M., Barringer, K. J., Hessler, A. Y., Madden, K. R. 1985. *Pichia pastoris* as a host system for transformations. *Molecular and Cellular Biology*.
- Cui, W., Wang, Q., Zhang, F., Zhang, S. C., Chi, Z. M., Madzak, C. 2011. Direct conversion of inulin into single cell protein by the engineered *Yarrowia lipolytica* carrying inulinase gene. *Process Biochemistry*, 46(7).
- De Pourcq, K., De Schutter, K., Callewaert, N. 2010. Engineering of glycosylation in yeast and other fungi: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Demain, A. L., Vaishnav, P. 2009. Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms. *Biotechnology Advances*.

- Duina, A. A., Miller, M. E., Keeney, J. B. 2014. Budding yeast for budding geneticists: A primer on the *Saccharomyces cerevisiae* model system. *Genetics*, 197(1).
- Feng, Y. M., Zhang, B. Y., Zhang, Y. S., Hiroshi, F. 1997. Secretory expression of porcine insulin precursor in *Kluyveromyces lactis* and its conversion into human insulin. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 29(2).
- Fermiñán, E., Domínguez, A. 1998. Heterologous protein secretion directed by a repressible acid phosphatase system of *Kluyveromyces lactis*: Characterization of upstream region-activating sequences in the KIPH05 gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(7).
- Ferrer-Miralles, N., Domingo-Espín, J., Corchero, J., Vázquez, E., Villaverde, A. 2009. Microbial factories for recombinant pharmaceuticals. *Microbial Cell Factories*.
- Fickers, P., Fudalej, F., Le Dall, M. T., Casaregola, S., Gaillardin, C., Thonart, P., Nicaud, J. M. 2005. Identification and characterisation of LIP7 and LIP8 genes encoding two extracellular triacylglycerol lipases in the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Fungal Genetics and Biology*, 42(3).
- Fickers, Patrick, Fudalej, F., Nicaud, J. M., Destain, J., Thonart, P. 2005. Selection of new over-producing derivatives for the improvement of extracellular lipase production by the non-conventional yeast *Yarrowia lipolytica*. *Journal of biotechnology*, 115(4).
- Fleer, R., Xin Jie Chen, Amellal, N., Yeh, P., Fournier, A., Guinet, F., Mayaux, J. F. 1991. High-level secretion of correctly processed recombinant human interleukin-1 β in *Kluyveromyces lactis*. *Gene*, 107(2).
- Galao, R. P., Scheller, N., Alves-Rodrigues, I., Breinig, T., Meyerhans, A., Díez, J. 2007. *Saccharomyces cerevisiae*: A versatile eukaryotic system in virology. *Microbial Cell Factories*.
- García-Ortega, X., Cámara, E., Ferrer, P., Albiol, J., Montesinos-Seguí, J. L., Valero, F. 2019. Rational development of bioprocess engineering strategies for recombinant protein production in *Pichia pastoris* (*Komagataella phaffii*) using the methanol-free GAP promoter. Where do we stand? *New Biotechnology*.
- Gasmi, N., Ayed, A., Ammar, B. B. H., Zrigui, R., Nicaud, J. M., Kallel, H. 2011. Development of a cultivation process for the enhancement of human interferon alpha 2b production in the oleaginous yeast, *Yarrowia lipolytica*. *Microbial Cell Factories*, 10.
- Gellissen, G. 2000. Heterologous protein production in methylotrophic yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Gellissen, Gerd. 2002. *Hansenula polymorpha: Biology and Applications. Hansenula polymorpha*.

- Gellissen, Gerd, Kunze, G., Gaillardin, C., Cregg, J. M., Berardi, E., Veenhuis, M., Van Der Klei, I. 2005. New yeast expression platforms based on methylophilic *Hansenula polymorpha* and *Pichia pastoris* and on dimorphic *Arxula adeninivorans* and *Yarrowia lipolytica* - A comparison. *FEMS Yeast Research*.
- Giga-Hama, Y., Tohda, H., Okada, H., Owada, M. K., Okayama, H., Kumagai, H. 1994. High-level expression of human lipocortin i in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* using a novel expression vector. *Bio/Technology*, 12(4).
- Goodman, M. 2009. Market watch: Sales of biologics to show robust growth through to 2013. *Nature reviews. Drug discovery*, 8(11).
- Grenfell-Lee, D., Zeller, S., Cardoso, R., Pucaj, K. 2014. The safety of β -carotene from *Yarrowia lipolytica*. *Food and Chemical Toxicology*, 65.
- Groenewald, M., Boekhout, T., Neuvéglise, C., Gaillardin, C., Van Dijck, P. W. M., Wyss, M. 2014. *Yarrowia lipolytica*: Safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential. *Critical Reviews in Microbiology*.
- Guieysse, D., Sandoval, G., Faure, L., Nicaud, J. M., Monsan, P., Marty, A. 2004. New efficient lipase from *Yarrowia lipolytica* for the resolution of 2-bromo-arylacetic acid esters. *Tetrahedron Asymmetry*, 15(22).
- Hohmann, S., Krantz, M., Nordlander, B. 2007. Yeast Osmoregulation. İçinde *Methods in Enzymology* (C. 428).
- Hua, Z., Liang, X., Zhu, D. 1994. Expression and purification of a truncated macrophage colony stimulating factor in *Kluyveromyces lactis*. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 34(2).
- Human insulin receives FDA approval. 1982. *FDA Drug Bulletin*, 12(3).
- Idiris, A., Tohda, H., Sasaki, M., Okada, K., Kumagai, H., Giga-Hama, Y., Takegawa, K. 2010. Enhanced protein secretion from multiprotease-deficient fission yeast by modification of its vacuolar protein sorting pathway. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(3).
- Irani, Z. A., Kerkhoven, E. J., Shojaosadati, S. A., Nielsen, J. 2016. Genome-scale metabolic model of *Pichia pastoris* with native and humanized glycosylation of recombinant proteins. *Biotechnology and Bioengineering*, 113(5).
- Jenzelewski, V. 2005. Fermentation and Primary Product Recovery. İçinde *Hansenula polymorpha*.
- Karaoğlan, M. 2012. *Pichia pastoris* Alkol Oksidaz (AOX1 ve AOX2) Genlerinin İnaktif Edilmesi ve Elde Edilen Suşun Rekombinant Protein Üretiminde Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi.
- Karathia, H., Vilaprinyo, E., Sorribas, A., Alves, R. 2011. *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism: A comparative study. *PLoS ONE*, 6(2).

- Karbalaei, M., Rezaee, S. A., Farsiani, H. 2020. *Pichia pastoris*: A highly successful expression system for optimal synthesis of heterologous proteins. *Journal of Cellular Physiology*.
- Kim, H., Yoo, S. J., Kang, H. A. 2015. Yeast synthetic biology for the production of recombinant therapeutic proteins. *FEMS Yeast Research*.
- Kim, J. W., Park, T. J., Ryu, D. D. Y., Kim, J. Y. 2000. High cell density culture of *Yarrowia lipolytica* using a one-step feeding process. *Biotechnology Progress*, 16(4).
- Kumar, L., Gangadharan, V. P., Raghunadha Rao, D., Saikia, T., Shah, S., Malhotra, H., ... Rao, R. 2005. Safety and efficacy of an indigenous recombinant interferon-alpha-2b in patients with chronic myelogenous leukaemia: Results of a multicentre trial from India. *National Medical Journal of India*, 18(2).
- Lai, J. Y., Klatt, S., Lim, T. S. 2019. Potential application of *Leishmania tarentolae* as an alternative platform for antibody expression. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(3), 380–394.
- Lestari, C. S. W., Novientri, G. 2021. Advantages of yeast-based recombinant protein technology as vaccine products against infectious diseases. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 913(1).
- Liu, B., Gong, X., Chang, S., Yang, Y., Song, M., Duan, D., Wu, J. 2009. Disruption of the *OCH1* and *MNN1* genes decrease N-glycosylation on glycoprotein expressed in *Kluyveromyces lactis*. *Journal of Biotechnology*, 143(2).
- Liu, H. H., Ji, X. J., Huang, H. 2015. Biotechnological applications of *Yarrowia lipolytica*: Past, present and future. *Biotechnology Advances*.
- Liu, X. Y., Chi, Z., Liu, G. L., Wang, F., Madzak, C., Chi, Z. M. 2010. Inulin hydrolysis and citric acid production from inulin using the surface-engineered *Yarrowia lipolytica* displaying inulinase. *Metabolic Engineering*, 12(5).
- Llopis, S., Hernández-Haro, C., Monteoliva, L., Querol, A., Molina, M., Fernández-Espinar, M. T. 2014. Pathogenic potential of *Saccharomyces* strains isolated from dietary supplements. *PLoS ONE*, 9(5).
- Looser, V., Bruhlmann, B., Bumbak, F., Stenger, C., Costa, M., Camattari, A., ... Kovar, K. 2014. Cultivation strategies to enhance productivity of *Pichia pastoris*: A review. *Biotechnology Advances*.
- López-Mirabal, H. R., Winther, J. R. 2008. Redox characteristics of the eukaryotic cytosol. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*.
- Madzak, C. 2015. *Yarrowia lipolytica*: recent achievements in heterologous protein expression and pathway engineering. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Madzak, C., Beckerich, J.-M. 2013. Heterologous Protein Expression and Secretion in *Yarrowia lipolytica*.

- Madzak, C., Gaillardin, C., Beckerich, J. M. 2004. Heterologous protein expression and secretion in the non-conventional yeast *Yarrowia lipolytica*: A review. İçinde *Journal of Biotechnology* (C. 109).
- Manning, M. C., Patel, K., Borchardt, R. T. 1989. Stability of Protein Pharmaceuticals. *Pharmaceutical Research: An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*.
- Martínez, J. L., Liu, L., Petranovic, D., Nielsen, J. 2012. Pharmaceutical protein production by yeast: Towards production of human blood proteins by microbial fermentation. *Current Opinion in Biotechnology*.
- Matheson, K., Parsons, L., Gammie, A. 2017. Whole-genome sequence and variant analysis of W303, a widely-used strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(7).
- Mattanovich, D., Branduardi, P., Dato, L., Gasser, B., Sauer, M., Porro, D. 2012. Recombinant protein production in yeasts. *Methods in Molecular Biology*.
- Miller-Fleming, L., Giorgini, F., Outeiro, T. F. 2008. Yeast as a model for studying human neurodegenerative disorders. *Biotechnology Journal*.
- Munoz, A. J., Wanichthanarak, K., Meza, E., Petranovic, D. 2012. Systems biology of yeast cell death. *FEMS Yeast Research*.
- Murakami, C., Kaeberlein, M. 2009. Quantifying yeast chronological life span by outgrowth of aged cells. *Journal of Visualized Experiments*, (27).
- Musch, E., Malek, M., Von Eick, H., Chrissafidou, A. 2004. Successful application of highly purified natural interferon alpha (Multiferon®) in a chronic hepatitis C patient resistant to preceding treatment approaches. *Hepato-Gastroenterology*, 51(59).
- Nasab, F. P., Aebi, M., Bernhard, G., Frey, A. D. 2013. A combined system for engineering glycosylation efficiency and glycan structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(3).
- Nasheuer, H. P., Smith, R., Bauerschmidt, C., Grosse, F., Weisshart, K. 2002. Initiation of eukaryotic DNA replication: Regulation and mechanisms. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 72.
- Nel, S., Labuschagne, M., Albertyn, J. 2009. Advances in gene expression in non-conventional yeasts. İçinde *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*.
- Nielsen, J., Villadsen, J. 1994. *Bioreaction Engineering Principles*. *Bioreaction Engineering Principles*.
- Nonklang, S., Abdel-Banat, B. M. A., Cha-aim, K., Moonjai, N., Hoshida, H., Limtong, S., ... Akada, R. 2008. High-temperature ethanol fermentation and transformation with linear DNA in the thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* DMKU3-1042. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(24).

- Ogata, K., Nishikawa, H., Ohsugi, M. 1969. A yeast capable of utilizing methanol. *Agricultural and Biological Chemistry*, 33(10).
- Owsianowski, E., Walter, D., Fahrenkrog, B. 2008. Negative regulation of apoptosis in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*.
- Petranovic, D., Nielsen, J. 2008. Can yeast systems biology contribute to the understanding of human disease? *Trends in Biotechnology*, 26(11).
- Pignede, G., Wang, H. J., Fudalej, F., Seman, M., Gaillardin, C., Nicaud, J. M. 2000. Autocloning and amplification of LIP2 in *Yarrowia lipolytica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8).
- Potvin, G., Ahmad, A., Zhang, Z. 2012. Bioprocess engineering aspects of heterologous protein production in *Pichia pastoris*: A review. *Biochemical Engineering Journal*.
- Radecka, D., Mukherjee, V., Mateo, R. Q., Stojiljkovic, M., Foulquié-Moreno, M. R., Thevelein, J. M. 2015. Looking beyond *Saccharomyces*: The potential of non-conventional yeast species for desirable traits in bioethanol fermentation. *FEMS Yeast Research*.
- Ramezani-Rad, M., Hollenberg, C. P., Lauber, J., Wedler, H., Griess, E., Wagner, C., ... Gellissen, G. 2003. The *Hansenula polymorpha* (strain CBS4732) genome sequencing and analysis. *FEMS Yeast Research*, 4(2 SPEC.ISS.).
- Reggiori, F., Klionsky, D. J. 2013. Autophagic processes in yeast: Mechanism, machinery and regulation. *Genetics*, 194(2).
- Robin, S., Petrov, K., Dintinger, T., Kujumdzieva, A., Tellier, C., Dion, M. 2003. Comparison of three microbial hosts for the expression of an active catalytic scFv. *Molecular Immunology*, 39(12).
- Saliola, M., Mazzoni, C., Solimando, N., Crisà, A., Falcone, C., Jung, G., Fler, R. 1999. Use of the KIADH4 promoter for ethanol-dependent production of recombinant human serum albumin in *Kluyveromyces lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(1).
- Sanchez-Garcia, L., Martín, L., Mangués, R., Ferrer-Miralles, N., Vázquez, E., Villaverde, A. 2016. Recombinant pharmaceuticals from microbial cells: A 2015 update. *Microbial Cell Factories*.
- Sasagawa, T., Tani, M., Basha, W., Rose, R. C., Tohda, H., Giga-Hama, Y., Inoue, M. 2005. A human papillomavirus type 16 vaccine by oral delivery of L1 protein. *Virus Research*, 110(1–2).
- Song, Y., Min, H. C., Park, J. N., Moo, W. K., Eun, J. K., Hyun, A. K., Kim, J. Y. 2007. Engineering of the yeast *Yarrowia lipolytica* for the production of glycoproteins lacking the outer-chain mannose residues of N-glycans. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(14).
- Spohner, S. C., Schaum, V., Quitmann, H., Czermak, P. 2016. *Kluyveromyces lactis*: An emerging tool in biotechnology. *Journal of Biotechnology*.

- Sudbery, P. E. 1996. The expression of recombinant proteins in yeasts. *Current Opinion in Biotechnology*, 7(5).
- Swennen, D., Paul, M. F., Vernis, L., Beckerich, J. M., Fournier, A., Gaillardin, C. 2002. Secretion of active anti-Ras single-chain Fv antibody by the yeasts *Yarrowia lipolytica* and *Kluyveromyces lactis*. *Microbiology*, 148(1).
- Tachioka, M., Sugimoto, N., Nakamura, A., Sunagawa, N., Ishida, T., Uchiyama, T., Samejima, M. 2016. Development of simple random mutagenesis protocol for the protein expression system in *Pichia pastoris*. *Biotechnology for Biofuels*.
- Takegawa, K., Tohda, H., Sasaki, M., Idiris, A., Ohashi, T., Mukaiyama, H., Kumagai, H. 2009. Production of heterologous proteins using the fission-yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) expression system. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 53(4).
- Thompson, C. A. 2010. FDA approves kallikrein inhibitor to treat hereditary angioedema. *American Journal of Health-System Pharmacy*.
- Tiels, P., Baranova, E., Piens, K., De Visscher, C., Pynaert, G., Nerinckx, W., Callewaert, N. 2012. A bacterial glycosidase enables mannose-6-phosphate modification and improved cellular uptake of yeast-produced recombinant human lysosomal enzymes. *Nature Biotechnology*, 30(12).
- Trassaert, M., Vandermies, M., Carly, F., Denies, O., Thomas, S., Fickers, P., Nicaud, J. M. 2017. New inducible promoter for gene expression and synthetic biology in *Yarrowia lipolytica*. *Microbial Cell Factories*, 16(1).
- Tripathi, N. K., Shrivastava, A. 2019. Recent Developments in Bioprocessing of Recombinant Proteins: Expression Hosts and Process Development. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*.
- Turki, S., Mrabet, G., Jabloun, Z., Destain, J., Thonart, P., Kallel, H. 2010. A highly stable *Yarrowia lipolytica* lipase formulation for the treatment of pancreatic exocrine insufficiency. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 57(4).
- Valenzuela, P., Medina, A., Rutter, W. J., Ammerer, G., Hall, B. D. 1982. Synthesis and assembly of hepatitis B virus surface antigen particles in yeast. *Nature*, 298(5872).
- Van Den Berg, J. A., Van Der Laken, K. J., Van Ooyen, A. J. J., Renniers, T. C. H. M., Rietveld, K., Schaap, A., ... Shuster, J. R. 1990. *Kluyveromyces* as a host for heterologous gene expression: Expression and secretion of prochymosin. *Bio/Technology*, 8(2).
- Van Dijk, R., Faber, K. N., Kiel, J. A. K. W., Veenhuis, M., Van Der Klei, I. 2000. The methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*: A versatile cell factory. *Çinde Enzyme and Microbial Technology* (C. 26).
- Walsh, G. 2010a. Biopharmaceutical benchmarks 2010. *Nature Biotechnology*.

- Walsh, G. 2010b. Post-translational modifications of protein biopharmaceuticals. *Drug Discovery Today*.
- Walsh, G. 2014. Biopharmaceutical benchmarks 2014. *Nature Biotechnology*.
- Xu, S., Zhang, G. Y., Zhang, H., Kitajima, T., Nakanishi, H., Gao, X. D. 2016. Effects of Rho1, a small GTPase on the production of recombinant glycoproteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*, 15(1).

BÖLÜM 7

YÜKSEK ENTROPİ ALAŞIMLARINA GENEL BAKIŞ

Nuri ERGİN¹

Necati KOÇAK²

Özkan ÖZDEMİR³

Mehmet UYSAL⁴

1 Dr. Öğr. Üyesi Nuri ERGİN, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Sakarya Türkiye, nergin@subu.edu.tr, ORCID ID: 0000-0001-9025-9419

2 Arş. Gör. Necati KOÇAK, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Sakarya Türkiye, necatikocak@subu.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-0768-3479

3 Prof. Dr. Özkan ÖZDEMİR, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Sakarya Türkiye, oozdemir@subu.edu.tr, ORCID ID: 0000-0003-2366-8196

4 Doç. Dr. Mehmet UYSAL, Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Sakarya Türkiye, mehmetu@sakarya.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-9396-7450

1. GİRİŞ

Geçmişten günümüze insanoğlu toplumun gereksinimlerini en iyi şekilde karşılamak amacıyla altın ve bakır gibi saf metallerin keşfedilmesiyle başladığı malzeme bilimine ilk alaşımlama süreci olarak değerlendirilen Bronz çağında bakır ve arsenik keşfi ile sürdürmüş, daha sonra kademeli olarak ikili (ör. Fe-C), üçlü (ör. Ni-Co-Al), dörtlü (ör. Ni-Co-Al-Cr), beşli (örneğin Ni-Fe-Cr-Ti-Al) ve daha yüksek dereceli alaşımları geliştirmiştir [1-4]. Metalurjinin insanlığa en büyük armağanı olarak kabul edilen alaşımlama, ana metale farklı katkıları yapılarak esas metalin başta mekanik olmak üzere özelliklerinin geliştirilmesi işlemidir [2,5]. Alaşımlar, mevcut çağın ihtiyacına ve insanlığın teknolojiyi kullanma kabiliyetine bağlı olarak basitten karmaşık bileşimlere doğru değişim göstermiştir. Sonuçta her geliştirilen alaşım sahip olduğu fonksiyonları ve performansları ile malzeme ve medeniyet düzeyi arasındaki ilişkiyi daha belirgin hale getirmektedir. Malzemelerde temel özelliklerin yanında ikincil özelliklere artan ihtiyaç yeni malzeme geliştirilmesi için geleneksel çıtanın ötesine geçilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu durum, mühendislik özelliklerinin iyi bir dengesiyle paslanmaz çelikler, yüksek hız takım çelikleri ve süper alaşımlar gibi birçok özel alaşımın başarılı bir şekilde elde edilmesine yol açmıştır [6,7]. Metalurjik alaşımları geliştirmek için geleneksel anlayış, ana bileşeni birincil özellik gereksinimine göre seçmek ve alaşım elementlerini ikincil özellik kazandırmak için sisteme dahil etmektir [8]. Ancak bu tasarım anlayışı geliştirilebilecek alaşım miktarını, dolayısıyla da fonksiyonel özelliklere sahip malzeme sayısını sınırlandırmaktadır [9]. Bu strateji süper alaşımlar, paslanmaz çelikler gibi tek bir ana bileşene dayalı birçok, çok bileşenli alaşımın geliştirilmesini sağlamıştır. Geleneksel alaşım geliştirme stratejisi ile bir bileşene dayalı alaşımlar hakkında muazzam bilgi birikimi mevcutken, yaklaşık olarak eşit oranlarda birkaç ana bileşen içeren alaşımlar hakkında çok az bilgiye ulaşılabilmektedir [8]. Birkaç istisna dışında, bir birincil elemente nispeten küçük miktarlarda ikincil elementler eklemeye yönelik temel alaşımlama stratejisi binlerce yıldır değişmeden kaldığından alaşım isimleri bile demir alaşımları, alüminyum alaşımları, titanyum alaşımları, nikel alaşımları gibi ana bileşimin ismi ile adlandırılmaktadır [10].

Geleneksel alaşımlar, özellikle yapısal uygulamalar için nispeten eski bir teknoloji olarak kabul edilmektedir. Tipik olarak bu tür alaşımlar, toplam kütleinin ağırlıkça % 80'ini veya daha fazlasını oluşturan bir temel element üzerine kurgulanmıştır. Tek bir bileşimde 12 farklı element içeriğine sahip süper alaşımlarda bile, ana element genellikle kompozisyonun % 50'sinden fazlasını oluşturmaktadır [11]. Özellikle

havacılık endüstrisi başta olmak üzere mühendislik alanındaki son gelişmeler, geleneksel mühendislik malzemelerinin yerine mikroyapısal, mekanik ve kimyasal kararlılık gibi üstün özellikler sergileyen, servis şartlarında dinamik yükler altında kusursuz çalışan alternatif malzemelerin geliştirilmesi gerektiğini ön plana çıkarmıştır [12,13]. Geleneksel alaşım konseptinde bu özelliklerin birden fazlasını bir arada elde etmek oldukça zordur. Bu nedenle, çalışmalar son zamanlarda katı çözelti fazlarının oluşumu beş veya daha fazla temel elemente dayanan yüksek entropili alaşımlara (YEA) odaklanmıştır [12]. Eş molar, eş atomik oranlı, çok elementli veya çok bileşenli alaşımlar gibi isimlerle de adlandırılan Yüksek Entropili Alaşımları; benzersiz bileşenleri, farklı mikroyapıları ve istenilen nitelikte kurgulanabilir özellikleri ile malzeme bilimindeki son ve ümit verici keşiflerden biridir [14,15].

Yeni nesil performans malzemesi olarak değerlendirilen ve ilk olarak 2004 yılında yeni bir malzeme grubu olarak ortaya çıkan Yüksek Entropi Alaşımları (YEA), her biri %5 ile %35 arasında bir konsantrasyona sahip beş veya daha fazla ana elementin eşit veya eşite yakın oranlarda katı eriyik şeklinde oluşturdukları alaşımlardır. Yüksek Entropi Alaşımları, başta yüksek entropi etkisi olmak üzere latis distorsiyonu, yavaş difüzyon ve kokteyl etkisi sayesinde kararlı bir mikroyapı sergilemekte ve genel olarak yüksek aşınma direnci, olağanüstü düşük sıcaklık sünekliği, süper paramanyetizma, mükemmel korozyon ve oksidasyon direnci, yüksek sertlik, mükemmel yapısal ve termal kararlılık gibi özelliklerle ön plana çıkmaktadır. Metalurji, malzeme bilimi ve alaşımlama üzerine yeni araştırma-geliştirme çalışmalarıyla ortaya çıkan “Yüksek Entropili Alaşım” konsepti, bir veya iki ana elementten oluşan geleneksel alaşımlarla karşılaştırıldığında, katı çözeltiyi intermetaliklere karşı dengeleyen eş-atomik veya yakın eş-atomik bileşim özelliklerine bağlı olarak daha yüksek karışım entropisine sahiptir ve geleneksel alaşımlarla elde edilemeyecek özellikteki alaşımların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

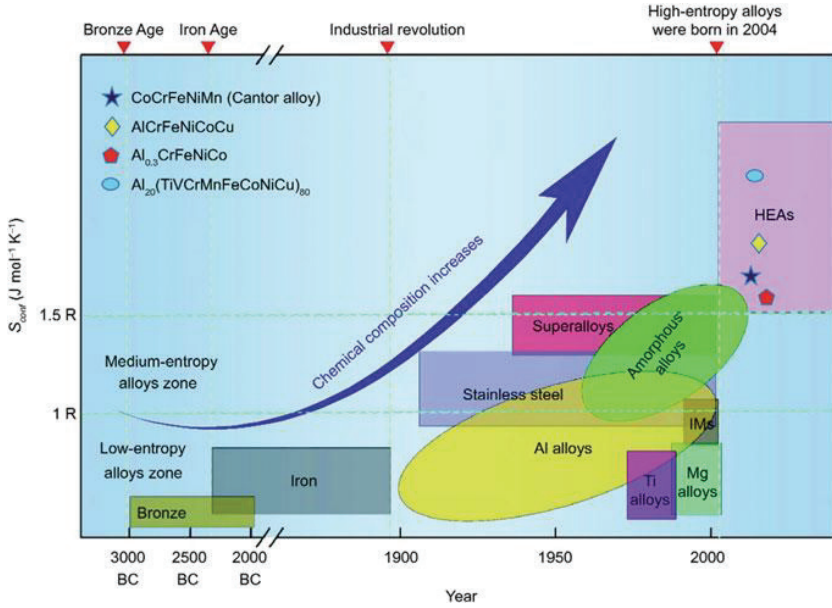
Yüksek Entropili Alaşımları, günümüzde yapısal (refrakter, biomedikal, inşaat) ve fonksiyonel (elektronik, manyetik, termo-elektrik, superiletken) uygulamalar için yeni malzemelerin geliştirilmesi gayesiyle üzerinde durulan alaşım türüdür. Hem oda sıcaklığında hem de yüksek sıcaklıklarda yüksek mekanik kararlılık (sertlik ve mukavemet), yüksek sıcaklık kararlılığı, mükemmel mukavemet özellikleri (nihai çekme dayanımı ve süneklik), mükemmel refrakter özellik (aşırı ortamlarda aşınma ve korozyon direnci) gibi çok sayıdaki ilgi çekici sistemler hali hazırda tasarlanmış bulunmaktadır. Yaklaşık olarak 37 ana elementin kombinasyonlarıyla, dünya genelinde laboratuvar ortamında 600'den fazla tür YEA sisteminin geliştirildiği bilinmektedir [16-21].

1.1 Tarihçe

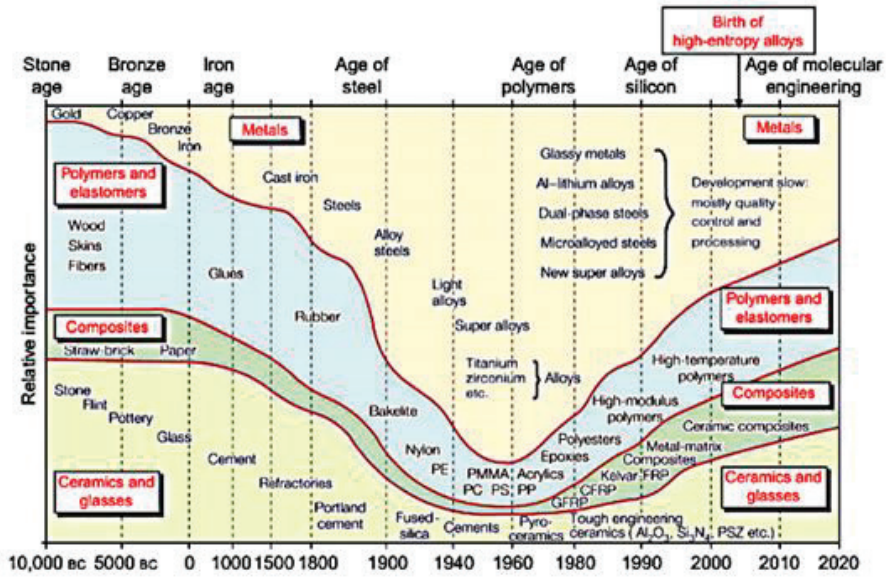
Medeniyet tarihi incelendiğinde eski insanlar ilk olarak taş, ahşap, deri, kemik, altın, gümüş, bakır gibi doğal metalleri yani üç temel malzeme grubunu oluşturan seramikler, polimerler ve metalleri kullanmaya başlamışlar, daha sonra ihtiyaçlara bağlı olarak bakır, kalay, kurşun, civa ve demir elementlerinin cevherlerini indirgeyerek bu malzemelerin kombinasyonlarını kullanmayı tercih etmişlerdir [6]. M.Ö. 3000 yıllarda mağaralardaki ilkel yangınlarda bakır cevherleri arsenik, çinko ve kalay cevherleri ile karışması sonucu ilk bakır ve arsenik alaşımı elde edilmiş, böylece alaşımlama tesadüfi olarak keşfedilmiştir. M.Ö. 2500'lü yıllarda insanoğlu kalay bronzlarını bilinçli olarak üreterek döneme adını verdiği Bronz Çağına geçmiştir. Sharada Srinivasan'ın Nilgiris ve Adichanallur'un (M.Ö. 1000) Güney Hindistan megalitlerinden gelen gemiler üzerinde yaptığı arkeo-metalurjik araştırmalar, bilinen en eski eserler arasında yer alan işlenmiş ve yüksek kalaylı beta bronzdan yapıldığını göstermekte ve antik çağda bakır-kalay intermetalik alaşımlarının kullanıldığını gözler önüne sermektedir [2]. Çağın gerektirdiği ihtiyaçlar esas alınarak malzeme üzerindeki gelişmeler devamlı olarak sürdürülmüş ve belirli periyotlarda ilerlemeler daha büyük oluşumlarla gerçekleşmiştir. 1750'li yıllarda İngiltere'de başlayan Birinci Sanayi Devrimi'nden sonra yeni elementlerin çeşitli teknolojilerle keşfedilmesi, üretilmesi, yeni alaşımlar kademeli olarak geliştirilmesi ve bu malzemelerin genel veya spesifik alanlarda uygulanması malzeme biliminde önemli ilerlemeleri beraberinde getirmiştir. Bu süreçte her biri bir ana metal ve alaşım elementleri ilaveleri ile oluşturulan yüksek hızlı çelikleri, Stellite alaşımları, paslanmaz çelikler, alüminyum alaşımları, permalamaşım, Cu-Be alaşımları, süper alaşımlar ve titanyum alaşımları gibi yaklaşık 30 alaşım sistemi geliştirilmiş ve ticarileştirilmiştir. Yirminci yüzyılın ortalarından itibaren Ni-Al, Ti-Al ve Fe-Al metaller arası bileşikler ve özel uygulamalar için alaşımlar ve metalik camlar yeni geliştirilen alaşımlar arasında yer almıştır [6].

Yüksek Entropi Alaşımları (YEA) son yıllarda geliştirilen alaşım türü olup Yeh ve arkadaşları tarafından ilk olarak 2004'te yüksek entropi alaşımları olarak tanımlanmıştır, aynı yıl Cantor ve ekibi tarafından çok bileşenli alaşım olarak ismedilmiştir. Yüksek entropi alaşımı kavramı, insanların çok yüksek cam oluşturma kabiliyetine sahip alaşımlar aradıkları 1990'larda dökme amorf alaşımların geliştirilmesine dayanmaktadır [22]. Malzemelerin gelişimine rehberlik eden en önemli yasa entropinin artmasıdır. Saf bakırdan, dökme demire, alüminyum-magnezyum alaşımlarına, amorf alaşımlara ve 2004 yılında gün yüzüne çıkan yüksek entropi alaşımlarına kadar malzemelerin oluşum mekanizmaları ve prensipleri sistemsel olarak giderek daha karmaşık hale

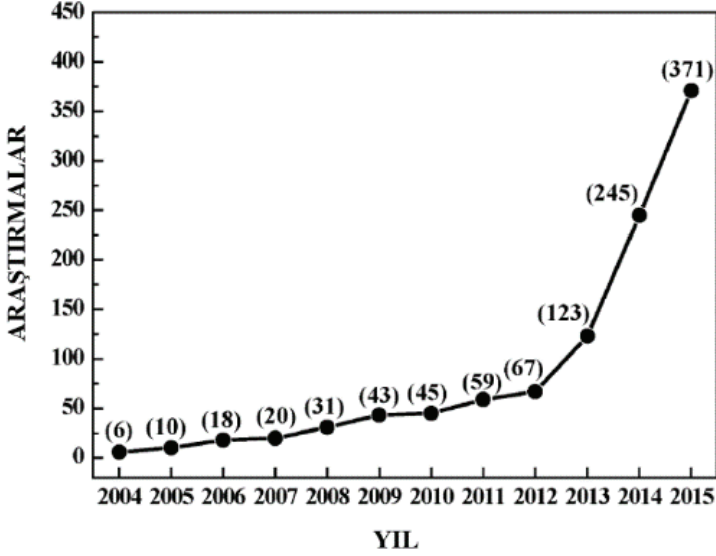
gelmiştir [23]. Çoklu ana element alaşımları ve yüksek entropi alaşımları hakkındaki ilk sonuçlar aynı yıl yayımlanmasına rağmen arka plan çalışmaları çok daha eskilere dayanmaktadır [22]. 18. yüzyılın sonlarında, Franz Karl Achard beş ile yedi element içeren çok bileşenli eşit kütle alaşımları üzerine çalışma yapan ilk bilim adamı olarak literatüre geçmiştir. Yüksek Entropi Alaşımları ile ilgili araştırmaların öncülerinden biri olarak görülen Jien-Wei Yeh 1970'lerin sonunda bir lisans tezi, 1998'de başka bir lisans projesi gerçekleştirilmesini sağlamış, 2002'de yaptığı bu çalışmaları konferansta sunarak, sonrasında yayına dönüşmüştür [22]. 20. yüzyılın sonlarına doğru Birleşik Krallık'ta Brian Cantor ve Tayvan'da Jien-Wei Yeh birbirlerinden bağımsız olarak yepyeni bir alaşım konsepti olan YEA üzerine iki farklı araştırma tezi sunarak klasik alaşım anlayışına bir farkındalık getirmişlerdir [2]. 1996'da bir dizi tez olarak başlayan YEA çalışmaları, 2004'te "Yüksek Entropi Alaşımları" ve "Çoklu Ana Element Alaşımları" terimlerinin her ikisinin de tanıtıldığı beş yayına dönüştürülmüştür. Bu modern yayınlar literatüre kazandırılmadan önce büyük katkısı olan ve YEA'nın yapı taşı olarak kabul edilen eserlerden bahsetmek gerekirse, bir çalışmada eşit kütlelerde 7'ye kadar metalik elementten oluşan karışımların temel özellikleri rapor edilmiş ve 11 farklı elementten alınan 900'den fazla alaşım karakterize edilmiştir. İkinci bir tarihsel çalışmada, çoklu ana element alaşım konsepti metalik camlara uygulanmış, bilinen bir metalik cam alaşımında kimyasal olarak benzer elementlerin eşmolar yer değişimi vurgulanmıştır [22]. Yüksek entropi alaşımları üzerine yapılan çalışmaların sayısının artmasıyla, ilk yapılan tanımlamaların kısmen değiştiği, her bir elementin katkısı ve element sayısı için gereksinimlerin giderek gevşetildiği, şu anda dördü eş molar veya eş molar olmayan dördü alaşımların YEA olarak tanımlandığı ve bazı kaynaklarda YEA'da küçük miktarlarda intermetalik bileşiklerin varlığının kabul edilebilir olduğu görülmektedir [24]. Şekil 1.1 de, insanoğlunun son 10.000 yıldır kullanmış olduğu malzemelerin panoramik bir görünümü verilmekte ve YEA üretimi gerçekleştirilene kadar geçen zamanda seramikten metallere, polimerlerden kompozitlere kadar farklı malzeme türleri gösterilmektedir.



Şekil 1.1 Entropi Malzeme Kullanımının Zamana Göre Değişimi [22]



Şekil 1.2 Mühendislik malzemelerinin tarihsel gelişimi [24]



Şekil 1.3 2015 yılı sonuna kadar YEA'nın gelişimi ve ilgili araştırma çalışmaları [24]

2003-2004 yıllarında Tayvan'da Jien-Wei Yeh, Birleşik Krallık'ta Brian Cantor ve Hindistan'da S. Ranganathan tarafından yapılan araştırmalarla dünya literatürüne kazandırılan YEA, henüz araştırılmamış çok çeşitli yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahip sayısız yeni metalik alaşım potansiyeli ile ilgi çekmeye devam etmektedir [25]. Yaklaşık 37 ana elementin kombinasyonlarıyla elde edilecek YEA'nın üretilebilirliği, yapısal, fonksiyonel ve mekanik özelliklerinin incelenmesi, yapılacak katkılarla özelliklerinin geliştirilmesi uzun yıllar üzerinde çalışılacak araştırma konusu olarak değerlendirilmektedir [6].

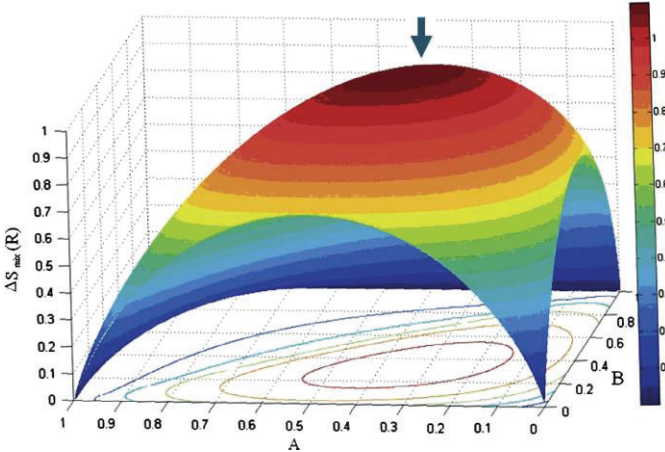
1.2 Yüksek Entropi Tanımı

Yüksek entropi alaşımları, geleneksel alaşımların aksine istisnai yüksek konfigürasyonel entropisi (en düşük Gibbs serbest enerjisi) nedeniyle tek fazlı bir yapının elde edileceği, eşit veya eşit atomlu bileşimlerde iki veya daha fazla ana elementin bulunduğu yeni bir alaşım tasarım konsepti olarak ortaya çıkmıştır [26]. Eşmolar veya eşmolara yakın elementel oranlara sahip birden çok temel element sisteme dahil edilerek tasarlanan yüksek entropi alaşımları, yüksek karıştırma entropi etkisiyle karmaşık fazlar veya intermetalik bileşikler yerine düzensiz katı çözeltiler oluşturma eğilimindedir [27]. Bu tür özel bir mikroyapı,

YEA'nın mükemmel özelliklere sahip olmasını sağlamaktadır [28]. YEA'nın basit yapıları, sert kafes distorsiyonu ve yavaş difüzyon kinetikleri sayesinde sahip olduğu benzersiz doğası, yüksek mukavemet, yüksek sıcaklıklarda mükemmel mekanik özellikler, yüksek yorulma mukavemeti ve iyi aşınma özellikleri gibi birçok üstün özellik sergilemektedir [29]. Bu tür benzersiz yapısal özellikler, büyük kafes distorsiyonundan ve sisteme dahil edilen birden fazla bileşenin yavaşça yayılmasından kaynaklanmaktadır [30]. Mekanik özelliklerin yanı sıra, YEA'ların geniş bileşim alanı, biyolojik uyumluluk, korozyon direnci veya manyetik davranış gibi ikincil özellikleri optimize etmek için sayısız olasılık bulunmaktadır. Korozyona dirençli yüksek performanslı YEA'lar, geleneksel malzemeler için yüksek entropi kaplamalar veya oldukça aktif, kararlı ve seçici yüksek entropi katalizörler tasarlamak için elementlerin konsantrasyonu belirli yüzey yapıları elde edecek şekilde ayarlanabilmektedir [31].

1.3 Yüksek Entropi Alaşımlarının Termodinamiği

Termodinamik temel olarak malzemelerin fiziksel özelliklerini ve ısı yayılımını tanımlayan sıcaklık, hacim ve basınç gibi makroskopik değişkenler arasındaki ilişkisini ele alan bilim dalıdır. Kimyasal termodinamik, kimyasal reaksiyonlarda entropinin rolünü incelemektedir. İstatistiksel termodinamik veya istatistiksel mekanik, mikroskobik davranışlarının mekaniğine dayanan parçacıkların toplu hareketinin istatistiksel tahminleriyle makroskopik termodinamiğin açıklamalarını vermektedir [32].



Şekil 1.4 Bileşim değişikliğine sahip dördü alaşım sistemi için ΔS_{mix} 'in çizimi [32]

Şekil 1.4'de gösterildiği gibi alaşım eşit atom oranına sahip olduğunda entropi maksimuma ulaşmaktadır. Bu sayede daha kararlı yapı elde edilmektedir [38]. Entropi, enerji dönüşüm cihazlarında, motorlarda veya makinelerde olduğu gibi, bir süreçte mevcut enerjiyi belirlemek için kullanılabilen termodinamik bir özelliktir. Entropinin tanımına bakılacak olursa;

$$\Delta S = \frac{\Delta Q}{T}$$

S entropi, Q ısı akışı ve T mutlak sıcaklığı ifade etmektedir.

Entropinin istatistiksel-mekanik tanımı, 1870'lerde Ludwig Boltzmann tarafından ve sistemin mikroskobik bileşenlerinin istatistiksel davranışını analiz ederek geliştirilmiştir. Boltzmann'ın hipotezi, bir sistemin entropisinin, bir makro durumun oluş sıklığının logaritması veya daha kesin olarak, bir sistemin makroskopik durumuna karşılık gelen olası mikro durumların sayısı, W ile doğrusal olarak ilişkili olduğunu belirtmektedir:

$$S = k \cdot \ln W$$

burada $k = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J / K}$, Boltzmann sabitidir ve logaritma, "e" doğal temel olarak alınmaktadır [15].

Termodinamik olarak yüksek entropi alaşımı oluşumuna izin veren ana faktör, karışımın konfigürasyonel entropisidir, bu prensip sayesinde büyük ölçüde yüksek entropili basit fazların alaşımını oluşturmak mümkündür, bu etki termodinamiğin ikinci yasasına dayanmaktadır [33].

$$\Delta G_{\text{mix}} = \Delta H_{\text{mix}} - T \Delta S_{\text{mix}}$$

ΔG_{mix} Gibbs serbest karıştırma enerjisi, ΔH_{mix} karıştırma entalpisi, ΔS_{mix} karıştırma entropisi ve T mutlak sıcaklıktır. Denklemden, ΔH_{mix} sabit tutulursa, daha yüksek bir karıştırma entropisinin daha düşük bir Gibbs serbest enerjisine yol açacağı ve alaşım sistemini daha kararlı hale getireceği görülmektedir [33].

Yüksek entropi alaşımının orjinal ve en sık kullanılan tanımı, % 5-35 aralığında konsantrasyonlara sahip en az beş alaşım elementinden meydana geldiğidir. Bu kriterler, alaşımın konfigürasyonel entropilerinin, kararlı katı çözeltilerle sonuçlanan, intermetalik fazların oluşum entropilerinin üstesinden gelmek için yeterince yüksek olacağı bileşimsel aralığı tanımladıkları için seçilmiştir.

Her biri mol fraksiyonları X_i 'ye sahip n bileşen içeren bir çözüm için konfigürasyon ΔS_{konf} entropisi; [34]

$$\Delta S_{\text{konf}} = -R \sum_{i=1}^n X_i \ln X_i$$

Tablo 1.1 13'e kadar bileşenden oluşan eşit atomlu alaşımlar için R cinsinden ideal konfigürasyon entropileri [6]

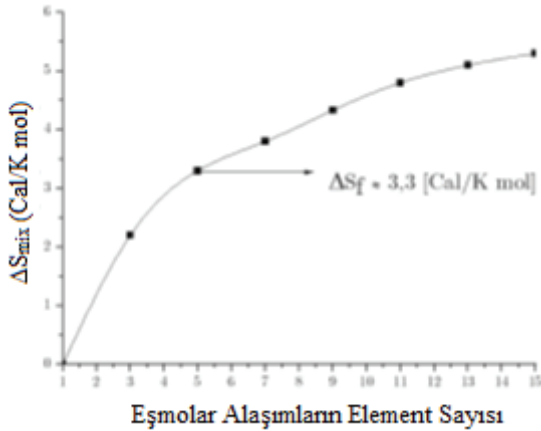
n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ΔS_{konf}	0	0,69	1,1	1,39	1,61	1,79	1,95	2,08	2,2	2,3	2,4	2,49	2,57

Sıvı halde veya normal katı çözelti halindeki bir eşit atomik alaşımın mol başına konfigürasyonel entropisi hesaplanırsa;

$$\Delta S_{\text{konf}} = -k \ln w = -R \left(\frac{1}{n} \ln \frac{1}{n} + \frac{1}{n} \ln \frac{1}{n} + \dots + \frac{1}{n} \ln \frac{1}{n} \right) = -R \ln \frac{1}{n} = R \ln n$$

n

Tablo 1.1, eş atomlu alaşımların konfigürasyon entropilerini gaz sabiti R cinsinden listelemektedir. Konfigürasyonel entropi, eleman sayısı arttıkça artmaktadır [6].



Şekil 1.5 Karışımın konfigürasyonel entropisinin Boltzmann yaklaşımına göre değişimi [33]

Atomik büyüklük farkından kaynaklanan gerinim enerjisi etkisi dikkate alınmazsa, kimyasal bağlanmadan kaynaklanan karıştırma entalpisi ve karışım entropisi, denge durumunu belirleyen iki ana faktördür. Negatif karıştırma entalpisinin (bileşikler oluşturmak için itici

güç) aksine pozitif karıştırma entropisi (ayrılmış bir durum oluşturmak için itici güç) rastgele bir katı çözelti oluşturmak için itici güçtür. Bu nedenle gerçek denge durumu değerlerin arasındaki farklılığa bağlıdır. Örnek verilecek olursa, NiAl ve TiAl gibi iki tipik güçlü intermetalik bileşiğin, oluşum entalpilerinin ilgili erime noktalarına bölünmesi ile sırasıyla 1.38R ve 2.06R değerleri elde edilmektedir. Bu, güçlü bileşikler oluşturmak için itici gücün bu düzende olduğu anlamına gelmektedir. Öte yandan, Cr-Cu ve Fe-Cu oluşum entalpisi sırasıyla 12 ve 13 kJ / mol'dür. Oluşum entalpilerinin Cu'nun erime noktasına bölünmesi sırasıyla 1.06 R ve 1.15 R'yi elde edilmektedir. Bu nedenle, mol başına 1.5 R'lik karıştırma entropisinin, karıştırma entalpisinden nispeten büyük olduğu ve katı çözeltiler oluşturma olasılığının daha yüksek olduğu söylenebilir. Tablo 1.1'de gösterilen, 5 elementli bir alaşımın ideal konfigürasyon entropisi 1,61 R'dir. Yukarıdaki değerlendirmelere dayanarak, “yüksek entropi alaşımları” için iki tanım yapılabilir. Biri kompozisyona, diğeri konfigürasyonel entropiye dayanmaktadır. İlki için, Yüksek entropi alaşımları tercihen her biri % 5 ile % 35 arasında atomik yüzdeye sahip en az beş temel element içeren alaşımlar olarak tanımlanır. Her küçük elementin atomik yüzdesi, eğer varsa, % 5'ten azdır. Bu tanım şu şekilde ifade edilir:

$$n_{\text{büyük}} \geq 5 \quad \%5 \leq X_i \leq \%35 \quad \text{ve} \quad n_{\text{küçük}} \geq 0 \quad X_j \leq \%5,$$

Burada büyük ve küçük, sırasıyla ana elemanların ve küçük elemanların sayısıdır. X_i ve X_j , sırasıyla ana element i ve küçük element j 'nin atomik yüzdelere sahiptir.

Yüksek entropi alaşımları için yapılan bir diğer tanım, oda sıcaklığında tek fazlı veya çok fazlı olmalarına bakılmaksızın 1.5 R'den daha büyük bir konfigürasyonel entropilere sahip alaşımlar olarak nitelendirilmektedir. Bu şu şekilde ifade edilir:

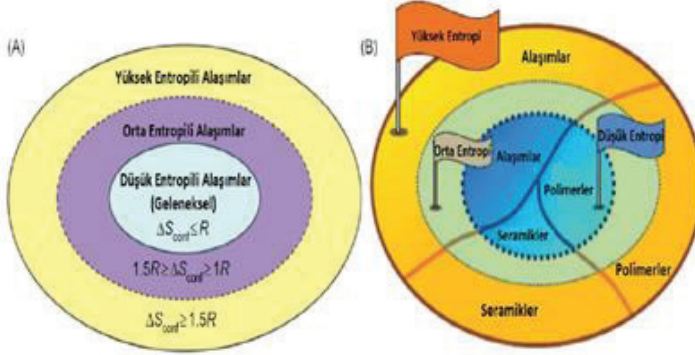
$$\Delta S_{\text{konf}} \geq 1.5R$$

Her iki tanımda geniş bir alaşım yelpazesini kapsasa da çoğunlukla birbirleri ile örtüşmektedir. Örtüşmeyen bölgelerdeki kompozisyonlar da Yüksek entropi alaşımı olarak kabul edilmektedir. İstisnalar göz önüne alınarak örneklendirilecek olunursa, atomik oran (veya molar oran) olarak $\text{CoCrCu}_{0.2}\text{Fe}_{0.2}\text{Ni}$ alaşımı, bileşim tanımına göre yüksek entropi alaşımıdır, çünkü atomik yüzde olarak $\text{Co}_{29.4}\text{Cr}_{29.4}\text{Cu}_{5.9}\text{Fe}_{5.9}\text{Ni}_{29.4}$ 'tür. Bununla birlikte, konfigürasyonel entropileri yaklaşık 1.414 R'dir ve bu, yüksek entropi tanımına uymamaktadır. Başka bir örnek olarak 25 elementli eşmolar bir alaşım verilebilir. Bileşiminde her bir elementin konsantrasyonu %4 olmasına rağmen, konfigürasyonel entropi 3.219 R olduğundan bu alaşım da

yüksek entropi alaşımı olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle, iki tanımdan sadece birine uyan bir bileşime sahip bir alaşım yüksek entropi alaşımı olarak kabul edilmektedir. Kuaterner (dörtlü) eşmolar alaşım olan CoCrFeNi incelenecek olursa, bileşimi ve konfigürasyonel entropisi her iki tanımın da alt sınırlarına yakın olduğundan literatürde genellikle yüksek entropi alaşımı olarak kabul edilmektedir. Dolayısıyla yüksek entropi alaşımının tanımları kesin değiştirilemez kanunlar değil birer yol gösteren kılavuzlardır [6]. Tablo 1.2, tipik geleneksel alaşım için sıvı hallerde veya rastgele hallerde hesaplanan konfigürasyon entropilerini vermektedir. Bu tablo, çoğu alaşımın düşük entropiye sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca Ni bazlı, Co bazlı süper alaşım ve metalik camlar (BMG) gibi bazı konsantre alaşım 1 ile 1.5 R arasında orta entropilere sahiptir. Şekil 1.5, konfigürasyonel entropiye dayalı alaşım dünyasındaki alaşım türlerini göstermektedir[35].

Tablo 1.2 Sıvı hallerinde veya rastgele hallerinde tipik geleneksel alaşım için hesaplanan yapılandırma entropileri [35]

Sistemler	Alaşım	ΔS_{konf} Sıvı Halde
Düşük Alaşım Çelikler	4340	0.22 R düşük
Paslanmaz Çelikler	304	0.96 R düşük
	316	1.15 R orta
Yüksek Hız Çelikleri	M2	0.73 R düşük
Mg Alaşım	AZ91D	0.35 R düşük
Al Alaşım	2024	0.29 R düşük
	7075	0.43 R düşük
Cu Alaşım	7-3 Pirinç	0.61 R düşük
Ni Esaslı Süperalaşım	İnconel 718	1.31 R orta
	Hastelloy X	1.37 R orta
Co Esaslı Süperalaşım	Stellite 6	1.13 R orta
Metalik Camlar	$\text{Cu}_{47}\text{Zr}_{11}\text{Ti}_{34}\text{Ni}_8$	1.17 R orta
	$\text{Zr}_{53}\text{Ti}_5\text{Cu}_{16}\text{Ni}_{10}\text{Al}_{16}$	1.30 R orta



Şekil 1.6 Konfigürasyonel entropiye göre a) alaşım dünyası ve b) malzeme dünyası (kompozit malzemeler hariç) [35]

Şekil 1.6'da görüldüğü üzere $1.5 R$ yüksek ve orta entropili alaşımlar için sınır değeri olarak belirtilirken $1 R$ düşük entropili ve orta entropili sistemler için bir ayırım noktası olarak kabul edilmektedir. Çünkü $1 R$ 'den küçük bir karışım entropisinin bu güçlü bağlanma enerjilerine sahip olması beklenilmemektedir [35].

1.5 Yüksek Entropi Alaşımlarının Alaşım Tasarımı

Beş temel elemente ve eşit atomik oran bileşimlerine sahip tüm alaşımların yüksek entropi alaşım katı eriyikleri oluşturamayacağı doğrulanmıştır. Yalnızca dikkatlice seçilmiş bileşimler HMK ve YMK katı eriyikleri oluşturabilir. Bugüne kadar hegzagonal sıkı paketli (HSP) yapılandırılmış yüksek entropi alaşımları hakkında herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Bunun bir nedeni muhtemelen bir HSP yapısının periyodik tablodaki saf elementler için genellikle düşük sıcaklıklarda stabil yapı olması ve yüksek sıcaklıklarda YMK veya HMK'ya dönüşebilmesinden dolayıdır. Yüksek entropi alaşımlarının katı çözümlerinin çoğu, dördüncül ve daha yüksek sistemlerde faz diyagramı olmadığından deneme yanılma deneyleri ile tanımlanmaktadır. Bu nedenle, deneme yanılma yaklaşımı, yüksek performanslı yüksek entropi alaşımlarını geliştirmenin ana yoludur. Bununla birlikte, Yüksek entropi alaşımlarının faz oluşumunu geleneksel katı çözümler için Hume Rothery kuralına benzer şekilde tahmin etmek için bazı parametreler önerilmektedir. Temel termodinamik denklem durumları:

$$G = H - TS$$

Burada H entalpi, S entropi, G Gibbs serbest enerjisi ve T mutlak sıcaklıktır. Denklemden TS terimi yüksek sıcaklıklarda önemli hale gelecektir. Bu nedenle, sıvı ve gazdan YEA'ların hazırlanması, farklı türde bilgiler sağlayacaktır [15].

1.6 Yüksek Entropi Alaşımlarını Etkileyen 4 Temel Unsur

Geleneksel alaşımlardan farklı olan yüksek entropi alaşımları, her bir bileşenin eşmolar konsantrasyonundan dolayı karmaşıktır. Yeh [36], Yüksek entropi alaşımları için başlıca dört temel etkiyi özetlemiştir;

- (1) Termodinamik: yüksek entropi etkileri;
- (2) Kinetik: yavaş yayılma;
- (3) Yapılar: şiddetli kafes distorsiyonu;
- (4) Özellikler: kokteyl efektleri.

1.6.1 Yüksek entropi etkisi

Katı çözeltiler gibi yüksek entropi fazlarını dengeleme eğiliminde olan yüksek entropi etkileri ilk olarak Yeh tarafından önerilmişti. Faz diyagramlarının merkezinde yer alan eşit veya eşite yakın atomlu alaşım bileşimleri için intermetalik fazların oluşmasının bekleniyor olması kabul edilebilir nitelikte değildi. Gibbs faz kuralına göre, denge koşulunda sabit basınçta belirli bir alaşımdaki fazların (P) sayısı:

$$P = C + 1 - F$$

Burada C bileşen sayısını ve F sistemdeki maksimum termodinamik serbestlik derecesini ifade etmektedir. Belirli bir basınçta 6 bileşenli bir sistem olması durumunda, değişmeyen bir reaksiyonda maksimum 7 denge fazı beklenebilir. Ayrıca yüksek entropi alaşımları, intermetalik fazlar yerine katı çözeltiler oluşturma eğilimindedir. Bu, eşit molar orandaki tüm çoklu bileşenlerin faz diyagramının merkezinde katı çözeltiler oluşturacağı anlamına gelmemektedir. Aslında, yüksek entropi alaşımı oluşum kriterlerini karşılayan yalnızca dikkatle seçilmiş bileşimler, intermetalik fazlar yerine katı çözeltiler oluşturacaktır [36].

Klasik fiziksel metalurji teorisine göre katı çözeltiler, çözücü adı verilen ve çözünen maddeler olarak adlandırılan diğer küçük elementleri içeren bir faza dayanmaktadır. Yüksek entropi alaşımlarında,

çözücüü çözünen maddeden ayırmak, eşit molar kısımları nedeniyle oldukça zordur. Pek çok araştırmacı, çoklu ana element alaşımlarının yalnızca hacim merkezli kübik (HMK) veya yüzey merkezli kübik (YMK) katı çözeltilerin basit fazlarını oluşturabildiğini ve oluşan faz sayısının maksimum faz sayısından çok daha az olduğunu ve buna da Gibbs faz kuralından kaynaklandığını rapor etmişlerdir. Bu özellik aynı zamanda alaşımların yüksek entropisinin, elementler arasındaki çözelti sınırlarını genişletme eğiliminde olduğunu ve bu da yüksek entropi etkilerini daha da doğrulayabileceğini göstermektedir [36].

Yüksek entropi etkisi esas olarak çoklu ana element katı çözeltilerini açıklamak için kullanılmaktadır. Maksimum entropi üretim ilkesine göre, yüksek entropi; intermetalik fazlardan ziyade yüksek entropi fazlarını, yani katı çözelti fazlarını stabilize etme eğilimindedir. İntermetalikler genellikle daha düşük konfigürasyonel entropiye sahip sıralı fazlar olup stokiyometrik intermetalik bileşikler için konfigürasyon entropisi sıfır olarak kabul edilir [36].

Yüksek entropi alaşımları adından da anlaşılacağı gibi, yüksek entropi ilk önemli çekirdek etkidir. Bu etki, çözelti fazlarının oluşumunu artırabilir ve mikroyapıyı önceden beklenenden çok daha basit hale getirebilir. Dolayısıyla bu etki, çözelti sertleşmesine bağlı olarak çözelti fazlarının mukavemetini ve sünekliğini artırma potansiyeline sahiptir. Elementel faz, bir faz diyagramının saf bileşen tarafında görüldüğü gibi, bir metale dayanan uç katı çözelti anlamına gelmektedir. Metaller arası bileşik, faz diyagramlarında belirli konsantrasyon oranlarında görüldüğü gibi B2 yapısına sahip NiAl ve D0₂₄ yapısına sahip Ni₃Ti gibi özel üst sınırlara sahip stokiyometrik bileşikler anlamına gelmektedir. Katı çözelti fazı rastgele olarak bölünebilir ve katı çözelti düzenlenebilir. Rastgele katı çözeltiler, kısa mesafeli düzende olsa da, farklı bileşenlerin olasılıkla kafes bölgelerini işgal ettiği kristal yapıya sahip olanlardır. HMK, YMK veya HSP yapılarının fazları olabilirler. Düzenlenen katı çözeltiler, intermetalik fazlar veya ara fazlardır. Faz diyagramlarında farklı stoikiyometrik bileşikler etrafındaki daha geniş bileşim aralıklarında görüldüğü gibi, metaller arası bileşiklere dayanan kristal yapıya sahip katı çözeltilerdir. Bu tür fazlarda, farklı kurucu elemanlar, farklı kafes alanlarını işgal etme eğilimindedir. Düzenlenme dereceleri, tamamen sıralı yapıdan daha küçüktür ve bu nedenle kısmen sıralı katı çözeltiler olarak adlandırılabilirler. İntermetalik bileşiklerin yapısına sahip olmalarına ve intermetalik bileşikler olarak sınıflandırılmalarına rağmen, burada, kurucu elementler arasındaki önemli çözünürlüklerine vurgu yapılarak katı çözelti fazları olarak sınıflandırılırlar. Termodinamiğin ikinci yasasına göre, Gibbs serbest enerjisi sıcaklık ve basıncın en düşük olduğunda sistem termodinamik dengesine ulaşmaktadır. Katı çözelti fazlarının oluşumunu artırmada ve intermetalik faz oluşumunu

engellemede yüksek entropi etkisini anlatmak için, öncelikle birbirleri arasında daha güçlü bağlanma enerjisine sahip bileşen unsurlardan oluşan yüksek entropi alaşımları ele alınmıştır [6].

Tablo 1.3 Element fazları, bileşikler ve katı çözeltiler arasında ΔH_{mix} , ΔS_{mix} ve ΔG_{mix} 'in karşılaştırılması. (Atomik boyut farkından kaynaklanan gerinim enerjisi ΔH_{mix} 'e dahil değildir) [6]

Olası Durumlar	Elementel Fazlar	Bileşenler	Rastgele Katı Çözeltiler	Kısmen Düzenlenmiş Katı Çözeltiler
ΔH_{mix}	~ 0	Büyük Negatif	Orta Negatif	Orta Negatif
$-T\Delta S_{\text{mix}}$	~ 0	~ 0	$-RT\ln(n)$	$RT\ln(n)$
ΔG_{mix}	~ 0	Büyük Negatif	Büyük Negatif	Büyük Negatif

Tablo 1.3'de gösterildiği gibi, atomik boyut farkından kaynaklanan karıştırma entalpisine gerinim enerjisi katkısı basitlik açısından dikkate alınmazsa, bir ana elemente dayalı element fazları küçük negatif ΔH_{mix} 'e ve küçük ΔS_{mix} 'e sahip olacaktır, bileşik fazlar büyük-negatif ΔH_{mix} 'e sahip olacaktır ancak küçük ΔS_{mix} ve çoklu eleman içeren katı çözeltiler orta-negatif ΔH_{mix} ve yüksek ΔS_{mix} 'e sahip olacaktır. Sonuç olarak, katı çözeltiler, özellikle yüksek sıcaklıklarda denge durumuna ulaşmak için bileşik fazlarla oldukça rekabetçi hale gelmektedir [6].

Çok ana element içeren katı çözeltilerin orta ΔH_{mix} 'e sahip olmasının nedeni, çözeltilerinde farklı atom çiftlerinin oranının olmasıdır. Örneğin, bir mol atom, N0 olarak, tam sırayla ikili bir intermetalik bileşik (B2) NiAl, koordinasyon numarası 8 olduğu için $(1/2) \times 8$ N0 Ni-Al bağına sahip olurken, bir mol NiAl rastgele katı çözeltiler $(1/2) \times (1/2) \times 8$ N0 Ni-Al bağına sahip olacaktır. Bu nedenle, rastgele durumdaki karıştırma entalpisini, tamamen düzenli durumunkinin yarısıdır. Benzer şekilde, beş elementli bir eşmolar alaşım için, rastgele katı çözeltiler durumunda, on olası ikili bileşiğin her bir bileşiğinin aynı karıştırma entalpisine sahip olduğu varsayılarak ikili bileşiklerdekine göre $4/5$ 'i kadardır, yani, farklı atom çiftleri için tüm karıştırma ısıları aynıdır. Benzer şekilde, sekiz elementli bir eşmolar alaşım için oran $7/8$ olur. Bu nedenle, daha yüksek eleman sayısı, rastgele durumun karıştırma entalpisini tamamen düzenli duruma yaklaştırmasına ve yüksek karıştırma entropisinin yardımı altında düzenli durumla daha da yarışabilir hale gelmesine izin verecektir [6].

Eş atomlu sekiz elementli bir ABCDEFGH alaşımındaki farklı çiftlerin (toplamda 28 farklı çift) karıştırma entalpisinin ortalaması 23

kJ/mol olarak kabul edilirse, tamamen düzenli yapıda ΔH_{mix} , yani 28 intermetalik bileşik oluşumu (her biri $N_0 / 8$ atomu), 46 kJ/mol ve tam düzensiz yapıya sahip, yani rastgele katı çözelti, $-46 \times 7/8 = 40.25$ kJ/mol'dür. Öte yandan, tamamen sıralı yapının konfigürasyon entropisi (ΔS_{konf}) 0 ve tam düzensiz yapının 17.29 J/Kmol'dur. Çoğu Yüksek entropi alaşımının erime noktasından genellikle daha düşük olan 1473 K'da, tamamen düzenli yapının ΔG_{mix} 'i 46 kJ / mol'e ve tamamen düzensiz yapı 65.72 kJ/mol'e eşittir. Bu nedenle, tamamen düzensiz yapı, 1473 K'deki kararlı fazdır. Ayrıca, bu iki durum arasındaki serbest enerji eşdeğer sıcaklığı 333K olarak hesaplanabildiğinden, tamamen düzensiz yapı 333K'ye kadar düşük sıcaklıklarda da dengededir. Bununla birlikte, farklı çiftler arasındaki karıştırma entalpisinin farklılığından ve gerinim enerjisinin etkisinden dolayı, kısmen düzenli durumun rastgele durumdan daha düşük karıştırma serbest enerjisine sahip olabileceği ve 1473K'de oluşabileceği veya faz ayırımına göre kararlı durum haline gelebileceği belirtilmelidir. Açık ki, aynı veya benzer karıştırma entalpisine sahip 10 veya 28 ikili bileşiğin varsayımı, periyodik tablodaki elementlerden neredeyse imkansızdır. Rastgele çözeltilerde veya kısmen düzenli katı çözeltilerde orta-negatif karıştırma entalpisine ve kuvvetli bağlanmaya sahip birçok farklı çift olduğu gerçeğini vurgulamak için kullanılan varsayımsal alaşım sistemleridir. Hala düşük serbest karıştırma enerjisine sahiptirler çünkü bazı karıştırma entropi kayıpları daha yüksek karıştırma entropisiyle telafi edilebilmektedir [6].

Genel olarak, atom çiftlerinin aksine karıştırma entalpilerinin büyük bir farkı yoksa, katı çözelti fazları denge durumunda baskın olacaktır. Örneğin, CoCrFeMnNi alaşımı, tam tavlama işlemlerinden sonra bile tek bir yüzey merkezli kübik çözelti oluşturabilmektedir. Sünek refrakter HfNbTaTiZr alaşımı, döküm halinde ve homojenleştirilmiş durumda tek hacim merkezli kübik fazına sahiptir. Çoklu ana element içeren katı B2 solüsyonu aslında NiAl tipi bileşikten türetilmiştir. O, C, B veya N içeren alaşımlardaki atomik çiftlerin aksine karıştırma entalpilerindeki daha büyük fark, mikroyapıda oksitler, karbürler, borürler veya nitürler oluşturacaktır [6].

Atomik boyut farkının faz oluşumu üzerindeki etkisini anlamak için Zhang ve arkadaşları ilk olarak, ΔS_{mix} , ΔH_{mix} ve atomik boyut farkını (δ) karşılaştırarak düzensiz katı solüsyonlar, sıralı katı solüsyon, ara fazlar ve dökme metalik cam oluşturma eğilimini önermiştir. İlk üçü, düzensiz katı çözeltilerin ve düzenli (veya kısmen düzenli) olanların HMK, YMK veya HSP yapılarına ve ara fazların daha karmaşık bileşik yapılarına sahip olduğu yüksek entropi alaşımlarında yaygın olarak bulunduğunu bildirmişlerdir.

Guo ve arkadaşları bu faktörleri bu tür fazların faz seçim kuralını düzenlemek için de kullanmıştır. Dahası, Yeh, Chen ve ark. ve Yang ve ark. yüksek entropi alaşımlarında düzen bozukluğu rekabetini ve ayrıca mevcut intermetalikler ve dökme metalik cam aralığını tanımlamak için δ (atomik boyut farkı) ve $T \Delta S_{\text{mix}}$ 'in ΔH_{mix} 'e oranını kullanılmıştır. Esas nokta, çözeltili tipi fazların yüksek alaşımlı çok bileşenli alaşımlarda oluşma eğiliminde olmasıdır. Düzensiz çözeltiler tercihen daha küçük δ , daha küçük ΔH_{mix} ve daha yüksek ΔS_{mix} altında oluşmaktadır. Özetle, yüksek entropi etkisi yüksek entropi alaşımları için ilk önemli etkidir çünkü güçlü düzenli yapılara sahip ve genellikle kırılabilir olan birçok farklı türde stoikiyometrik bileşiğin oluşumunu engelleyebilmektedir.

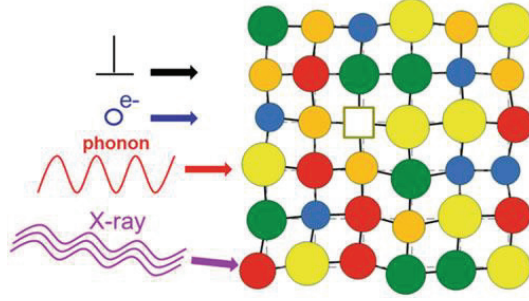
Tersine, çözeltili tipi fazların oluşumunu artırır ve böylece Gibbs faz kuralı tarafından tahmin edilen fazların maksimum sayısından (yani, $n + 1$, n bileşen sayısıdır) çok daha düşük fazların sayısını azaltmaktadır. Buda, daha iyi özellikler gösterme konusundaki olumlu beklenti ile birlikte mikroyapıyı beklenenden daha basit hale getirmektedir [6].

1.6.2 Şiddetli Kafes Distorsiyon Etkisi

Şiddetli kafes çarpılması, karmaşık, konsantre fazların kristal kafeslerini oluşturan farklı atom boyutlarından gelmektedir. Her kafes alanındaki yer değiştirme, o bölgeye yerleşen atoma ve ortamdaki atom türlerine bağlıdır. Bu çarpılmaların geleneksel alaşımlardan daha şiddetli olduğu iddia edilmektedir. Bu çarpılmaların atom konumlarındaki belirsizlik, aşırı konfigürasyonel entropiye katkıda bulunur ve X-ışını kırınım tepe noktalarının yoğunluğunu azalttığı, sertliği arttırdığı, elektriksel ve termal iletkenliği azalttığı ve bu özelliklerin sıcaklığa bağımlılığını azalttığı öne sürülmektedir. Bu iddialar fiziksel olarak mantıklı görünse de bu etkilerin çoğunu ölçmek ve diğer katkılardan ayırmak için sistematik girişimlerde hala eksikler görülmektedir. Örneğin, bileşen atomları arasındaki kayma modülü uyumsuzluğu, sertleşmeye de katkıda bulunabilir, elektriksel ve termal iletkenlikler, bölgesel bağ durumlarındaki değişimlerle ilişkili elektronik yapılar tarafından etkilenebilir [23].

Yüksek entropi etkisi nedeniyle, yüksek entropi alaşımlarında katı bir çözeltili fazı, yapısı HMK, YMK, HSP veya diğer daha karmaşık bileşik yapılar olsa da, genellikle tam bir çözünen matristir. Bu nedenle, çoklu ana element matrisindeki her atom, farklı türde atomlarla çevrelenmiştir ve Şekil 1.7'nin sağ tarafında gösterildiği gibi kafes gerilimine maruz kalmaktadır. Atomik boyut farkına ek olarak, bileşiği oluşturan elementler arasındaki farklı bağlanma enerjilerinin ve kristal

yapı eğilimlerinin, simetrik olmayan komşu atomların, yani bir atomun etrafındaki simetrik olmayan bağların, elektronik yapıların ve bu tür bir atomun etrafındaki elektronik yapıların daha da yüksek kafes distorsiyonuna neden olması beklenmektedir. Geleneksel alaşımlarda, çoğu matris atomu komşularıyla aynı türde atomlara sahipken genel kafes distorsiyonu yüksek entropi alaşımlarından çok daha küçüktür [6].



Şekil 1.7 Ciddi şekilde bozulmuş kafesi ve dislokasyonlar, elektronlar, fononlar ve x-ışını ışını ile çeşitli etkileşimleri gösteren şematik diyagram [6]

Wang, tek fazlı katı çözelti için karıştırma entropisini en üst düzeye çıkarmak ve entropi kuvvetini göstermek için Maksimum Entropi İlkeleri ile birlikte Monte Carlo yöntemini kullanmıştır. HMK ve YMK kafesleri ile dört ile sekiz ana elementten toplu eş atomlu alaşımların atomik yapı modellerini oluşturmuştur. Oluşturulan modellere göre atomik yapı özellikleri analiz edilmektedir. Tablo 1.4, bu modellerin yapı analizlerine ilişkin bilgileri gösterilmektedir. Bir atomun en kısa mesafesi, atomun en yakın aynı element atomuna olan mesafesidir. Beş veya daha fazla element içeren HMK alaşımları ve dördü HMK alaşımlarının çoğunda atomun en yakın komşusu aynı elementten başka bir atoma (benzer çift) sahiptir ve ikinci en yakın komşu kabukta bulunmaktadır. En yüksek sayıda benzer çifti sağlayan bu tepe bölgesi, element sayısı arttıkça üçüncü en yakın komşu kabuğa hareket etmektedir. Öte yandan, dördü (%74,3) ve beşli (%47,3) YMK alaşımlarında birinci kabukta hala daha büyük oranda aynı elementler bulunmaktadır. Birinci kabuktaki merkez atom ve benzer olmayan atomlar arasındaki farklı çiftlerin daha büyük bir oranı daha büyük çarpılmaya neden olacağından, daha fazla sayıda elementin daha büyük olma eğiliminde olması beklenilmektedir.

HMK yapısı, aynı orana sahip aynı öğeler kümesi tarafından oluşturulmuşsa, YMK dan daha büyük çarpılmaya sahiptir. Bu, HMK katı çözeltisinin, aynı orana sahip aynı elemanlar kümesiyle YMK katı

çözeltisinden daha büyük bir çözelti sertleştirme etkisine sahip olabileceğini gösterebilmektedir [6].

Tablo 1.4 Oluşturulan HMK ve YMK Maksimum Entropi modellerinde en yakın komşu kafes alanlarında aynı element atomları arasındaki en kısa mesafelerin dağılımı [6]

Faz	Kafes Tipi	En Yakın Komşu Alanlara Olan Mesafe Dağılımı (%)					
		1	2	3	4	5	6
Dörtlü Faz	HMK	8.5	83.0	6.9	1.6	0.0	0.0
	YMK	74.3	23.8	1.9	0.0	0.0	0.0
Beşli Faz	HMK	0.0	65.5	30.6	3.4	0.5	0.0
	YMK	47.3	45.0	7.5	0.2	0.0	0.0
Altılı Faz	HMK	0.0	41.4	52.4	6.0	0.2	0.0
	YMK	17.2	64.9	17.7	0.2	0.0	0.0
Yedili Faz	HMK	0.0	19.2	65.3	15.0	0.3	0.2
	YMK	3.9	50.4	44.4	1.1	0.2	0.0
Sekizli Faz	HMK	0.0	2.5	70.9	24.3	2.1	0.2
	YMK	0.2	27.1	69.8	2.7	0.2	0.0

Kafes distorsiyonu farklı yollarla tanımlanabilir, ancak en yaygın yol yalnızca atomik boyut faktörünü dikkate alır. Yani kafes çarpılması, çok elemanlı bir matris için aşağıdaki denklemle atomik boyuttaki (δ) farklılıklarla doğrudan ilişkilidir:

$$\delta = 100\sqrt{\sum_{i=1}^n c_i(1 - r_i/\bar{r})^2}$$

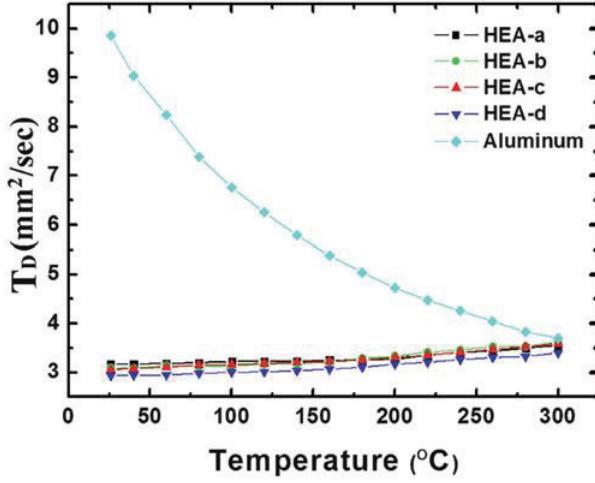
burada $\bar{r} = \sum_{i=1}^n c_i r_i$ ve c_i , sırasıyla i 'inci elementin atomik yüzdesi ve atom yarıçapıdır.

Bu denklem, çözünen atomun tam kafes bölgesini işgal ettiği bir matristeki çözünen bir maddenin uyumsuz gerilimi için geleneksele benzer bir varsayıma dayanmaktadır. Çok elementli matriste, ortalama yarıçapı r olan çözücü atomlu sözde matris kullanılmaktadır. Bu nedenle, bu denklem sözde matristeki ortalama uyumsuz gerginliği vermektedir. Çok elementli matristeki çözünen atomların pozisyonları, ortalama kafesin tam bölgesinden bazı sapmalara sahip olacağından bu denklemin doğruluğu tam olarak kabul görmemektedir. Ayrıca, kafes çarpılmasının sadece atomik boyut farkından değil, aynı zamanda bileşenler arasındaki bağ ve kristal yapı farklılığından da kaynaklandığı belirtilmelidir. Çarpılma geriliminin sadece % 1 olduğu varsayıldığında, E ve G'nin sırasıyla Young modülü ve kesme modülü olduğu her kafes alanında

izotropik katı için yerel atomik gerilimde 0.01E ve kaymada 0.0135G civarında olduğu tahmin edilmektedir. Teorik kayma mukavemeti yaklaşık 0.039–0.11G ve gerçek kayma mukavemeti, genel olarak 0.001G'nin altında olan büyüklük dereceleri olduğundan, bu kadar küçük bir bozulma gerilmesinin hala ihmal edilebilir olmadığı fark edilmektedir. Dahası, Hooke yasasının hala geçerli olduğunu varsayarsak, yerel atomik gerilimin teorik kayma mukavemetini aştığı kritik kafes çarpılmasının % 5 olduğunu bulmak kolaydır. Bu, daha yüksek çarpılmanın rastgele veya düzensiz katı çözelti oluşturmada kararsızlığa neden olacağını göstermektedir. Son kafes çarpılmasının, çarpılma enerjisini azaltmak ve yerel atomik stres dengesini korumak amacıyla kafes sistemlerinde atom pozisyonlarını ayarlayarak bir miktar gevşmeden kaynaklanacağını göstermektedir. Bununla, sadece düzensiz katı çözelti sürdürmek için uygun olmayan gerinim kavramı ile hesaplanan kritik kafes çarpılması % 6.6'ya kadar gevşetilebilmektedir [6].

Şiddetli kafes çarpılması, özellikleri etkilemekle birlikte aynı zamanda özellikler üzerindeki termal etkiyi de azaltmaktadır. Şekil 1.7, çarpık kafesten dislokasyonların, elektronların, fononların ve x-ışını ışınlarının geçtiğinde etkileşimlerin gerçekleşeceğini de göstermektedir. Genel olarak, çözelti sertleştirilmesi ile sertliği ve mukavemeti etkili bir şekilde artırabilmektedir. Ek olarak, şiddetli kafes çarpılması, serbest elektronları ve fononları belirgin bir şekilde dağıtabildiği için elektriksel ve termal iletkenliği önemli ölçüde azaltmaktadır.

Lu ve ark. Şekil 1.8'de gösterildiği gibi dört YEA ve saf Al için bir fonksiyon sıcaklığı olarak termal yayılımı incelemiş, yüksek entropi alaşımlarının ısı yayılma eğimlerinin sıcaklığa göre pozitif olarak küçük olduğunu dolayısıyla sıcaklığa karşı duyarsız olduğunu, buna karşın geleneksel Al'ninkilerin negatif olarak büyük ve sıcaklığa duyarlı olduğunu bulunmuştur [6].



Şekil 1.8 Saf alüminyum için sıcaklığın bir fonksiyonu olarak termal yayılımlar ve YEA-a ($\text{Al}_{10.3}\text{CrFe}_{1.5}\text{MnNi}_{0.5}$), YEA-b ($\text{Al}_{10.5}\text{CrFe}_{1.5}\text{MnNi}_{0.5}$), YEA-c ($\text{Al}_{10.3}\text{CrFe}_{1.5}\text{MnNi}_{0.5}\text{Mo}_{0.1}$) ve YEA-d ($\text{Al}_{10.5}\text{CrFe}_{1.5}\text{MnNi}_{0.5}\text{Mo}_{0.1}$) [6].

1.6.3 Yavaş difüzyon etkisi

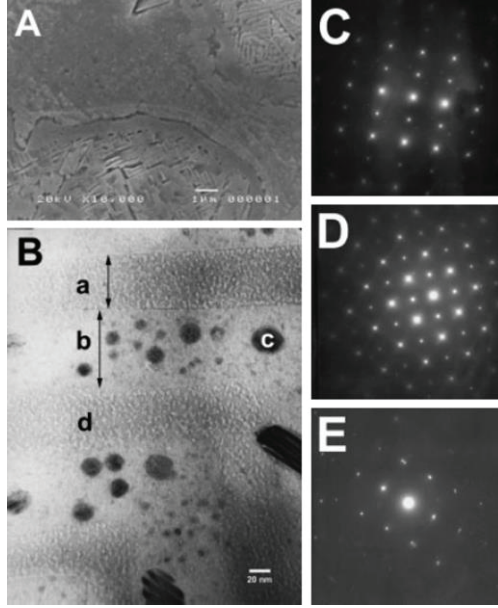
Yüksek entropi alaşımlarında difüzyonun yavaş olması önerilmektedir. Bu iddia, katılaşma üzerine nanokristallerin ve amorf fazların oluşumunu içeren ikincil gözlemlere ve soğuduktan sonra mikro yapısal stabilitenin nitel yorumlarına dayanmaktadır [23]. Buradaki yavaş difüzyon etkisi, dökme cam oluşturan alaşımlardan ziyade geleneksel alaşımlarinkine karşılaştırılır. Son zamanlarda Yeh, yüksek entropi alaşımlarında boşluk oluşumunu ve bileşim ayrımını incelemiş, saf metaller, paslanmaz çelikler ve yüksek entropi alaşımlarındaki elementler için difüzyon katsayılarını karşılaştırmış ve üç tip alaşım sistemindeki difüzyon oranlarının sırasını

Yüksek entropi alaşımları < Paslanmaz çelikler < Saf metaller

şeklinde belirlemiştir.

Yavaş difüzyon etkisi, çekirdek oluşumunun kolay olmasından dolayı genellikle nano boyutlu çökeltilerin oluşumunu açıklamak için kullanılmaktadır, ancak Şekil 1.8'de döküm halindeki CuCoNiCrFe alaşımında gösterildiği gibi yavaş büyümekte ve Şekil 1.8 (b) 'de gösterildiği gibi spinodal plakta HMK fazına yakın 7–50 nm çapında nano çökeltiler görülmektedir. Ayrıca Şekil 1.8 de görüldüğü gibi yüksek entropi alaşımlarının mikro yapıları nano çökeltiler, düzenli katı çözelti fazları, düzensiz katı çözelti fazları ve hatta amorf fazlardan oluşan çok

karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu özellik, tüm unsurların içeriği arasındaki etkileşimlerin çok yüksek olmasından kaynaklanmaktadır [36].

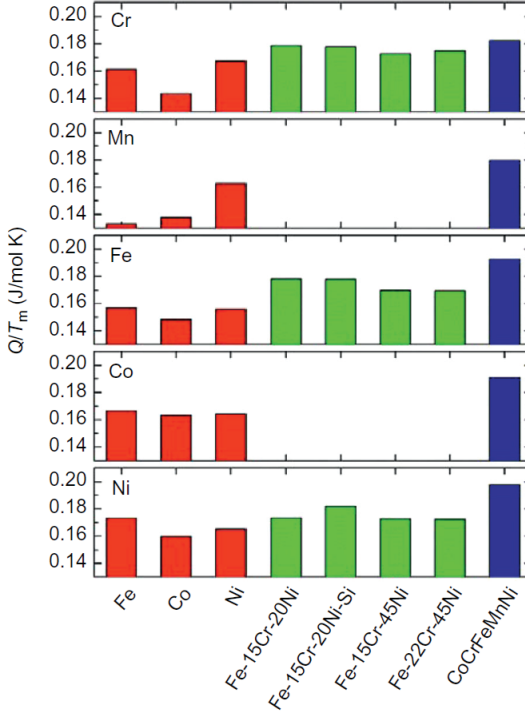


Şekil 1.9 Dökme CuCoNiCrAlFe alaşımının mikro yapıları. (A) Dendritlerle aşındırılmış bir alaşımın SEM mikrografı (spinodal düzensiz BCC yapısı ve sıralı BCC fazları) ve interdendrit (bir FCC fazı) yapıları.

(B) TEM parlak alan görüntüsü; (B-a) bir spinodal plaka, 70 nm genişliğinde, düzensiz bir BCC fazı (A2), kafes sabiti, 2.89Å; (B-b) spinodal bir plaka, 100 nm geniş, düzenli bir BCC fazı (B2), kafes sabiti, 2.89Å; (B-c) nanopresipitasyon bir spinodal plakada, 7 nm ila 50 nm çapında, FCC aşamasına yakın; (B-d) nanopresipitasyon bir interspinodal plakada, 3 nm çapında, düzensiz bir BCC fazı (A2). (C – E) BCC, BCC [001] + (010) bölge eksenleri ile B, Ba ve Bb'nin seçilmiş alan kırınım (SAD) modellerine karşılık gelen superlattice ve FCC [011], sırasıyla [36]

Tsai ve arkadaşları yavaş difüzyon etkisini doğrulamak için kararlı YMK katı çözümlü Co-Cr-Fe-Mn-Ni alaşımını incelemişler, CoCrFeMnNi alaşım sisteminde T/T_m 'de bulunan her bir element için difüzyon katsayısı, benzer YMK matrise sahip Fe-Cr-Ni(-Si) alaşımı ve saf halde bulunan Fe, Co, Ni metallerine kıyasla en küçük değere sahip olarak görmüşlerdir. Ayrıca, Şekil 1.9'da gösterildiği gibi yüksek entropi alaşımlarının Q / T_m değerleri en büyüktür. Aynı element için yavaş difüzyon derecesinin matristeki ana elementlerin sayısı ile ilişkili olduğu da not edilmiştir. Mevcut Yüksek entropi alaşımlarında Q / T_m değerleri

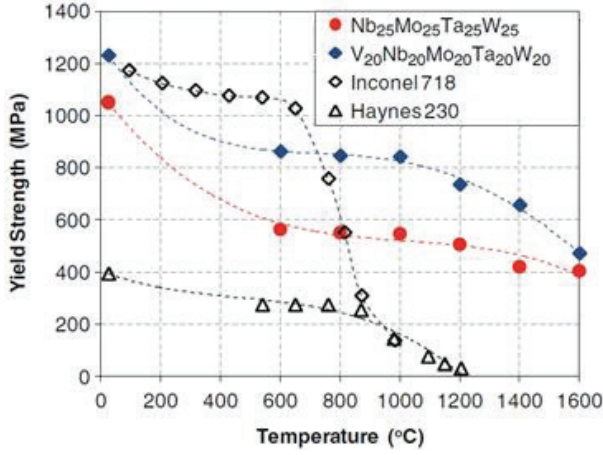
en yüksek değerlerdir; Fe-Cr-Ni (-Si) alaşımlarındakiler ikincidir ve saf metallerde olanlar en düşüktür. Kısaca, tüm bunlar Yüksek entropi alaşımlarında yavaş difüzyon etkisinin doğrudan kanıtlarıdır [6].



Şekil 1.10 Farklı matrislerde (saf metaller, paslanmaz çelikler ve CoCrFeMnNi alaşımı), Cr, Mn, Fe, Co ve Ni'nin Q/T_m değerlerinin karşılaştırılması [35]

1.6.4 Kokteyl etkisi

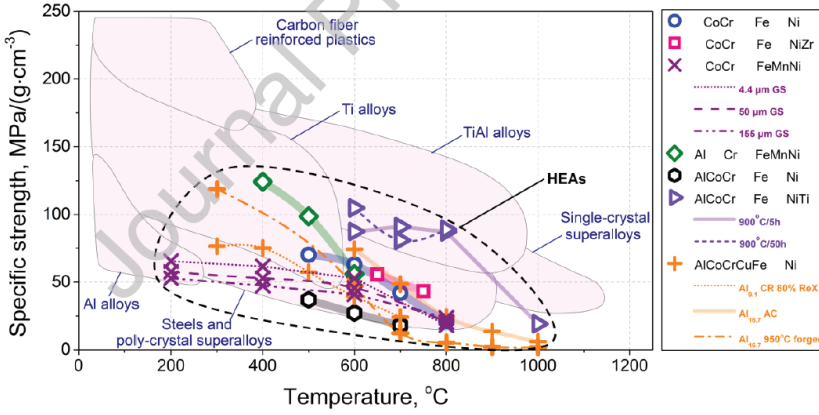
Metalik alaşımlar için kokteyl etkisi, herhangi bir elementten tek başına elde edilemeyen özelliklerin birçok elementin karıştırılmasından sonra beklenmedik bir şekilde elde edilebildiği oluşum etkisidir [36].



Şekil 1.11 Nb₂₅Mo₂₅Ta₂₅W₂₅ ve V₂₀Nb₂₀Mo₂₀Ta₂₀W₂₀ YEA'ların ve iki süperalaşımın, Inconel 718 ve Haynes 230 akma geriliminin sıcaklık bağımlılığı [36]

2. MEKANİK ÖZELLİKLER

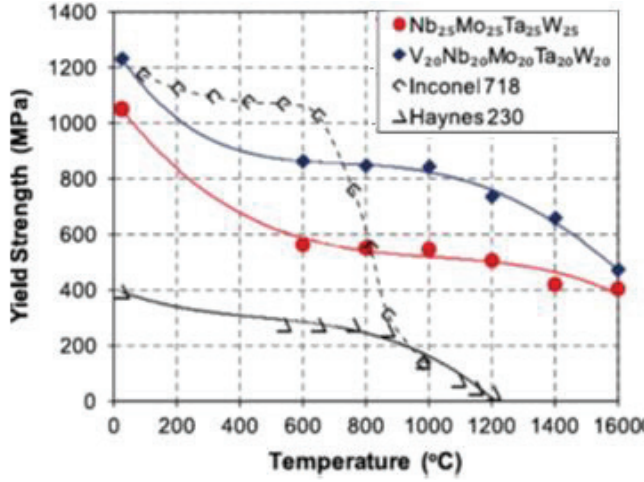
Tek bir ana element içeren geleneksel alaşımlar için, ana mekanik davranış baskın element tarafından belirlenmektedir. Genellikle diğer düşük miktardaki alaşım elementleri, bazı özel özelliklerin geliştirmesi için kullanılmaktadır. Düşük karbonlu ferritik çeliklerde, ana mekanik özellikler BCC yapısındaki demirden gelirken, alüminyum ve titanyum alaşımları için ise esas olarak sırasıyla elementel alüminyum ve titanyumdan gelmektedir [36]. Şekil 2.1'de yüksek sıcaklıklarda özgül mukavemet değerleri gösterilmiş ve geleneksel mühendislik alaşımları ile karşılaştırılmıştır. Yakın zamanda Senkov ve arkadaşları tarafından kapsamlı bir şekilde gözden geçirilmiş ve nikel bazlı süper alaşımların ötesinde yüksek sıcaklık uygulamaları için potansiyele sahip oldukları bulunmuştur [37].



Şekil 2.1. Geleneksel yüksek sıcaklık malzemelerine göre gösterilen, literatürde bildirilen YEA ve CCA'ların sıcaklığa karşı özgül mukavemeti.[37]

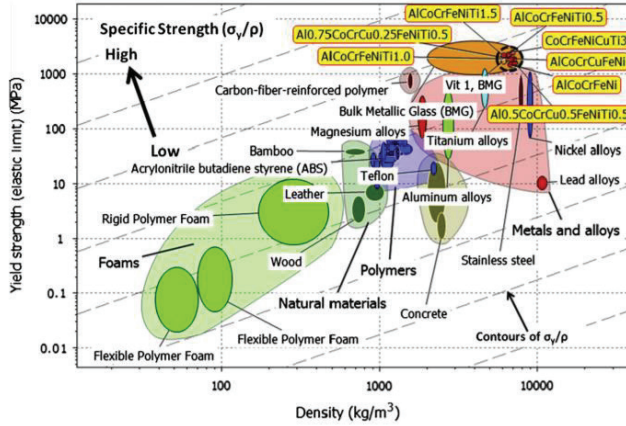
YEA'lar sahip oldukları özellikler ile yüksek sıcaklık, elektronik, manyetik, korozyon ve aşınmaya dayanıklı çeşitli uygulamalar için potansiyel malzemeler olarak kabul edilmektedir. Bu özelliklerin çoğu, çok bileşenli katı bir çözelti olan benzersiz yapısal özelliklerinden kaynaklanmaktadır [2].

Yapıyı oluşturan elementlerin bireysel özelliklerinin yanı sıra Yüksek entropi alaşımlarının ana yapısına bağlı olan mekanik özellikler; sertlik, elastik modül, akma dayanımı, nihai dayanım, uzama, yorulma ve sürünmeyi kapsamaktadır. YEA'ların mekanik özellikleriyle ilgili çalışmalar, bu yeni alaşım sınıfının belirli uygulamalar için geleneksel alaşımlardan daha iyi performansla sahip olduğunu göstermek açısından önem teşkil etmektedir [2,38]. Yapı türleri, YEA'ların mukavemetini veya sertliğini kontrol etmek için baskın faktör olarak değerlendirilmektedir. BCC yapılu YEA'lar genellikle çok yüksek akma dayanımlarına ve sınırlı plastisiteye sahipken, FCC yapılu YEA'lar düşük akma dayanımına ve yüksek plastisiteye sahiptir. BCC + FCC karışımının dengeli mekanik özelliklere yani hem yüksek mukavemete hem de iyi süneklığe sahip olması beklenmektedir. Yakın zamanda yapılan araştırmalar, belirli "YEA'ların" mikro yapılarının çok karmaşık olabileceğini, çünkü sıklıkla spinodal ayrışmaya maruz kaldıklarını ve düzenli ve düzensiz fazın daha düşük sıcaklıklarda çökeldiğini göstermektedir. YEA'lar genellikle yüksek erime noktalarına sahiptir ve yüksek akma dayanımı genellikle, refrakter metal YEA'lar için Şekil 2.2'de gösterilen ultra yüksek sıcaklıklara kadar sürdürülebilir [36].



Şekil 2.2. NbMoTaW, VNbMoTaW, Inconel 718 ve Haynes 230 alaşımlarının sıcaklık bağımlılığı [36]

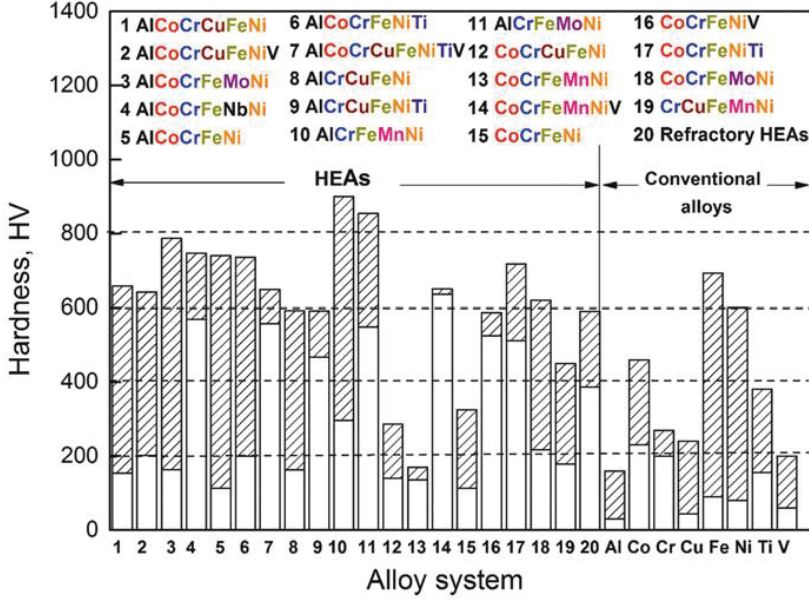
Çok farklı elementlerin bir araya gelmesi ile oluşan ve oluşum mekanizmaları farklı temellere dayanan YEA'larının mekanik özellikleri spesifik mukavemet açısından geleneksel alaşımlarla karşılaştırıldığında Şekil 2.3'de görüldüğü gibi, YEA'ların bu malzemeler arasında en yüksek akma dayanımına ve oldukça yüksek yoğunluğa sahip olduğu tespit edilmiştir [12].



Şekil 2.3 Diğer malzemelerle karşılaştırıldığında YEA'ların akma dayanımı - yoğunluk diyagramı [12]

2.1 Sertlik

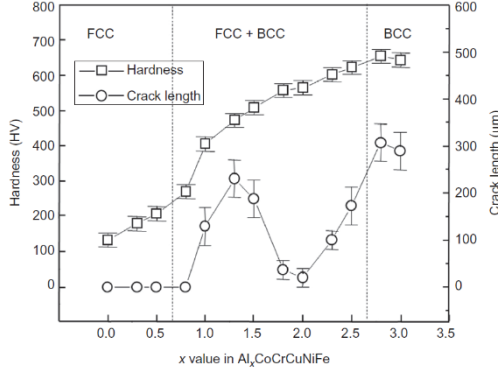
Sertlik, sınırlı bir geometride plastik deformasyona karşı direnci temsil etmekle birlikte metalik malzemelerin mekanik özelliklerini tanımlamada en uygun yollarından biri olarak kabul edilmektedir. Özellikle Vickers sertlik testi, büyük hacimde bir numuneye ihtiyaç duyulmadan hızlı ve verimli bir şekilde yapılabilen, ince film YEA'ların doğrudan ölçülemeyen akma gerilimini yüksek hassasiyetle tespit edebilen bir yöntemdir. YEA'ların, sertlik değerleri alaşımın kimyasal kompozisyonuna, üretim yöntemine ve üretim sonrası uygulanan ısıtma işlem süreçlerine bağlı olarak değişim göstermektedir. Geleneksel alaşımlarla karşılaştırmak için en çok incelenen 20 YEA'nın sertlik değerleri ele alınmış ve Şekil 2.4'te gösterilmiştir. [6].



Şekil 2.4. Refs verileri kullanılarak Al-, Co-, Cr-, Cu-, Fe-, Ni-, ve V bazlı alaşımlar gibi geleneksel alaşımlarla karşılaştırıldığında en çok çalışılan 20 YEA'nın sertlik değerleri. Taranmış bölge, her alaşım sisteminin sertlik aralığını gösterir. Örneğin, AlCoCrCuFeNi'nin sertliği 154 ile 658 HV arasında değişmektedir. [6]

Kapsamlı olarak incelenen ilk sistemlerden biri, $Al_xCoCrCuFeNi$ alaşımlarıdır. Sistemin sertliği $x = 0-0.5$ için 133 HV ve $x = 3.0$ için 655 HV olarak belirlenmiştir. (Şekil 2.5). Alüminyum, alaşımın bileşenleri arasında en büyük atom olduğu için bu, kafes distorsiyonundaki artışa neden olabilmektedir. Ek olarak, Al alaşımındaki diğer elementlerle,

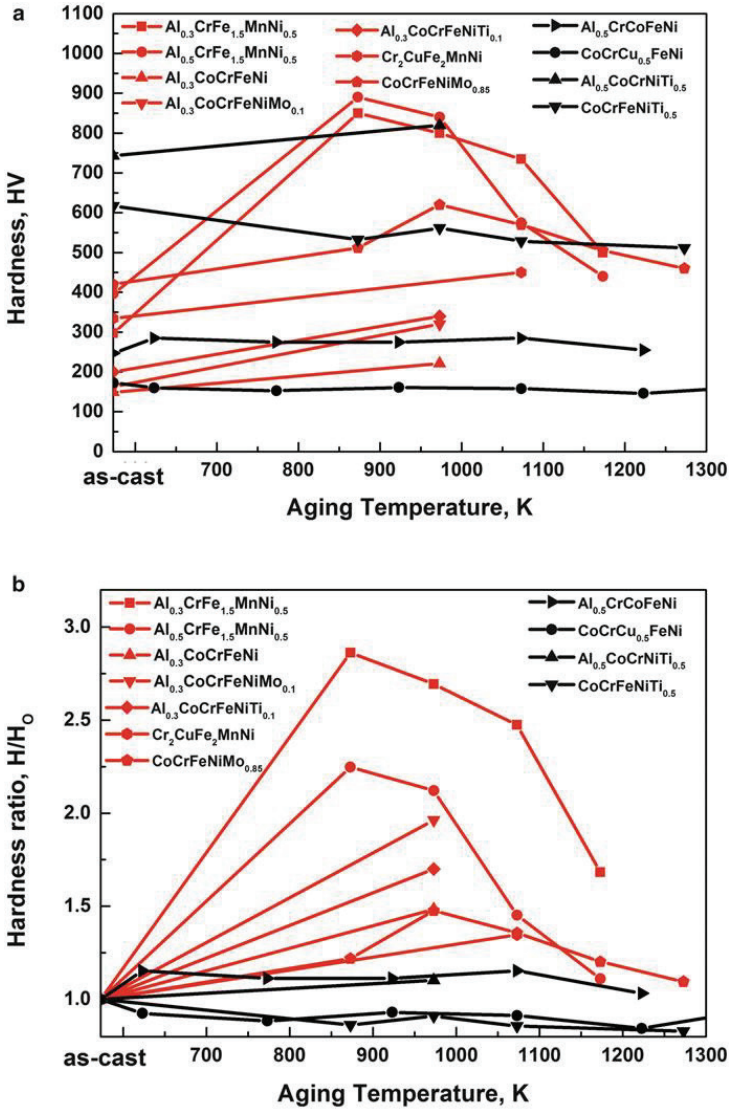
karıştırma entalpisinde yansıtıldığı gibi güçlü bağlar oluşturmaktadır. Dolayısıyla, katı çözelti güçlendirme etkisi, daha yüksek Al içeriği ile artmaktadır. Ayrıca Al içeriği arttıkça FCC'den BCC'ye faz değişimlerinin olduğu da gözlenmektedir. BCC ve B2 fazları, FCC fazlarından daha güçlüdür [2]. Ayrıca, yavaş difüzyon kinetiği tarafından oluşturulan nano çökeltiler, alaşımın sertliğini önemli ölçüde artırmaktadır [12].



Şekil 2.5 Farklı alüminyum içerikli (x değerleri) Al_xCoCrCuFeNi alaşım sisteminin sertlik girintisi etrafındaki Vickers sertliği ve toplam çatlak uzunluğu [2]

2.1.1 Tavlama işlemi

Tavlama, alaşımların mikroyapısını ve özelliklerini iyileştirmek için etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir [39]. Tavlama işleminin sertlik üzerindeki etkisine bağlı olarak, YEA'lar Şekil 2.6'da gösterildiği gibi iki gruba ayrılmaktadır: (a) güçlü yaşlanma sertleşmesi (kırmızı çizgiler) ve (b) zayıf yaşlanma sertleşmesi [6].

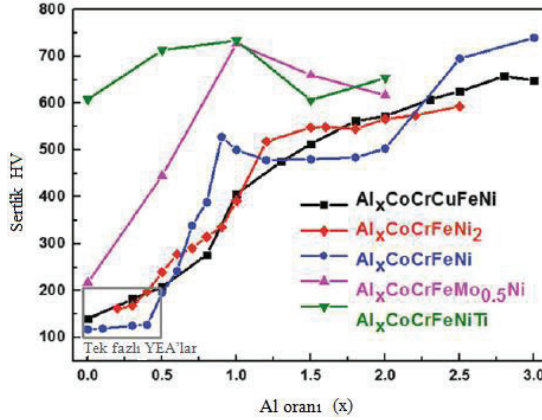


Şekil 2.6 YEA'ların sertliği üzerindeki tavlama etkileri. (a) Sertlik değerleri ve (b) sertlik oranı, sertlik / orijinal sertlik (H / H₀) [6]

Bu güçlü yüksek sıcaklıkta yaşlanma ile sertleşme, geleneksel alaşımlarda nadiren bulunmaktadır. Yaşlandırma sertleşmesi, çökeltilerin oluşumuna bağlıdır ve tavlama işlemi sırasında yeni çökeltme olmazsa, tavlama işlemi, YEA'ların sertliğini artırmada küçük bir rol oynamaktadır [6].

2.1.2 Alaşım etkisi

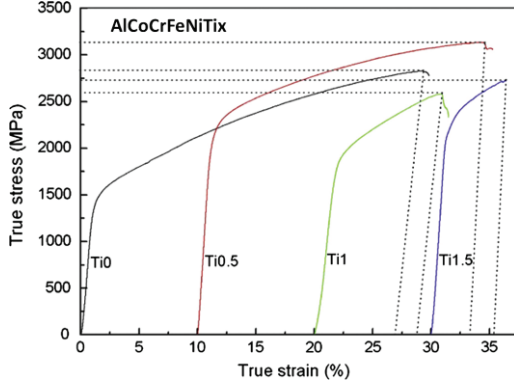
Alaşım oranı, YEA'ların yapısı ve mekanik özellikleri üzerinde önemli bir rol oynamaktadır [6]. Diğer geleneksel alaşımlar gibi mukavemet, plastisite ve sertlik gibi özellikleri arttırmak veya azaltmak için YEA'lara küçük miktarlarda alaşım elementleri de eklenebilir. Bir özelliği iyileştirmek için bir alaşım elementinin eklenmesi, diğer özellikler üzerinde istenmeyen etkilere neden olabilmektedir [36]. Alaşım elementlerinin yüksek entropi alaşımlarının sertlikleri üzerine etkisi genel olarak ikinci fazın oluşmasıyla gözlenmekte ve ikinci fazlar alaşımın sertliğini arttırmaktadır. Alüminyum konsantrasyonlarının sertlik değerleri üzerindeki etkileri $Al_xCoCrCuFeNi$, $Al_xCoCrFeNi_2$, $Al_xCoCrFeNi$, $Al_xCoCrFeMo_{0.5}Ni$ ve $Al_xCoCrFeNiTi$ alaşımları için şekil 2.10'da özetlenmiştir [7].



Şekil 2.7 $Al_xCoCrCuFeNi$, $Al_xCoCrFeNi_2$, $Al_xCoCrFeNi$, $Al_xCoCrFeMo_{0.5}Ni$ ve $Al_xCoCrFeNiTi$ alaşım sistemlerinin farklı alüminyum oranlarındaki (molar oranda x değerleri) Vickers sertliği [7]

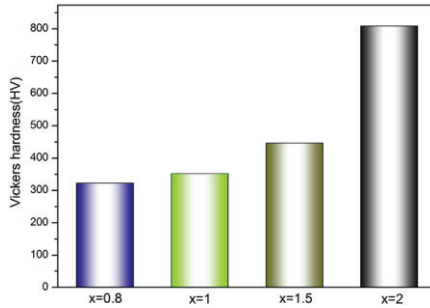
$Al_xCoCrCuFeNi$, $Al_xCoCrFeNi_2$ ve $Al_xCoCrFeNi$ alaşımlarında alüminyum oranı arttıkça alaşımların sertliği genel olarak artmaktadır. $Al_xCoCrFeMo_{0.5}Ni$ ve $Al_xCoCrFeNiTi$ için, durum biraz daha farklı olup faz yapısı ve mikroyapıya bağlı olarak alüminyumun atomik oranı 1.0'den daha düşük olduğunda sertlik artarken, alüminyum atomik oranı 1.0'den daha yüksek olduğunda sertlik azalmaktadır [7]. Zhou ve arkadaşları eş atom oranı ve yüksek karıştırma entropisi stratejisi kullanılarak tasarlanan $AlCoCrFeNiTi_x$ üzerindeki Ti alaşımının etkisini araştırmış, alaşımın esas olarak BCC katı çözeltilisinden oluştuğunu ve mükemmel oda sıcaklığı mekanik özelliklerine sahip (Şekil 2.8) olduğunu belirlemiştir. Özellikle $AlCoCrFeNiTi_{0.5}$ alaşımı için akma gerilimi, kırılma mukavemeti ve plastik gerinim sırasıyla 2.26 GPa, 3.14 GPa ve % 23.3 değerlerindedir ve

bu, dökme metalik camlar gibi yüksek mukavemetli alaşımların çoğundan üstün niteliktedir [36].



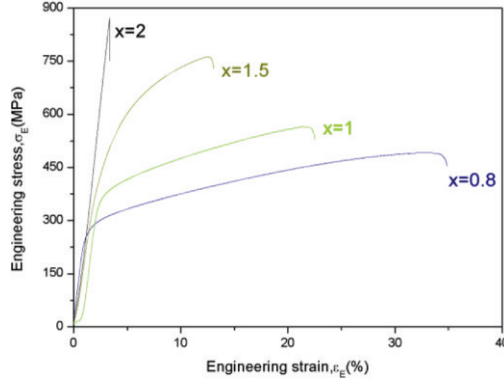
Şekil 2.8 5 mm çapında AlCoCrFeNiTi_x alaşımlı çubukların sıkıştırıcı gerçek gerilme-gerinim eğrileri [15]

Hao Wu ve arkadaşları Cr_xFeNiCu yüksek entropi alaşımının özelliklerini Cr içeriğine bağlı olarak meydana gelen değişimleri incelemişler ve Şekil 2.9'da gösterildiği gibi Cr miktarı arttıkça sertlik değerinin de arttığını gözlemlemişlerdir [40].



Şekil 2.9 Farklı x değerlerine sahip Cr_xFeNiCu YEA'ların mikro sertliği [40]

Öte yandan Şekil 5'te artan Cr içeriğine bağlı olarak Cr_xFeNiCu yüksek entropi alaşımındaki çekme mukavemetindeki değişim verilmekte olup sertlikte olduğu gibi çekme mukavemetinde de artan Cr içeriğine bağlı olarak artışın meydana geldiği gözlenmiştir [40].



Şekil 2.10 Farklı x değerlerine sahip Cr_xFeNiCu YEA'ların mühendislik gerilme-gerinim eğrileri. [40]

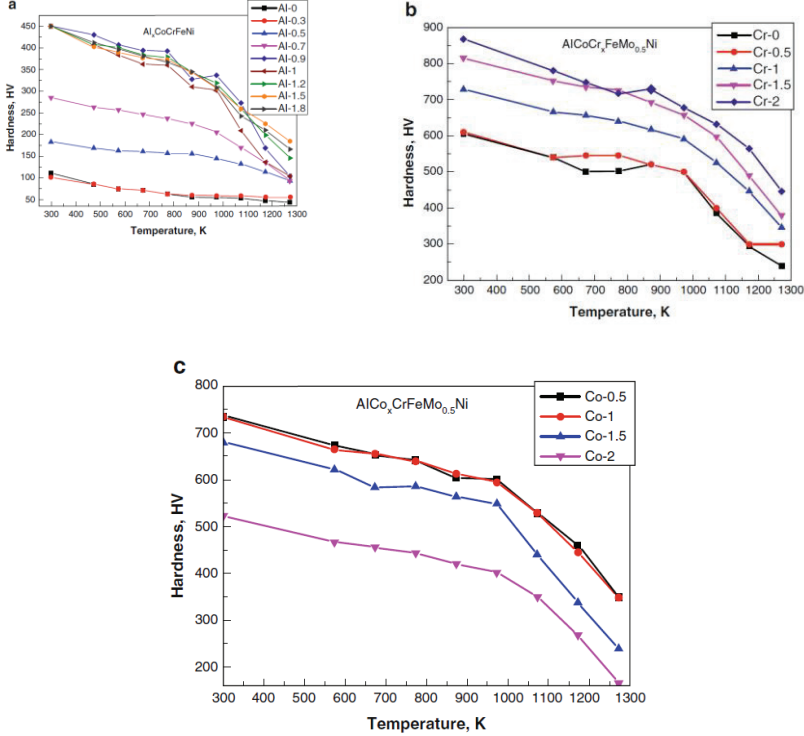
2.1.3 Yapı etkisi

FCC ve BCC fazlarının sertlik değerlerini belirleyen birçok faktör bulunmaktadır. FCC yapısının en yakın istiflemeye sahip kayma düzlemlerine sahip olduğu, BCC yapısının ise gerçek kapalı paketli kayma düzlemlerine sahip olmadığı bilinmektedir. Bu nedenle, FCC yapısındaki kayma için kritik gerilim, temelde BCC yapısından daha küçüktür. Ek olarak, daha güçlü atomlar arası bağ daha yüksek Young modülüne ve dolayısıyla daha yüksek mukavemete sahip olacaktır. Çözelti-sertleştirme etkisi ayrıca daha yüksek modüllü metaller için daha belirgindir. Mikroyapılar, YEA'ların sertliğini de etkilemektedir. YEA'lardaki dendritik ve interdendritik alanlar farklı mikro sertliklere sahiptir. CoCrFeMnNi ile ilgili sistem ele alındığında dendritik ve interdendritik sertlikler sırasıyla CoCrFeMnNi için 30 HV ve 109 HV, CoCrFeMnNbNi için 105 HV ve 41 HV ve CoCrFeMnNiV için 103 HV ve 29 HV'dir [6]. FCC yapılı YEA'ların düşük mukavemet ve yüksek plastisite sergilediği, BCC yapılı YEA'ların ise oda sıcaklığında yüksek mukavemet ve düşük plastisite gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle yapı türleri, YEA'ların gücünü veya sertliğini kontrol etmek için baskın faktördür [36].

2.1.4 Sıcak sertlik

Bazı YEA'lar yüksek sıcakta yüksek sertlik sergilemekte ve yüksek sıcaklık uygulamalarında potansiyel olarak görülmektedir. $\text{AlCo}_x\text{CrFeMo}_{0.5}\text{Ni}$ ($x=0.5, 1.0, 1.5$ ve 2.0) alaşımları 300 K'da yaklaşık 740 HV, 600 K'da 660 HV ve 1.273 K'da 340 HV gibi yüksek sıcak sertlik sergilemektedir. Mo, Ni, Cr, Si ve Fe gibi saf metallerin

yumuşama katsayıları, $\text{AlCo}_x\text{CrFeMo}_{0.5}\text{Ni}$ alaşımlarından daha büyüktür, bu da alaşımın gerçekten de yumuşama katsayısını düşürmede muazzam bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Yüksek sıcaklıklarda σ fazının ana güçlendirici olduğu ileri sürülmektedir. $\text{AlCoCr}_x\text{FeMo}_{0.5}\text{Ni}$ ($x=0, 0.5, 1, 1.5$ ve 2) alaşımları ve $\text{Al}_x\text{CoCrFeNi}$ alaşımları, Şekil 2.11'de gösterilen yüksek sıcaklıklarda ilgili sertlik değerlerine sahiptir [6].

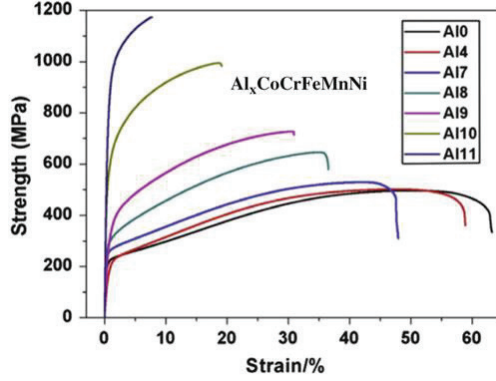


Şekil 2.11 (a) $\text{Al}_x\text{CoCrFeNi}$, (b) $\text{AlCoCr}_x\text{FeMo}_{0.5}\text{Ni}$ ve (c) $\text{AlCo}_x\text{CrFeMo}_{0.5}\text{Ni}$ alaşımları için sıcaklığın (T) bir fonksiyonu olarak Sıcak sertlik (H) [6]

2.2 Çekme Mukavemeti

Çekme deneyleri, sertlik ve basma testleri ile karşılaştırıldığında gevrekliği tespit etmek için daha hassas bir yöntem olduğundan gözenekli ve dendritik yapıya sahip YEA'lar için, pratik uygulamalarda sıklıkla karşılaşılan gerilmeli durumdaki mekanik özellikleri belirlemek için çekme testleri daha uygundur [6]. $\text{Al}_x\text{CoCrFeMnNi}$ YEA'ların tipik çekme gerilmesi-uzama eğrileri Şekil 2.12'de gösterilmektedir. Tek fazlı FCC bölgesinde (Al_{10} , Al_{14} , Al_{17} ve Al_{18}) alaşımlar nispeten düşük

mukavemete sahip ancak iyi süneklik ile katı bir çözelti gibi davranmaktadır. Kompleks yapı bölgesinde (Al9, Al10 ve Al11 ile temsil edilen FCC + BCC fazları) alaşımlar, mukavemette keskin bir artış, ancak süneklik azalması ile bir kompozit gibi davranmaktadır. Tek fazlı BCC bölgesinde ise alaşımlar aşırı derecede kırılğan hale gelmektedir [6].



Şekil 2.12 Oda sıcaklığında dökme Al_x (CoCrFeMnNi) 100-x (Al_x olarak gösterilir, burada x, Al'ın atomik yüzdesidir) mühendislik gerilme-gerinimi-gerinim eğrileri [7]

2.3 Basma Mukavemeti

Yüksek entropili alaşımların özelliklerini incelemek için yoğun bir şekilde basma deneyleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Gerinim-gerilme eğrisinden, young modülü (E), basmadaki akma sınırı dayanımı (σ_y), basma dayanımı (σ_{max}), elastik gerinim (ϵ_e), plastik gerinim (ϵ_p) dahil olmak üzere birçok malzeme parametresi belirlenebilmektedir. Basma testlerinden elde edilen farklı yüksek entropili alaşım kompozisyonlarına ait değerler aşağıdaki Tablo 2.1'de özetlenmiştir [7].

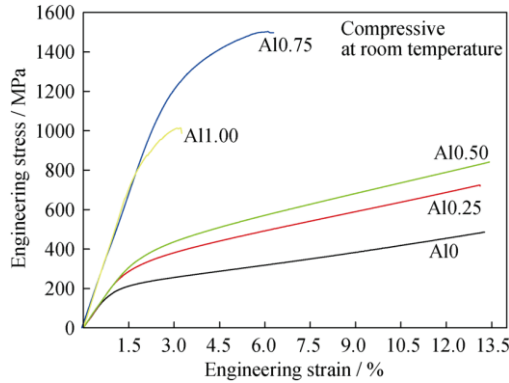
Tablo 2.1. Yüksek entropili alaşımların oda sıcaklığında basma özellikleri [7]

Kompoziston	$\dot{\epsilon}$ (s ⁻¹)	E (GPa)	σ_y (MPa)	σ_{max} (MPa)	ϵ_p (%)	S (mm)
AlCoCrFeNi	1 X 10 ⁻⁴	125,1	1,138	∞	∞	Ø5 X 10
AlCo _{0,1} CoCrFeNi	..	213,2	957	2,550	10,52	..
AlCo _{0,2} CoCrFeNi	..	150,9	906	2,386	8,68	..
AlCo _{0,3} CoCrFeNi	..	137,2	867	2,178	7,82	..
AlCo _{0,4} CoCrFeNi	..	156,1	1,056	2,375	6,67	..
AlCo _{0,5} CoCrFeNi	..	180,8	1,060	2,250	5,6	..
AlCo _{1,0} CoCrFeNi	..	75,1	1,251	2,166	7,04	..
AlCo _{1,5} CoCrFeNi	..	72,5	1,255	2,083	5,54	..
AlCoCrFeNiSi ₀	1 X 10 ⁻⁴	..	1,110	∞	∞	Ø5 X 8
AlCoCrFeNiSi _{0,2}	1,265	2,173	13,76	..

AlCoCrFeNiSi _{0,4}	1,481	2,444	13,38	..
AlCoCrFeNiSi _{0,6}	1,834	2,195	2,56	..
AlCoCrFeNiSi _{0,8}	2,179	2,664	1,77	..
AlCoCrFeNiSi _{1,0}	2,411	2,950	1,17	..
Al ₀ CoCrFeNiTi	4,167X10 ⁻³	134,6	..	2,020	9	Ø4 X 10
Al _{0,5} CoCrFeNiTi	..	106,8	..	1,600	9,9	..
Al _{1,0} CoCrFeNiTi	..	147,6	..	2,280	6,4	..
Al _{1,5} CoCrFeNiTi	..	133,4	..	2,110	9,8	..
Al _{2,0} CoCrFeNiTi	..	93,5	..	1,030	5,2	..
AlCoCrFeNiTi ₀	1,67 X 10 ⁻³	..	1,250.96	2,004.23	32,7	Ø3 X 5
AlCoCrFeNi _{0,5}	..	177,7	2,260	3,140	23,3	..
AlCoCrFeNi _{1,0}	..	90,1	1,860	2,580	8,8	..
AlCoCrFeNi _{1,5}	..	159,8	2,220	2,720	5,3	..

*gerilme oranı; ϵ , young modülü; E, basmadaki akma sınırı dayanımı; σ_y , basma dayanımı; σ_{max} , plastik gerinim; ϵ_p , numune boyutu; S

Çeşitli yükleme koşullarında yüksek entropi alaşımlarının mekanik davranışını etkilediği gibi sıcaklık etkisi de büyük önem taşımaktadır. Havacılık ve nükleer gibi alanların aşırı sıcaklıklar altındaki uygulamalarında kullanılan yüksek entropi alaşımlarının malzeme özelliklerini tanımlamak gerektiğinden kriyojenik ve yüksek sıcaklıklarda basma dayanımlarının incelenmeleri gerekmektedir [7]. Xin Xian ve arkadaşları CrMnFeCoNi alaşımına Şekil 2.13 te görüldüğü gibi farklı oranlarda Al ekleyerek oda sıcaklığında basma mukavemetini incelemişlerdir [39].



Şekil 2.13 Oda sıcaklığında döküm CrMnFeCoNiAl_x alaşımlarının basınç gerilme-uzama eğrileri [39]

CrMnFeCoNiAl_x alaşımı, düşük Al içeriğinde ($x \leq 0.50$) bir FCC fazı yapısına sahipken daha fazla Al ilavesi, BCC fazının oluşumunu teşvik etmektedir. BCC fazı daha yüksek basma mukavemeti ve sertliğe

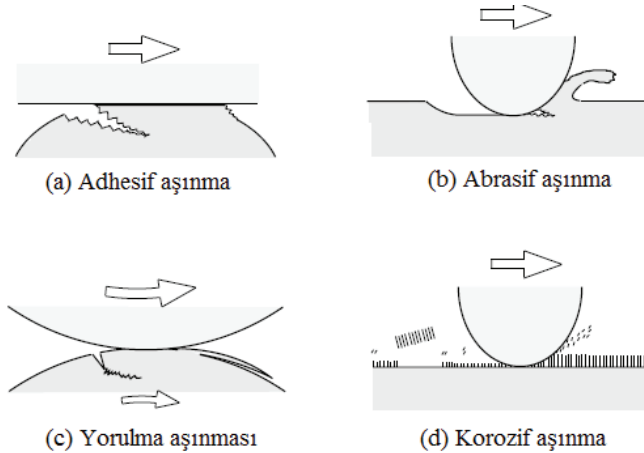
sahiptir. Sonuç olarak alaşıma Al ekleyerek basma mukavemetinin arttığı teslim edilmiştir [39].

2.4 Yorulma Mukavemeti

Yüksek entropi alaşımlarının potansiyel uygulama alanlarından biri olarak görülen uçak motoru bileşenleri için yorulma oldukça önemli bir mekanizmadır. Statik yüklemenin yanı sıra yorulma davranışı ve ömür tahmini, üzerinde çalışılması ve araştırılması gereken önemli faktörlerden biridir [36]. M.A. Hemphill ve arkadaşları yorulma davranışını incelemek amacıyla $Al_{0.5}CoCrCuFeNi$ yüksek entropi alaşımı üzerinde araştırma yapmış çelikler, titanyum alaşımları ve gelişmiş dökme metalik camlar gibi birçok geleneksel alaşımla karşılaştırıldığında 540 ile 945 MPa arasında yorulma dayanımı sınırı ve bir yorulma dayanımı sınırının nihai çekme mukavemeti oranını 0.402 ile 0.703 arasında olduğunu bildirmişlerdir [41].

2.5 Aşınma Davranışı

Aşınma; iki malzeme yüzeyinin birbiri ile kayma, yuvarlanma veya çarpma hareketi yapması ile malzemelerin birinde veya her ikisinde yüzey hasarı oluşması veya yüzeyden malzeme uzaklaşması anlamına gelmektedir. Aşınmayı meydana getiren 4 temel aşınma mekanizması Şekil 2.13'de şematik olarak gösterilmektedir [42].



Şekil 2.14 Dört Temel Aşınma Mekanizması[42]

Genellikle çoğu süper alaşımdan ve Ti alaşımından daha ucuz olmasına rağmen, Co ve Cu gibi bazı pahalı elementlerin kullanılması

nedeniyle bazı YEA'ların maliyeti çelikten daha yüksektir. Dolayısıyla, bu YEA'ların takımlarda, kalıplarda ve yapısal bileşenlerde kullanımını ekonomik açıdan doğru bir yaklaşım değildir. Ancak bu malzemeleri stratejik uygulamalar için ön plana çıkaran temel olgu aşınma özellikleridir [36]. Ming-Hao Chuang ve arkadaşları, farklı Al ve Ti içeriklerine sahip bir dizi $Al_xCo_{1.5}CrFeNi_{1.5}Ti_y$ yüksek entropi alaşımını tasarlayıp, faz ve mikroyapı incelemesinde bulunmuşlar, adhesiv aşınma davranışı ve mekanizması da inceleyip, geleneksel aşınmaya dayanıklı SUJ2 ve SKH51 çelikleri ile karşılaştırmışlardır. Al ve Ti miktarları, fazı ve mikro yapıyı özellikle sert $g-(Ni, Co)_3Ti$ fazının miktarını ve morfolojisini güçlü bir şekilde etkilediği tespit etmişler, $Co_{1.5}CrFeNi_{1.5}Ti$ ve $Al_{0.2}Co_{1.5}CrFeNi_{1.5}Ti$ alaşımlarının aşınma direncinin, benzer sertliğe sahip geleneksel aşınmaya dirençli çeliklerden en az iki kat daha iyi olduğu bulmuşlardır. Yüksek entropi alaşımlarındaki mükemmel anti-oksidasyon özelliği ve ısıl yumuşamaya karşı direnç, olağanüstü aşınma direncinin ana nedenleri olarak görülmektedir [43].

2.6 Korozyon Davranışı

Alaşımların bileşimi ve mikroyapısı korozyon davranışını belirleyen iki önemli faktördür. Ayrıca, diğer elementlerin eklenmesi, farklı çevresel koşullara maruz kalan alaşımların doğasını da etkilemektedir. Heterojenlik derecesi çukur korozyonu hızlandırabilmektedir. Bu nedenle katı çözeltiler, çok fazlı alaşımlara kıyasla korozyona karşı daha fazla direnç sağlamaktadır [14]. Ziyi Zhou ve arkadaşları $FeCoNiCrMn$ yüksek entropi alaşımına W ilavesinin %3,5 NaCl çözeltisindeki korozyon davranışları üzerindeki etkilerini araştırmış, tüm W katkılı yüksek entropi alaşımlarının daha iyi bir korozyon direncine sahip olduğunu bildirmiştir [44].

2.6.1 Alaşım elementi etkileri

Paslanmaz çeliğin korozyon direnci, Cr oksit/hidroksitin yüzeyde oluşturduğu pasif filmin ayrılmaz bir şekilde bileşimiyle sağlanmaktadır. Pasivasyonu sağlamak için genel olarak Cr içeriğinin % 12'den fazla olması gerektiği düşünülmektedir. Cr, klasik yüksek entropi alaşım sistemlerinde temel unsurlardan biridir ve Cr, YEA'larının mükemmel korozyon direncini sağlar niteliktedir. Chai ve arkadaşları sırasıyla 0.5 M H_2SO_4 ve ağırlıkça % 3.5 NaCl içerisindeki FCC yapıları $FeCoNiCr_x$ ($x = 0,0.5, 1.0$) alaşımının korozyon davranışına Cr içeriğinin etkisini araştırmış, Cr içeren $FeCoNiCr_{0.5}$ alaşımının hala bir silindirik hücre yapısını koruduğunu, ancak $FeCoNiCr_{0.5}$ alaşımının hem pasif bölgesi hem de parçalanma potansiyelinin her iki çözeltide de önemli ölçüde

arttığını göstermiştir [45]. Nikel, alaşımların mekanik özellikleri ve korozyon davranışlarını geliştiren östenit yapıcı stabil bir elementtir. Ni bazlı korozyona dayanıklı alaşımlar petrol, kimya, elektrik enerjisi ve diğer endüstrilerde yaygın olarak gözlemlenen çeşitli asit korozyonuna ve gerilme korozyonuna dayanabilmektedir. Genel olarak, YEA'larının temel unsurlarından biri olarak değerlendirilen Ni, içerik olarak paslanmaz çelikten çok daha yüksek, Ni bazlı korozyona dirençli alaşımlardakinden daha düşüktür ve bu, aynı zamanda korozyona dirençli YEA'lar için önemli bir değerdir. Orta düzeyde bir Mo içeriği, paslanmaz çeliklerin yüzeyinde pasif filmin oluşumunu ve yeniden pasivasyonunu kolaylaştırır, böylece alaşımın klorür içeren çözelti içindeki çukurlaşma direncini geliştirir. Bugüne kadar, CoCrFeNiMo_{0.2} alaşımı, klorür içeren solüsyonda CoCrFeNi bazlı YEA'lara göre en iyi çukurlaşma direncini sergilemektedir [45]. Ti' un standart elektrot potansiyeli Cr, Ni ve Al' ninkinden daha düşükken, pasifleştirme kabiliyeti bu metallere daha yüksektir. Çoğu sulu çözeltide Ti, düşük bir kritik pasivasyon potansiyeli ve mükemmel korozyon direncini gösteren geniş bir pasif bölge sergilemektedir. Ti içeren YEA'lar kompleks bir mikroyapıya sahiptir ve intermetalik bileşik oluşturma eğilimindedir. Ti içeriği arttıkça, FeCoCrAlNiTi_x (x = 0.5, 1, 1.5, 2) alaşımlarında Ti₂Ni çökeltileri görülmektedir. Benzer şekilde, Al_{0.3}CrFe_{1.5}MnNi_{0.5}Ti_x (x > 0.5) alaşım sistemindeki Ti ilavesi, Cr₉Al₁₇ ve CrNiFe intermetalik bileşiklerin oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

304 paslanmaz çelikte orta düzeyde bir Cu içeriği hem korozyon direncini hem de mekanik özellikleri geliştirmektedir. Bugüne kadar, çok sayıda çalışma, Cu ilavesinin YEA'ın korozyon davranışı ve korozyon mekanizması üzerindeki etkisini araştırmıştır. YEA'larındaki Cu ilavesi, Cu ve diğer ana elementler arasındaki zayıf bağlama kuvveti nedeniyle, interdendritik bölgelerde ve tane sınırlarında elementel ayrışmayı kötüleştirme eğilimindedir.

Karbon, çeliklerde alaşımların mukavemetini ve sertliğini artıran önemli bir alaşım elementidir ve FeCoCrNiMn alaşımında da benzer özellik sergilemekte ayrıca, orta düzeyde bir C ilavesi alaşımların yerel korozyonunu engellemektedir. N içeren östenitik paslanmaz çeliklere C ilave edilmesi çukur ve çatlak korozyonunu engellemektedir.

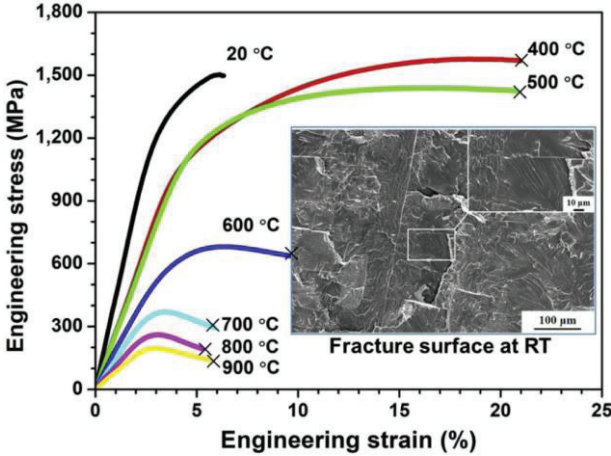
CoCrFeNiMn alaşımı, Cantor tarafından 2004 yılında geliştirilen klasik bir YEA sistemidir ve Mn faz kararlılığı, mekanik özellikler, oksidasyon direnci gibi konularda önemli bir rol oynayan unsurdur. Alaşımların yoğunluğunu azaltmanın yanı sıra, Al ilavesi, YEA'larının mekanik özelliğini de artırmaktadır. Al, yüzeyde korozyon oranını azaltan yoğun bir oksit film oluşturmaya sağlamakta, bu nedenle Al

ilavesi, Ni bazlı alaşımlarla pasif filmin korumasına katkı sağlamaktadır [45].

2.7 Mukavemet ve Süneklik

Birçok metalik malzeme gibi, yüksek entropi alaşımlarının da yoğun olarak kullanıldığı ya da kullanılması muhtemel alanların başında yapısal uygulamalar gelmektedir. Dolayısıyla bu malzemelerin ön plana çıkan özellikleri süneklik ve mukavemet gibi mekanik özellikleridir. YEA'larının mukavemet ve sünekliğini etkileyen çok sayıda etmen bulunmakla birlikte elementel kompozisyon şüphesiz en önemli faktördür. Ayrıca mikroyapı, çalışma sıcaklığı, alaşımların üretilme ve işlenme şekli de bu malzemelerin mukavemet ve sünekliğini etkileyen diğer faktörler olarak görülmektedir [46].

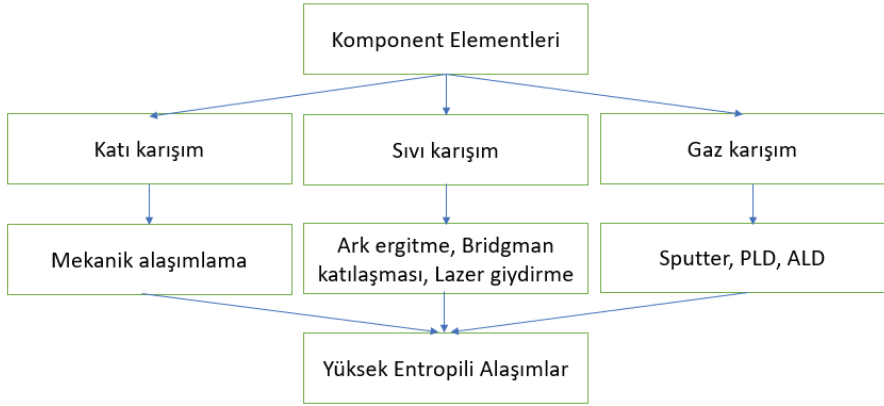
CrMnFeCoNiAl_{0.75} alaşımı oda sıcaklığından 900 °C'ye kadar basma deneyine tabii tutulmuş, oda sıcaklığı akma mukavemeti ve uzaması, sırasıyla 1194 MPa ve % 2.7 olarak tespit edilmiştir. Oda sıcaklığında elde edilen 1194 MPa'lık yüksek akma mukavemeti BCC faz yapısı ile açıklanmıştır. Şekil 2.14'te de görüldüğü gibi 400°C ve 500°C sıcaklıklarda yapılan basma deneyinde malzeme mükemmel bir mukavemet ve süneklik kombinasyonu sergilemiştir. Ancak, test sıcaklığının daha da artması ile akma mukavemetinde bir azalma meydana gelmiş 600°C'de yaklaşık 600 MPa, 700°C'de yaklaşık 300 MPa olarak önemli ölçüde bir düşüş tespit edilmiştir [5].



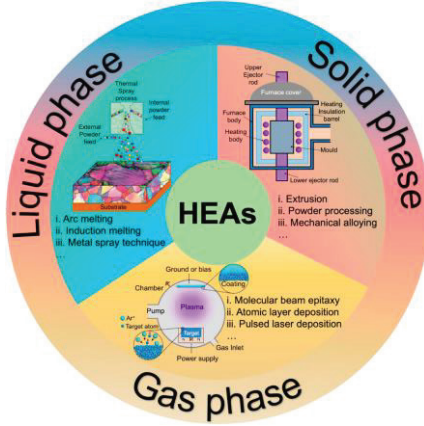
Şekil 2.15 Oda ve yüksek sıcaklıklarda CrMnFeCoNiAl_{0.75} alaşımı için basma mühendisliği gerilim-gerinim eğrileri.[5]

3. ÜRETİM YÖNTEMLERİ VE MODELLEME

Geleneksel malzemelerin üretiminde kullanılan klasik imalat yöntemleri, yüksek entropi alaşımlarının elde edilmesinde optimum özelliklere ulaşmak adına tam olarak ihtiyaçlara cevap verecek nitelikte değildir. Literatürde yüksek entropi alaşımlarının sentezlenmesi için (1) sıvı halden: ark eritme, (2) katı halden: yüksek enerjili bilyalı değirmen, (3) gaz halinden: püskürtme yöntemi olarak üç tipik proses kabul görmektedir. İlk yöntem, esas olarak mekanik alaşımlamayı içeren katı haldendir. İkinci yöntem, ark ergitme, elektrik dirençli ergitme, endüktif ergitme, lazer ergitme, lazer kaplamayı içeren sıvı haldendir. Üçüncü yöntem, lazer biriktirme (PLD), atomik katman biriktirme (ALD), moleküler ışın epitaksi (MBE) ve buhar fazı biriktirmeyi içeren gaz halindedir [6,47,48]. Ortaya çıkış tarihinden günümüze, yüksek entropi alaşımlarının üretilmesine yönelik çeşitli sentezleme yaklaşımları elde etmek için çok sayıda strateji geliştirilmiştir [49].



Şekil 3.1 Yüksek entropili alaşımların üretim yöntemleri ana şeması [16]



Şekil 3.2 Farklı gaz, sıvı ve katı faz reaksiyonlarına dayanan YEA'ların sentezi için tipik stratejiler [49]

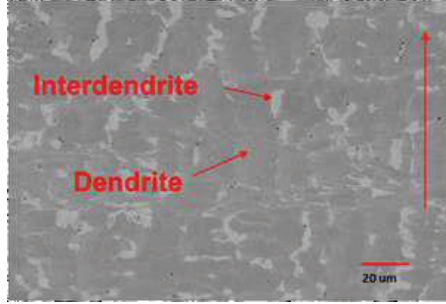
3.1 Sıvı Hal Üretim Yöntemleri

Sıvı hal üretimi ark ergitme, indüksiyonla ergitme, metal püskürtme lazerle kaplama ve Bridgman katılaştırma döküm yöntemlerini içermektedir ve bunlar arasında ark eritme, yüksek entropi alaşımlarının üretiminde en çok kullanılan yöntemdir [49, 50].

3.1.1 Ark ergitme

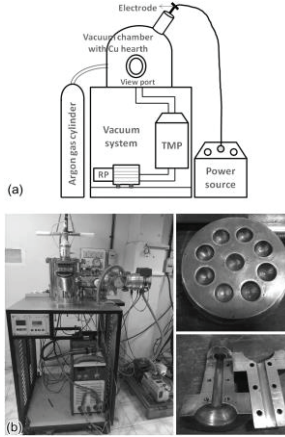
Şimdiye kadar üretimi gerçekleştirilen yüksek entropi alaşımlarının büyük çoğunluğu vakum ark ergitme ve belli bir kısmı da vakum indüksiyon ergitme yöntemleri ile elde edilmiştir. Ark ergitme işlemi esnasında ulaşılan sıcaklıklar YEA'larını oluşturan elementlerin çoğunu eritmek için yeterli olan yüksek (yaklaşık 3000 C'ye yakın) sıcaklığı karşılayabildiğinden, ark ergitme prosesi YEA'larının üretimi için en popüler teknik olarak görülmektedir [2]. Ark ergitme fırınının torç sıcaklığı oldukça yüksek ($> 3000^{\circ}\text{C}$) olup, elektrik gücü ayarlanarak kontrol edilmektedir. Bu nedenle, yüksek erime sıcaklığına sahip elementlerin çoğu sıvı halde bu tür fırınlarla karıştırılmaktadır. Öte yandan, ark ergitme, kolaylıkla buharlaşan ve bileşimin kontrolünü zorlaştıran düşük erime noktasına (Mg, Zn ve Mn) sahip elementler için pek uygun değildir. Bu durumda dirençli ısıtma veya indüksiyonlu ısıtma çok daha uygun bir seçenek olarak değerlendirilmelidir [51]. Bir diğer sınırlılığı, düşük katılmanın neden olduğu farklı ayırma mekanizmalarına sahip heterojen bir yapının ortaya çıkmasıdır. Şekil 12, vakum ark tekniği kullanılarak YEA'larının üretiminde karşılaşılan tipik

katılaşma mikro yapısındaki dendritik ve interdendritik yapıları göstermektedir [49].



Şekil 3.3 Vakumlu ark eritme ve döküm yöntemi kullanılarak üretilen $Al_{0,5}CoCrCuFeNi$ alaşımının mikroyapısı [50]

Metalleri laboratuvar ölçeğinde eritmek ve dökmek için Şekil 3.4'te şematik görünümü verilen vakumlu ark eritme ünitesi kullanılmaktadır. Öncelikle eritilecek metaller, su soğutmalı bakır ocakta bir potaya yerleştirilir. Güç kaynağı olarak tükenmeyen bir tungsten elektrot kullanılır ve metalleri eritmek için elektrot ile potaya yerleştirilen metaller arasında çarpan bir elektrik arkı oluşturulur. Önce döner pompa (RP) ve difüzyon pompası (DP) kullanılarak 7-10 mbar düzeyinde bir vakuma ulaşılır ve ardından vakum odası içinde argon gazı gönderilerek temizlenir. Günümüzde vakum ark eritme ünitesinde difüzyon pompası yerine, çok kısa sürede 9-10 mbar vakum seviyesine ulaşabilen turbomoleküler pompa (TMP) tercih edilmektedir [14].



Şekil 3.4 (a) Vakum arklı eritme ünitesinin şeması ve (b) bakır pota ve iki tip bakır kalıp içeren ark eritme ve emme döküm ekipmanının fotoğrafı

[14]

Alaşımın kimyasal homojenliğini sağlamak için bir kaç kez tekrarlanan ertitme ve katılaştırma işlemleri gerçekleştirilmektedir. Katılaşmış külçelerin şekli, bakır pota içerisinde tablet şeklini alır veya Şekil 3.5’de gösterildiği gibi eriyiğin, bakır potanın dibinde önceden işlenmiş delikten bakır kalıba düşmesi sağlanmaktadır [5].

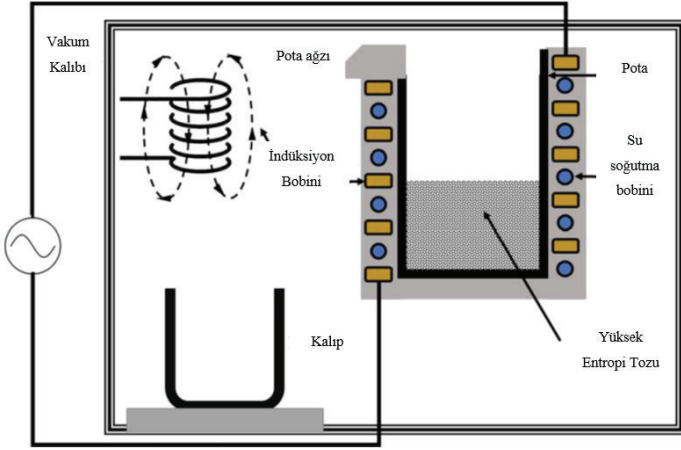


Şekil 3.5. Ark ertitme ve döküm ekipmanının fotoğrafı (sağdaki ikisi bakır pota ve bakır kalıptır) [6]

Bu yöntemle daha yüksek soğutma hızıyla silindirik külçeler elde edilmekte ve çekme/basma testleri için işlemeye uygun numuneler üretilmektedir. Bu döküm yöntemine dayanarak, benzersiz özelliklere sahip bir dizi YEA geliştirilmiştir [6].

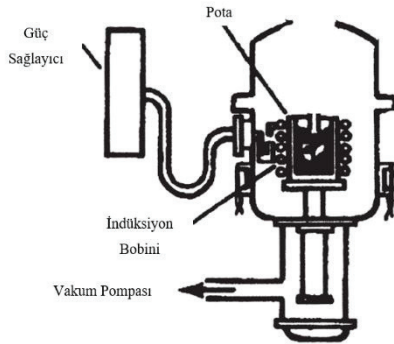
3.1.2 Vakum indüksiyon ertitme

Vakum indüksiyonla ertitme (VIM) yöntemi, bir alaşımın vakum altında veya inert bir atmosfer ortamında elektromanyetik indüksiyonla eritilmesini içeren, yaygın olarak kullanılan bir "ertitme döküm" tekniğidir. İşlem sırasındaki ana güç kaynağı, bir indüksiyon bobininden geçen alternatif bir akımın oluşturduğu alternatif manyetik alandır [52].



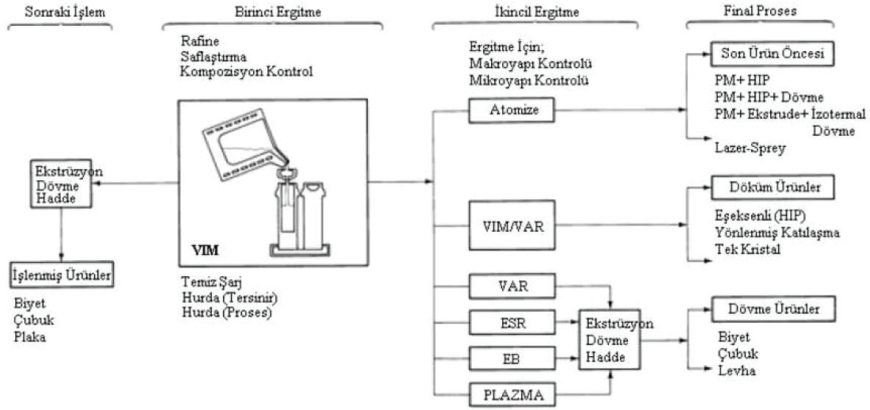
Şekil 3.6. Vakum indüksiyonlu eritme işleminin şematik diyagramı [53]

Bir VIM fırını, basitçe, yüksek hızlı bir vakum sistemine bağlı çelik bir kabuk içindeki bir eritme potasıdır. Isıtma, bir dizi indüksiyon bobininden geçen elektrik akımı ile yapılmaktadır. Akımın bobinlerden geçişi, refrakter içindeki yükte bir akımı indükleyen manyetik bir alan oluşturur. Yüklenen malzemenin ısıtılması, tamamen ergime için yeterli olduğunda, bu manyetik alanlar sıvı haldeki malzemenin karışmasına olanak sağlamaktadır. Yükü ısıtmak için optimum indüksiyon bobini frekansı, şarj şekli, boyutu ve ergime durumuna (sıvı veya katı) göre değişmektedir. Eski tip ekipmanlarda tek bir frekans kullanırken, günümüzde hızlı ısıtma/ergitme koşulları elde etmek için ergiyik süresince ayarlanabilen frekanslarla çalışılmaktadır [54].



Şekil 3.7 Vakum indüksiyonlu ergitme fırınının temel elemanları [54]

Şekil 3.8’de akış şeması verilen VIM üretim prosesinin dikkat edilmesi gereken noktası ergitilen sıvının ya hemen VIM sonrası işleme alınıp ürün haline dönüştürülmesi ya da VIM sonrası birtakım ergitme, yeniden ergitme ve dövme gibi bir takım proseslerden geçirilerek daha kaliteli ürün üretilmesine olanak sağlanmasıdır [55].



Şekil 3.8 VIM üretim süreci akış şeması[55]

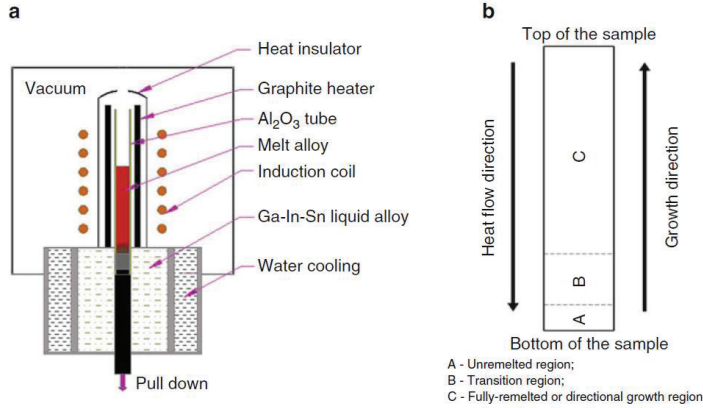
3.1.3 Bridgman katılaştırma döküm

Başka bir sıvı hal üretim tekniği, Harvard fizikçisi Percy Williams Bridgman ve Massachusetts Institute Technology (MIT) fizikçisi Donald C. Stockbarger'ın adı verdiği Bridgman-Stockbarger yöntemi olarak da adlandırılan Bridgman katılaştırmasıdır [36]. Yaygın olarak BST olarak bilinen Bridgman katılaştırma tekniğinin, özellik geliştirmeye yönelik, mikroyapısal kontrol ile katılaştırılmış ürünler elde etmek için etkili bir yol olduğu literatürde iyi bilinmektedir [14].



Şekil 3.9 Bridgman katılaşma ekipmanının fotoğrafı [6]

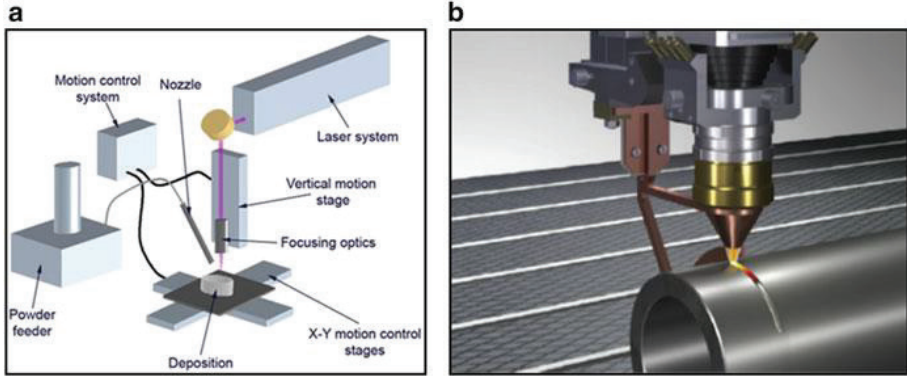
Şekil 3.10'da şematik diyagramı gösterilen BST işleminde ilk olarak, hedef alaşımlar geleneksel döküm yöntemiyle çubuk şeklindeki üretilmektedir Daha sonra üretilen numuneler parçalara ayrılarak iç çapı 3 mm ve cidar kalınlığı ~ 1 mm olan bir alümina tüpe yerleştirilip, uygun ısıtma hızı ve bekleme süresi ayarlanarak tamamen ergimiş duruma kadar indüktif olarak ısıtılmaktadır. Daha sonra, BS işlemi, 5 ila 2000 $\mu\text{m/s}$ arasında değişen bir geri çekme hızı ve ~ 45 K / mm'lik bir sıcaklık gradyanı G ile gerçekleştirilmektedir [6].



Şekil 3.10 BST'nin şematik diyagramı: (a) BS işleme ve (b) numune konumu [6]

3.1.4 Lazer eritme ve lazer kaplama

Lazer kaplama, enerji kaynağı olarak lazerden konsantre bir ışını kullanıp, çok küçük bir alana odaklanarak alt tabakanın ısıdan etkilenen bölgesini çok dar tutabilmektedir. Bu özellik çatlama, boşluk ve deformasyon olasılığını en aza indirmekle birlikte termal spreye göre daha üstün bir bağlanmanın gerçekleşmesine olanak sağlamaktadır. Lazer kaplama işleminin şematik çizimi Şekil 3.11a'da gösterilmektedir. Temel sistem, ışını oluşturmak için bir lazer kaynağından, ışını yönlendirmek ve odaklamak için bir dizi optikten ve bir toz besleyici ile bir parça manipülatöründen oluşmaktadır. Lazer ve optikler sabit olup numuneler lazere göre hareket ettirilmektedir. Lazer kaplama sistemleri, kaplama işleminin hassas kontrolünü sağlamak için tam otomatik olarak dizayn edilmiştir. Lazer ışını tarafından üretilen eriyik havuzu, ışın ve toz enjeksiyonu uzaklaştıkça hızlıca katılaşmakta ve tamamen yoğun bir yapı haline gelmektedir. Kaplamadan sonra malzemenin yüzeyini korumak için tek ve üst üste binen çok geçişli bir katman oluşturulabilmektedir. Bu nedenle çeşitli ebat ve şekillerde her türlü ürüne uygulanabilmekte ve ticari olarak pazar kazanmaya devam etmektedir [6].



Şekil 3.11 (a) Şematik diyagram ve (b) lazer kaplama işleminin çalışması [6]

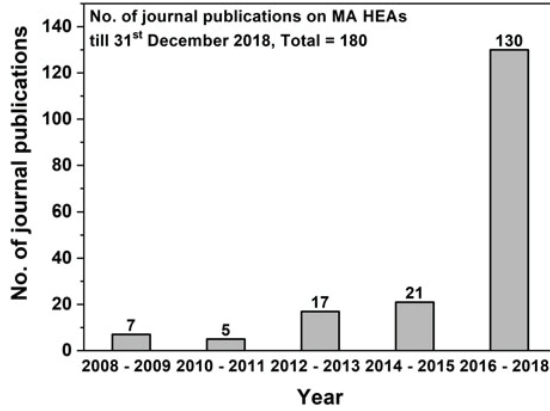
3.2 Katı Hal Üretim Yöntemleri

Katı hal üretimi, metallerin mikro/nano tozlarından öğütme, haddeleme, termal ayrıştırma ve diğer işleme yöntemleriyle bireysel katı fazlarından doğrudan nihai katı faza kadar oluşturulan bir işlemdir. Bazı tipik geleneksel yöntemler arasında ekstrüzyon, toz metalurjisi ve mekanik alaşımlama yöntemleri bulunmaktadır. Kısaca katı hal üretimi,

herhangi bir füzyon olmaksızın toz karıştırma işlemidir ve karıştırma işlemi elektriksel, termal ve mekanik yollarla gerçekleştirilmektedir [49].

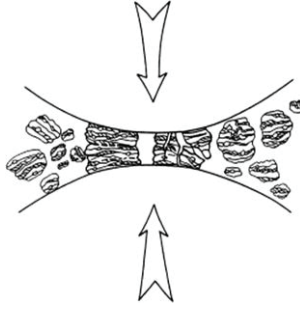
3.2.1 Toz metalürjisi

Toz metalürjisi, hammadde olarak toz partiküllerinin bilyalı öğütme (BM) veya mekanik alaşımlama (MA) teknikleriyle partikül boyutunun küçültülmesi ve aynı zamanda farklı elementler arasında alaşım oluşturma işleminin gerçekleştirildiği bir katı hal üretim yöntemidir [14]. Mekanik alaşımlama (MA) ve ardından sinterleme, nanokristalin yüksek entropi alaşımlarının (YEA'lar) üretiminde yaygın olarak kullanılan proseslerden biridir. Gelişmiş katı çözünebilirlik, oda sıcaklığında işleme ve homojen alaşım oluşumu, MA tarafından sağlanan temel faydalardır. MA ile YEA'larının ilk sentezi, 2008 yılında nanokristalin AlCrCuFe-TiZn alaşımını üreten Varalakshmi ve arkadaşlarına aittir. O zamandan bugüne kadar MA ile YEA eldesi hakkında Şekil 3.12'de gösterildiği gibi her geçen gün artan sayıda araştırma makalesi yayınlanmıştır [56].



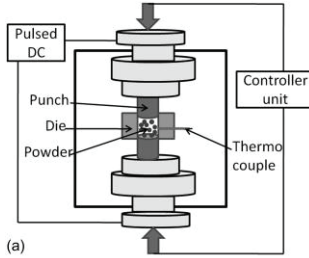
Şekil 3.12 Mekanik olarak alaşımlı YEA ile ilgili dergi yayınlarının sayısı [56]

MA, homojen bir alaşım elde etmek için farklı özellikteki tozların birbirine difüzyonunu içeren yüksek enerjili bilyeli öğütme işlemi olarak nitelendirilmektedir. Bu teknik nanokristalizasyona ve hatta amorfizasyona yol açan partiküllerin sürekli deformasyonunu, kırılmasını ve kaynaklanmasını içeren kompleks bir süreç olup ilk olarak Benjamin ve çalışma arkadaşları tarafından oksit dispersiyonu ile güçlendirilmiş Ni bazlı süper alaşımlar üretmek için programın bir parçası olarak geliştirilmiştir [2].



Şekil 3.13 Yüksek enerjili bilyalı öğütme sırasında bilye ve toz parçacıklarının çarpışması sırasında kırılma ve kaynak olayı [2]

MA sonrası toz karışım sinterleme öncesi şekillendirilmek için kalıplar içerisine yerleştirilerek nihai şekline sıkıştırılmaktadır. Bu aşım bir fırın içerisinde erime noktasının altındaki bir sıcaklığa inert bir atmosferde ısıtılarak sinterleme işlemi gerçekleştirilip metalürjik bağ oluşumu sağlanmaktadır. Günümüzde sıcak izostatik presleme (HIP), sıcak presleme (HP) gibi geleneksel sinterleme tekniklerinin yerine sıkıştırma ve sinterlemenin aynı anda gerçekleştiği spark plazma sinterlemesi (SPS) tercih edilmektedir [14].



Şekil 3.14. (a) Kıvılcım plazma sinterleme (SPS) kurulumunun şematiği ve (b) IIT Kanpur'daki SPS tesisinin fotoğrafı [14]

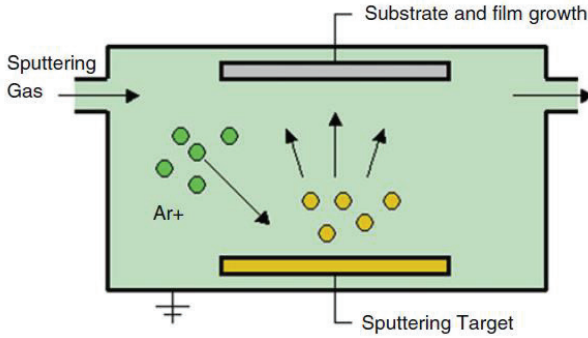
Peyman Asghari-Rad ve arkadaşları CoCrFeMnNi yüksek entropi alaşımını toz metalurjisi yöntemi ile üreterek özelliklerini incelemişler, daha iyi süneklik ve mukavemet değerleri elde ettiklerini bildirmişlerdir. 754 MPa gibi yüksek bir akma gerilmesine ve % 58 lik ultra yüksek bir süneklığe ulaşmış olup, bu güne kadar toz metalurjisi yöntemiyle elde edilmiş en yüksek değer olarak tarihe geçilmiştir [57].

3.3 Gaz Hal Üretim Yöntemleri (Fiziksel buhar biriktirme)

Fiziksel buhar biriktirme (PVD), malzemelerin buharlaştırılmış bir biçiminin iş parçası yüzeyine yoğunlaştırılmasıyla yüzeyde ince filmlerin elde edilmesi için kullanılan bir prosestir. Uygulama özelliklerine bağlı olarak katodik ark biriktirme, elektron ışını fiziksel buhar biriktirme, darbeli lazer biriktirme ve püskürtme biriktirme olarak adlandırılmaktadır [6].

3.3.1 Magnetron püskürtme biriktirme

Magnetron püskürtme biriktirme, YEA filmleri elde etmek için en popüler yöntem olup püskürtme gazından gelen iyon veya atomlar altlık üzerinde rastgele olarak biriktirilmesine dayanan bir yöntemdir. YEA filminin çekirdeklenmesi ve büyümesi, dolayısıyla mikro yapısı, kaynak materyalin biçimi, gücü, taban basıncı, atmosfer kompozisyonu, altlık malzemenin ön gerilim voltajı ve iş parçası sıcaklığı gibi parametreler tarafından belirlenmektedir [6].



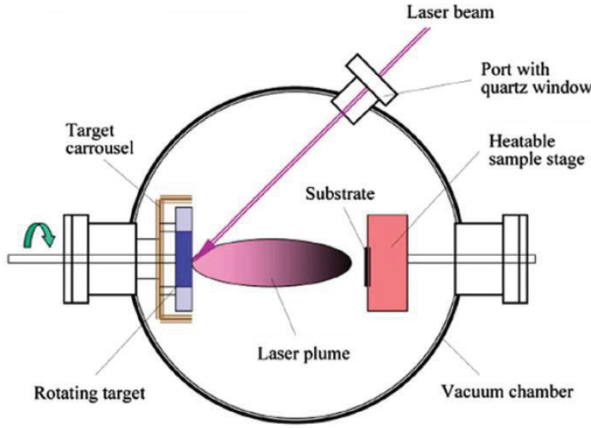
Şekil 3.15. Püskürtme birikiminin işlenmesini gösteren bir şematik [6]

Xu Yu ve arkadaşları CrNbSiTiZr yüksek entropi alaşımlarının filmlerini radyo frekansı magnetron püskürtme yöntemiyle üretip özelliklerini incelemişler, yüksek sertlik, yüksek basma mukavemeti ve

ağırlıkça % 3,5 NaCl çözeltisinde üstün korozyon direnci gösterdiklerini bildirilmiştir [58].

3.3.2 Darbeli lazer biriktirme

PLD, başka bir ince film biriktirme tekniği olarak, çok tabakalı veya karmaşık stokiometriye sahip malzemelerin biriktirilmesinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır [6].

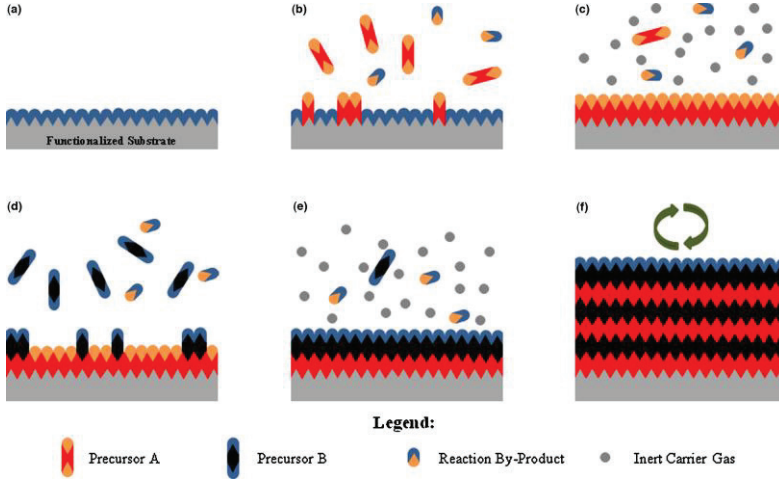


Şekil 3.16 Darbeli lazer biriktirme işleminin şematik gösterimi [6]

Vakum odasından gelen yüksek enerjili bir lazer ışını, YEA'larına güçlü bir şekilde vurarak oluşan aşırı ısının etkisiyle YEA'nın atomlarını, iyonlarını ve elektronlarını alt tabaka yüzeyine ince bir film olarak biriktirmektedir [6].

3.3.3 Atomik katman birikimi

Atomik katman biriktirme (ALD), buhar fazından çeşitli ince film malzemelerini biriktirebilen özellikle yarı iletken ve enerji dönüştürme teknolojilerinde kullanım olanağı bulacağı düşünülen bir tekniktir. Çeşitli fiziksel buhar biriktirme (PVD) teknikleri gibi alternatif biriktirme yöntemleri ile kıyaslandığında ALD, malzeme kalınlığı ve bileşimi üzerinde kontrol imkanı tanıdığından büyük avantajlara sahiptir [59].



Şekil 3.17. ALD sürecinin şematik görünümü [59]

Atomik katman biriktirme (ALD) tekniğinde öncelikle yüzey işlenmektedir. Daha sonra gaz halindeki kimyasal başlatıcılar altlık ile reaksiyona girmektedir. Bu ayrı ayrı gaz yüzey reaksiyonları "yarı reaksiyonlar" olarak adlandırılır ve uygun şekilde malzeme sentezinin sadece bir kısmını oluşturmaktadır. Fazla reaksiyon yan ürünleri, inert taşıyıcı gazla temizlenmektedir. İstenilen malzeme kalınlığına ulaşılan kadar bu işlem tekrarlanmaktadır [59,60].

3.4 Entegre Hesaplamalı Malzeme Mühendisliği

Entegre Hesaplamalı Malzeme Mühendisliği (ICME) adı, yirmi birinci yüzyılın geniş kapsamlı uygulamaları için yeni malzemelerin tanımlanması ve oluşturulmasıyla ilgili soruların yanıtlanmasında yer alan "malzeme mühendisliğine" farklı bakış açısı getiren bir dizi hesaplama modelinin birleşimidir [2]. CALPHAD yönteminin yanı sıra, farklı hesaplama modelleri de bir malzemenin ilgili davranışını ve özelliklerini hesaplamaya, açıklamaya ve tahmin etmeye katkıda bulunmaktadır. Bu simülasyon teknikleri, moleküler dinamik (MD) gibi ab-initio yöntemlerini ve sonlu elemanlar gibi süreklilik tekniklerini içermektedir [2].

3.4.1 CALPHAD yöntemi

Yaklaşık 35 yıl önce, Larry Kaufman ve Himo Ansara alaşım faz diyagramlarının hesaplanması üzerinde çalışan az sayıda bilim adamını bir araya getirmiştir. Bu, CALPHAD' ın ve faz diyagramları ile

termokimya arasında ilk kez bilgisayar bağlantısını oluşturmuştur. CALPHAD, malzeme geliştirmenin birçok alanında başarılı ve yaygın olarak uygulanan bir araç haline gelmiştir. Son çeyrek yüzyılda malzeme geliştirme alanında en önemli buluşlardan birisi olan CALPHAD, 1960'larda ortaya çıkmaya başlamıştır. CALPHAD yönteminde, ilk olarak, bir sistemin bileşenlerinin mevcut termodinamik özellikleri ve faz denge verileri toplanmaktadır. Daha sonra, sistemin termodinamik bir açıklaması elde edilmekte ve temelde sadece bilinen termodinamik bilgileri yeniden üretmek için kullanılmayan, aynı zamanda sistemin bilinmeyen termodinamik özelliklerinin tahmin edilebileceği umulan matematiksel bir model oluşturulmaktadır [2]. Yani kısaca anlatmak gerekirse bu yöntem, termodinamik verileri kullanarak faz diyagramlarının oluşturulmasını sağlamaktadır [60]. CALPHAD yönteminin özü, güvenilir deneysel verilere dayalı olarak sıcaklık bileşimin bir fonksiyonu olarak yarı deneysel denklemler kullanmak kaydıyla ilgili sistemdeki her faz için Gibbs serbest enerjisinin tutarlı tanımlarından oluşan güvenilir bir termodinamik veritabanı geliştirmektir. Veritabanı geliştirildikten sonra, bu sistemin faz diyagramlarını ve termodinamik özelliklerini tahmin etmek için kullanılmaktadır. Tipik termodinamik hesaplamalar arasında, faz kompozisyonları, sıcaklık, basınç ve kompozisyonun bir fonksiyonu olarak faz kararlılığı bulunmaktadır [36]. Bu nedenle, CALPHAD, YEA'ları tasarlamak için en uygun yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir [6].

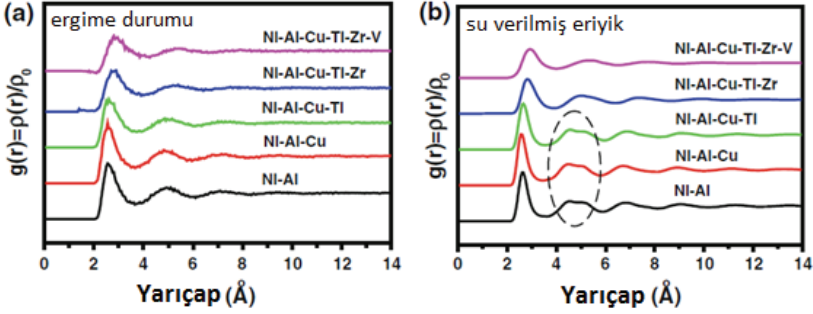
3.4.2 Ab-Initio hesaplamaları

DFT gibi ab-initio hesaplamaları, Schrodinger denklemlerinin çözümüyle atomların elektronik yapısının doğrudan hesaplanmasını içermektedir. Bu yöntem elektronik yapının belirlenmesi, malzemeler arasındaki etkileşimi de içeren, malzeme davranışını ve özelliklerini tahmin etmek için kullanılmaktadır. Böylelikle ikili veya çoklu fazlar için oluşum enerjileri, manyetik durumlar ve kafes parametreleri belirlenebilmektedir. Ancak dezavantajı, ab-initio hesaplamalarının büyük miktarda sayısal hesaplama gerektirmesidir ve hesaplama süresi atomların sayısıyla birlikte hızla artmaktadır [2].

3.4.3 MD simülasyonu

MD simülasyonları ise potansiyel modeller uygulanarak amorf yapıları YEA'larında element sayısı ve boyut farklılığını çalışmak için kullanılmaktadır. MD simülasyonları, iki farklı atom arası kendilerine has latislerindeki bağlanma kuvvetlerinin geometrik ortalaması olarak atomlar arası kuvveti sağlayıp, sistem ideal çözelti gibi davranacağından basit bir modeldir. Başka bir deyişle MD gibi simülasyonlar farklı iki

atom arasındaki gerçek bağlanma enerjisi etkisine imkân vermez ve sadece element sayısından ve atom boyutundan etkiyi incelemektedir. Geleneksel ikili alaşımlara sırasıyla birer element eklenmesiyle YEA'lar oluşturulur. Böylece düzenli yapı gösteren ve iyi tanımlı piklere sahip olan iki elementten dört elementli alaşımlara kadar modelleri görebilmek mümkündür. Ergimiş halden 2200K'e ısıtıldığında, model Şekil 3.18'de görüldüğü gibi sıvı yapıyı göstermektedir. İlave olarak element sayısının artmasıyla pikler genişler ve pikler arası uzaklık artar, bu da sıvı yapının daha düzensiz hale geldiğini göstermektedir. Su verilmiş eriyik bölgesinde 5 elementli ve 6 elementli alaşımlar sıvı benzeri katı birer yapı göstermektedir. Fakat 2-4 elementli alaşımlar, katı fazdan daha düzenli yapı gösteren ikincil piklerinde ayrıldığından amorf yapı göstermektedir. Bu durum, element sayısının artmasıyla büyük atomik boyut farklılıklarının amorflaşmayı geliştirdiğini göstermektedir [9].



Şekil 3.18. (a)2200 K'de eriyik fazdan ve (b)Ni-Al bileşiminden NiAlCuTiZrV bileşimi için su verilmiş fazın MD simülasyonları tarafından elde edilen radyal dağılım fonksiyonları [9]

4. UYGULAMALAR VE GELECEKTEKİ BEKLENTİLER

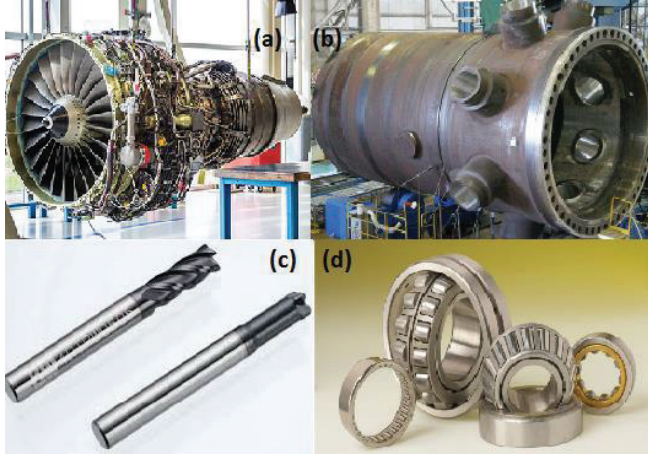
4.1 Uygulama alanları

Yüksek entropi alaşımları, geleneksel alaşımların aksine atomik konsantrasyonları % 5 ile % 35 arasında olan elementlerden oluşmaktadır. Bu yeni nesil metalik malzemeler, olağanüstü özelliklerinden dolayı birçok mühendislik uygulamasında kullanım alanı bulmuştur [52]. Mevcut olan literatürden de anlaşıldığı gibi ideal bir alaşım bileşimine sahip ve ideal bir üretim yöntemiyle üretilen YEAların zor servis şartlarının bulunduğu uygulamalarda geleneksel alaşımların yerini alması beklenmektedir [2]. YEAların özellikleri ve özelliklerine bağlı olarak kullanım alanları şöyle sıralanabilirler;

- Yavaş difüzyon etkileri nedeniyle yüksek sıcaklık uygulamalarında süper alaşımlara kıyasla daha verimlidirler.
- Yüksek sıcaklık direnci, iyi boyutsal kararlılık, yüksek aşınma ve korozyon direncinin gerekli olduğu alanlarda iyi bir alternatif olarak düşünülmekte ve birçok fonksiyonel ve yapısal uygulamada kullanılırlar.
- Yüksek korozyon direncinden dolayı denizcilik uygulamalarında, kimya fabrikalarında kullanılabilirler.
- Yüksek sıcaklıklara karşı dirençleri sayesinde enerji santrallerinde, savunma ve askeri uygulamalarda, havacılık malzemelerinde, endüstriyel fırınlarda, gaz türbini motorlarında, roket nozullarında, nükleer yapılarda ve döner anotlarda yapı malzemesi olarak kullanılabilirler [50].
- Mükemmel yüksek sıcaklık özellikleri nedeniyle örneğin daha hafif olması ve daha düşük maliyetli olması beklenen AlCoCrFeNi'nin Ni bazlı süperalaşımın yerini alma potansiyeli beklenmektedir.
- YEA'ları Ti bazlı alaşımlar için termal bariyer kaplamaları ve entegre devre (IC) endüstrilerinde Cu ve Si arasında bir difüzyon bariyeri olarak kullanılabilir.
- Mükemmel aşınma direnci, YEA'ları kalıp malzemeleri için kullanışlı kılmaktadır [36].
- YEA'lar ısıya ve aşınmaya dayanıklı kaplamalar, kalıp astarları, manyetik malzemeler, sert alaşımlar ve yüksek sıcaklık uygulamalarında potansiyel olarak görülmektedir [23].
- YEA'ları iki tür alaşım arasında geçiş tabakası olarak kullanılabilir. Saf titanyum ve krom-nikel-titanyum paslanmaz çeliğin kaynağı için kullanılan YEA lehim; ve sert lehim dolgu metalinde iyi esneklik ve uygun üretim ve kurulum süreci sağlayan sement karbür ve çeliğin kaynağında kullanılan YEA sert lehim dolgu metali gibi yerlerde kullanılabilirler.
- Çok yüksek ısıyım direnci ve yüksek korozyon direnci sayesinde, YEA'ları nükleer yakıtlar ve yüksek basınçlı kaplar için kullanılan kaplama malzemeleri için aday olarak değerlendirilebilir.
- YEA'ları ısıya ve aşınmaya dayanıklı kaplamalar olarak kullanılabilirler.
- YEA'larının karbürleri ve nitrürleri de benzersiz özelliklerinden dolayı ilgi çekmektedir. Amorf veya katı çözelti yapılarına ve yüksek sertlik ve mukavemete sahip olduğundan difüzyon bariyerleri ve takım kesme çelikleri veya yüksek hız çelikleri üzerinde sert kaplamalar olarak kullanılabilirler. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, yüksek entropili karbürlerin ve nitrürlerin

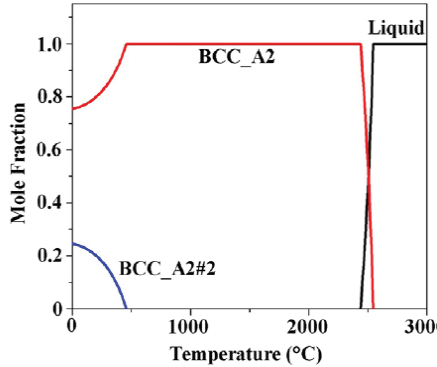
potansiyel olarak biyomedikal kaplamalar olarak kullanılabileceğini de göstermektedir.

- Hafif YEA'ları, akü anot malzemeleri ve ulaşım endüstrisinde kullanılabilir [36].
- YEA'larının özel fiziksel özellikleri, örneğin, neredeyse sabit dirençli $Al_{2.08}CoCrFeNi$, onları elektronik uygulamalar için kullanışlı hale getirmiştir [51].



Şekil 4.1 YEA'ların kullanım alanlarına dair örnekler (a-gaz türbinli motorlar, b-nükleer tanklar, c-kesici takımlar, d-rulman malzemeleri) [9]

M. Wang ve arkadaşları değişken V miktarına göre $VxNbMoTa$ refrakter yüksek entropi alaşımını incelemişler, 350 °C den katılaşma sıcaklığına kadar olan geniş bir sıcaklık aralığında tek fazlı BCC yapısına sahip olup benzeri görülmemiş bir faz kararlılığı sergilediğini bulmuşlardır [61].



Şekil 4.2 (a) V1.0 RYEA'nın katılaşma yolu [62]

Yuan Yu ve arkadaşları Cu katkılı AlCoCrFeNiCu_{0.5} yüksek entropi alaşımını incelemişler, bu yüksek entropi alaşımını geliştirerek denizcilik uygulamalarında kullanmayı hedeflemişlerdir. Bu çalışma sonucu 304 paslanmaz çelikten daha iyi korozyon direnci ve daha iyi mukavemet elde etmişlerdir [62]. Ze Wang ve arkadaşları elektronik cihaz uygulamalarında kullanılması için CoCrFeMnNi yüksek entropi alaşımlı filmler tasarlamışlar, yüksek yorulma direnci, iyi bir tokluk ve elektrik direnci elde etmişlerdir [63].

4.2 Gelecekteki Beklentiler

YEA lar, son yıllarda alaşımlama teorisindeki üç buluştan biri olarak kabul edilmekte (diğer ikisi dökme metalik cam ve metal kauçuktur) ve bu benzersiz tasarım konsepti için büyük gelişmeler olmaya devam etmektedir. Yüksek karıştırma entropisi, YEA ların geniş bir uygulama potansiyeline sahip olmasını sağlamaktadır. YEA'ların keşfinden bu yana, yaklaşık yirmi yıl geçmiş ve hala geniş bir aralıkta çalışmalar sürdürülmektedir [24]. Kısa vadede, YEA'ların yenilikçi uygulamalarını teşvik etmek için bazı özel konular çözülmeyi beklemektedir. Bunlardan bir tanesi YEA'larının entropisi ve entalpisi arasındaki etkileşimdir. Bunu keşfetmek, optimum performans elde etmek için en önemli konulardan biridir [64]. Şimdiye kadar 400'den fazla YEA makalesi yayınlanmış olmasına rağmen, tüm YEA dünyasının anlayışı henüz giriş aşamasındadır. Ancak, bu aşamada gelecekteki birkaç eğilime işaret edilebilir [65]

- Daha geniş çaplı ve temel bilim çalışmalarının yapılması gereklidir. Malzeme bilimi ve katı hal fiziği esas olarak bir veya iki temel unsuru olan geleneksel malzemeler üzerine yapılan araştırmaya dayandığından, YEA'larında olanlar birçok açıdan ilgi çekecek ve değerli akademik konular haline gelecektir. Tam çözünen matrikste, karıştırma entropisine farklı katkılar, atomik çiftlerden farklı olarak karşılıklı etkileşimler, kafes distorsiyonu, elektriksel ve termal iletkenlik, boşluk konsantrasyonu, difüzyon katsayıları, dislokasyon enerjisi, tane sınır enerjisi, kayma, ikizlenme, güçlendirme, sertleştirme, sürünme, aşınma, korozyon ve oksidasyonun hepsinin mekanizmaları ve teorileriyle tam olarak anlaşılması gerekmektedir. Ayrıca geleneksel alaşımların basit bir farklı konsepti olup olmadıkları bilim adamları için hala merak konusudur.
- Daha iyi mekanik, kimyasal ve fiziksel özellikler için gelecek vaat eden alaşım sistemleri hakkında daha fazla araştırma

yapılması gerekmektedir. Bu, mevcut malzemelerin iyileştirilmesindeki sonsuz gereksinimlere için üstünde durulması gereken en önemli konudur. Daha iyi performans bizim için maliyet, enerji ve kaynak tasarrufu sağlayacaktır.

- Oda sıcaklığında süper iletkenler, süper alaşımların performansını ve sıcaklık kapasitesini aşan alaşımlar ve çok yüksek sıcak sertliğe ve uzun kullanım ömrüne sahip malzemeler gibi geleneksel alaşımlar veya malzemelerle ulaşılamayan performans zorlukları hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.
- Yüksek entropili nitrürler, karbürler, oksitler ve bunların kombinasyonları hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Çünkü bu tür araştırmaların belirli bir miktarı, YEA'larının dört temel etkisinin bu tür yüksek entropili seramiklerde de geçerli olduğunu ve difüzyon bariyerleri, sert kaplamalar ve fonksiyonel kaplamalar için birçok umut verici özelliğin elde edildiğini göstermiştir.
- Olası uygulamaları bulmak için mevcut veri tabanının değerlendirilmesi gereklidir. YEA'larının geleneksel malzemelerin karşılaştığı birçok engeli çözebileceğine inanılmaktadır. Bu nedenle, YEA'ları verilerini endüstriyel uygulamalarla ilişkilendirmeyi ve gelecek vaat eden özelliklerinden yararlanılması gerekir [65].
- Mikroskopi çalışmaları YEA araştırmalarında büyük bir role sahiptir ve gelecekte de sahip olacaktır. Bu nedenle gelecekte mikroyapı çalışmalarına daha fazla önem verilmesi beklenmektedir [6].
- YEA biliminde gelecekteki araştırma odağı ağırlık ve maliyet azaltma yönünde olması beklenmektedir [51].
- Çağdaş yenilikçi gelişmeler ve YEA'lara üstün özellikler sağlama potansiyelinin yüksek olduğu bu yeni alan, özellikle askeri, havacılık ve savunma endüstrisi uygulamaları ve havacılık teknolojilerinde yeni malzeme ve özelliklerin geliştirilmesinde büyük rol oynamaktadır. Bu gelişmeler nedeniyle yakın gelecekte YEA kullanımının artacağı beklenmektedir [50].
- YEA'lar, gelecekte yüksek basınç bilimi alanı için önemli bir malzeme geliştirme rotası olması beklenmektedir [24].

5. KAYNAKLAR

- [1] Kağan Şarlar, Nadir Toprak Elementi İçermeyen Yüksek Entropili Alaşımın Manyetik Ve Manyetokalorik Özelliklerinin İncelenmesi, 2019
- [2] B.S. Murty, J.W. Yeh, S. Ranganathan, High-Entropy Alloys, 2014
- [3] Ayberk Ayrenk, Synthesis And Development Of Refractory High Entropy Alloys, 2020
- [4] Weidong Li, Di Xie, Dongyue Li, Yong Zhang, Yanfei Gao, Peter K. Liaw, Mechanical behavior of high-entropy alloys, 2021
- [5] Ebru Sarioğlu, Mekanik Alaşımlama İle CoCrFeNi Ve AgCoCrFeNi Esaslı Yüksek Entropi Alaşım Tozlarının Sentezlenmesi Ve Karakterizasyonu, 2021
- [6] Michael C. Gao, Jien-Wei Yeh, Peter K. Liaw, Yong Zhang, High-Entropy Alloys Fundamentals and Applications, 2016
- [7] Burcu Altunay Karabaş, SiC Takviyeli CoCrFeNi Yüksek Entropili Kompozitin Üretilmesi ve Aşınma Özelliklerinin İncelenmesi, 2018
- [8] B. Cantor, I.T.H. Chang, P. Knight, A.J.B. Vincent, Microstructural development in equiatomic multicomponent alloys, 2004
- [9] Yavuz Kurtuluş, Yüksek-Entropili Alaşım (YEA) Tasarımı Anlayışı ile AlCoCrFeMoNi Esaslı Alaşımların Üretilmesi, 2018
- [10] Easo P. George, Dierk Raabe and Robert O. Ritchie, High- entropy alloys, 2019
- [11] O.N. Senkov, G.B. Wilks, D.B. Miracle, C.P. Chuang, P.K. Liaw, Refractory high-entropy alloys, 2010
- [12] Ziya Anıl Erdal, Structural And Mechanical Characterization Of Scale-Up Fecocni, Fecocnicux, And Fecocnialx High Entropy Alloys (YEAs), 2020
- [13] Fatimah Rıdha Abbood Al Sudani, Sıcak Presleme Yöntemiyle Üretilen Tic/Wc Takviyeli Alcuifecr Yüksek Entropili Alaşımların Mikroyapı Ve Mekanik Özelliklerinin Araştırılması, 2020
- [14] T.S. Srivatsan and Manoj Gupta, High Entropy Alloys Innovations, Advances, and Applications, 2020
- [15] Yong Zhang, Ting Ting Zuo, Zhi Tang, Michael C. Gao, Karin A. Dahmen, Peter K. Liaw, Zhao Ping Lu, Microstructures and properties of high-entropy alloys, 2014
- [16] Melih Yetiş, Kendiliğinden İlerleyen Yüksek Sıcaklık Yanma Sentezi İle Üretilen Alcoxcrfeni Yüksek Entropili Alaşım Sistemindeki Kobalt Oranı Değişiminin İncelenmesi, 2019

- [17] Sarswat, P. K., Sarkar, S., Murali, A., Huang, W., Tan., Free, M. L., 2019. "Additive Manufactured New Hybrid High Entropy Alloys Derived From The Alcofenismtivzr System" *Applied Surface Science* 476 242-258.
- [18] Sharma, A. S., Yadav, S., Biswas, Krishanu, Basu, B., 2018 "High-Entropy Alloys And Metallic Nanocomposites: Processing Challenges, Microstructure Development And Property Enhancement" *Materials Science & Engineering R* 131 1-42.
- [19] Stolze, K. Cevallos, F.A. Kong, T. Cava R.J. 2018. "High-Entropy Alloy Superconductors On An A-Mn Lattice" *J. Mater. Chem. C*, 6 Pp. 10441-10449.
- [20] Zhang, Y., Zuo, T. T., Tang, Z., Gao, M. C., Dahmen, K. A., Liaw, P. K., Lu Z. P., 2014 "Microstructures And Properties Of High-Entropy Alloys" *Progress In Materials Science* 61 1-93.
- [21] Li, Z., Zhao, S., Ritchie, R. O., Meyers, M. A., 2018 "Mechanical Properties Of High-Entropy Alloys With Emphasis On Face-Centered Cubic Alloys" *Progress In Materials Science* S0079-6425 30117-8.
- [22] D.B. Miracle, O.N. Senkov, A critical review of high entropy alloys and related concepts, 2017.
- [23] Yong Zhang, *History of High-Entropy Materials*, 2019
- [24] Wanqing Dong, Zheng Zhou, Mengdi Zhang, Yimo Ma, Pengfei Yu, Peter K. Liaw and Gong Li, *Applications of High-Pressure Technology for High-Entropy Alloys: A Review*, 2019
- [25] Keli V.S. Thurston, Bernd Gludovatz, Qin Yu, Guillaume Laplanche, Easo P. George, Robert O. Ritchie, Temperature and load-ratio dependent fatigue-crack growth in the CrMnFeCoNi high-entropy alloy, 2019
- [26] Suresh Koppoju, Satya Prasad Konduri, Prashanthi Chalavadi, Srinivasa Rao Bonta, Ramakrishna Mantripragada, Effect of Ni on Microstructure and Mechanical Properties of CrMnFeCoNi High Entropy Alloy, 2020
- [27] H. Torbati-Sarraf, Mitra Shabani, Paul D. Jablonski, Garrett J. Pataky, A. Poursaei, The influence of incorporation of Mn on the pitting corrosion performance of CrFeCoNi High Entropy Alloy at different temperatures, 2019
- [28] Abdukadir Amar, Jinfeng Li, Shuo Xiang, Xue Liu, Yuzhao Zhou, Guomin Le, Xiaoying Wang, Fengsheng Qu, Shiyu Ma, Wumei Dong, Qiang Li, Additive manufacturing of high-strength CrMnFeCoNi-based High Entropy Alloys with TiC addition, 2019
- [29] L.L. Xiao, Z.Q. Zheng, S.W. Guo, P. Huang, F. Wang, Ultra-strong nanostructured CrMnFeCoNi high entropy alloys, 2020
- [30] Wujing Fu, Wei Zheng, Yongjiang Huang, Fangmin Guo, Songshan Jiang, Peng Xue, Yang Ren, Hongbo Fan, Zhiliang Ning, Jianfei Sun, Cryogenic mechanical behaviors of CrMnFeCoNi high-entropy alloy, 2020

[31] Alberto Ferrari , Fritz Körmann, Surface segregation in Cr-Mn-Fe-Co-Ni high entropy alloys, 2020

[32] Yong Zhang, Yun Jun Zhou, Jun Pin Lin, Guo Liang Chen and Peter K. Liaw, Solid-Solution Phase Formation Rules for Multi-component Alloys, 2008

[33] Angelo Oñate Soto, Alexis Salas Salgado, Elizabeth Berrio Niño, Thermodynamic analysis of high entropy alloys and their mechanical behavior in high and low-temperature conditions with a microstructural approach - A review, 2020

[34] E. J. Pickering & N. G. Jones, High-entropy alloys: a critical assessment of their founding principles and future prospects, 2016

[35] Efe Taşçı, Yüksek Entropili CrMoTiVW Refrakter Alaşımının PTA Yöntemi ile Kaplanması ve Aşınma Özelliklerinin İncelenmesi, 2019

[36] Jien-Wei Yeh, Swe-Kai Chen, Su-Jien Lin, Jon-Yiew Gan, Tsung-Shune Chin, Tao-Tsung Shun, Chun-Huei Tsau, Shou-Yi Chang, Nanostructured High-Entropy Alloys With Multiple Principal Elements: Novel Alloy Design Concepts and Outcomes, 2004

[37] E.P. George , W.A. Curtin , C.C. Tasan, High entropy alloys: A focused review of mechanical properties and deformation mechanisms, 2019

[38] Zezhou Li, Shiteng Zhao, Robert O. Ritchie, Marc A. Meyers, Mechanical properties of high-entropy alloys with emphasis on face-centered cubic alloys, 2019

[39] Xin Xian, Zhi-Hong Zhong, Li-Jing Lin, Zhi-Xiong Zhu, Chang Chen, Yu-Cheng Wu, Tailoring strength and ductility of high-entropy CrMnFeCoNi alloy by adding Al, 2018

[40] Hao Wu, Sirui Huang, Chengyan Zhu, Heguo Zhu, Zonghan Xie, Influence of Cr content on the microstructure and mechanical properties of Cr_xFeNiCu high entropy alloys, 2020

[41] M.A. Hemphill, T. Yuan, G.Y. Wang, J.W. Yeh, C.W. Tsai, A. Chuang, P.K. Liaw, Fatigue behavior of Al_{0.5}CoCrCuFeNi high entropy alloys, 2012

[42] İrem Ürgen, Yüksek Entropili AlCoCrFeNiTi Esaslı Alaşımın PTA Yöntemi ile Kaplanması ve Özelliklerinin İncelenmesi, 2019

[43] Ming-Hao Chuang, Ming-Hung Tsai, Woei-Ren Wang, Su-Jien Lin, Jien-Wei Yeh, Microstructure and wear behavior of Al_xCo_{1.5}CrFeNi_{1.5}Ti_y high-entropy alloys, 2011

[44] Ziyi Zhou, Lin Wang, Xiaohua Zhao, Jili Wu, Feng Zhang, Jinhong Pi, Effects of W addition on the Corrosion Behaviors of FeCoNiCrMn High Entropy Alloy Composites in the 3.5 wt.% NaCl solution, 2021

[45] Yu Fu, Jun Li, Hong Luo, Cuiwei Du, Xiaogang Li, Recent advances on environmental corrosion behavior and mechanism of high-entropy alloys, 2021

[46] Lijing Lin, Xin Xian, Zhihong Zhong, Chang Chen, Zhixiong Zhu, Yucheng Wu, Peter K. Liaw, A multi-phase CrMnFeCoNiAl_{0.75} high-entropy alloy with high strength at intermediate temperature, 2020

[47] Dr. Josh Bishop-Moser, MForesight, Manufacturing High Entropy Alloys Pathway to Industrial Competitiveness, 2018

[48] P.F. Yu, L.J. Zhang, H. Cheng, H. Zhang, M.Z. Ma, Y.C. Li, G. Li, P.K. Liaw, R.P. Liu, The high-entropy alloys with high hardness and soft magnetic property prepared by mechanical alloying and high-pressure sintering, 2016

[49] K. Li, W. Chen, Recent progress in high-entropy alloys for catalysts: synthesis, applications, and prospects, 2021

[50] Dervis Ozkan, Abdullah Cahit Karaoglanlı, High Entropy Alloys: Production, Properties and Utilization Areas, 2020

[51] Kenneth Kanayo Alaneme, Michael Oluwatosin Bodunrin, Samuel Ranti Oke, Processing, alloy composition and phase transition effect on the mechanical and corrosion properties of high entropy alloys: a review, 2016

[52] Simbarashe Fashu, Mykhaylo Lototskyy, Moegamat Wafeeq David, Lydia Pickering, Vladimir Linkov, Sun Tai, Tang Renheng, Xiao Fangming, Pavel V. Fursikov, Boris P. Tarasov, A review on crucibles for induction melting of titanium alloys, 2020

[53] Yaser A. Alshataif, S. Sivasankaran, Fahad A. Al-Mufadi, Abdulaziz S. Alaboodi, Hany R. Ammar, Manufacturing Methods, Microstructural and Mechanical Properties Evolutions of High-Entropy Alloys: A Review, 2019

[54] ASM Handbook, Volume 15: Casting Volume 15 Handbook Committee, p 1-8, 2008

[55] Murat AYDIN, Takım Çelikleri Üretiminde Kullanılan Vakum Ergitme Proseslerinin Metalurjik Karakterizasyonu, Teknik Yazı, Türk Mühendis ve Mimar Odaları Birliği Metalurji Mühendisleri Odası, Metalurji Dergisi-163. Sayı, 2012

[56] Mayur Vaidya, Garlapati Mohan Muralikrishna, Budaraju Srinivasa Murty, High-entropy alloys by mechanical alloying: A review, 2019

[57] Peyman Asghari-Rad, Praveen Sathiyamoorthi, Nhung Thi-Cam Nguyen, Alireza Zargaran, Taek Soo Kim, Hyoung Seop Kim, A powder-metallurgy-based fabrication route towards achieving high tensile strength with ultra-high ductility in high-entropy alloy, 2020

[58] Xu Yu, Junjun Wang, Linqing Wang, Weijiu Huang, Fabrication and characterization of CrNbSiTiZr high-entropy alloy films by radio-frequency magnetron sputtering via tuning substrate bias, 2021

[59] Richard W. Johnson, Adam Hultqvist and Stacey F. Bent, A brief review of atomic layer deposition: from fundamentals to applications, 2014

[60] Chrzan Konrad, Cichocki Kamil, Adamczyk Piotr, Drozd Paweł, Koziel Tomasz, Bała Piotr, Muszka Krzysztof, Assessment of utilization of ab-initio and Calphad calculations for a design of high-entropy alloy for metal forming, 2020]

[61] M. Wang, Z.L. Ma, Z.Q. Xu, X.W. Cheng, Designing V x NbMoTa refractory high-entropy alloys with improved properties for high-temperature applications, 2021

[62] Yuan Yu, Nannan Xu, Shengyu Zhu, Zhuhui Qiao, Jianbin Zhang, Jun Yang, Weimin Liu, A novel Cu-doped high entropy alloy with excellent comprehensive performances for marine application, 2021

[63] Ze Wang, Cheng Wang, Yi-Lu Zhao, Ji-Jung Kai, Chain-Tsuan Liu, Chun-Hway Hsueh, Nanotwinned CoCrFeMnNi high entropy alloy films for flexible electronic device applications, 2021

[64] Xuehui Yan, Yong Zhang, Functional properties and promising applications of high entropy alloys, 2020

[65] Jien-Wei Yeh, Alloy Design Strategies and Future Trends in High-Entropy Alloys, 2013

BÖLÜM 8

DOĞAL ANTIOKSİDAN KAYNAKLARININ ET ÜRÜNLERİNDE KULLANIMI

Tuba Eda ARPA ZEMZEMOĞLU¹

Nesibe ARSLAN BURNAZ²

1 Dr. Öğretim Üyesi Tuba Eda ARPA ZEMZEMOĞLU

ORCID:0000-0002-6836-4527

2 Dr. Öğretim Üyesi Nesibe ARSLAN BURNAZ

ORCID:0000-0003-1163-4829

Giriş

Et ve et ürünlerinin protein içeriği ve kalitesi yüksektir. Et ürünleri gelişmiş ülkelerde yaşayan insanların günlük beslenmesinde önemli protein kaynakları arasında yer almaktadır (Fernandez-Gines vd., 2005). Et ürünlerinin yağ içeriği de yüksektir. Et ürünleri üretiminde uygulanan işlemler reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırır. Bu nedenle, et ürünleri oksidasyona karşı oldukça duyarlıdır (Huang ve Ahn, 2019). Et ürünlerinin muhafazası esnasında meydana gelen lipit oksidasyon reaksiyonları kalitenin düşmesine ve raf ömrünün azalmasına neden olmaktadır (Domínguez vd., 2019). Oksidasyon reaksiyonlarını önlemek için en iyi yöntem ürünlere antioksidanların ilave edilmesidir (Shahidi, 2000). Sentetik antioksidanların alerji, baş ağrısı, astım ve dermatit gibi çeşitli yan etkileri olabilmektedir. Bu nedenle, doğal antioksidanların et ürünlerinde kullanımını giderek artan sayıda çalışmaya konu olmaktadır (Gahruie vd., 2017).

Et Ürünleri

Et ve et ürünleri insan beslenmesinde önemli protein, amino asit, mineral ve vitamin kaynaklarını oluşturmaktadır. Batı toplumlarında diyet ile et ürünleri alımının azaltılması önerilmesine rağmen küresel et tüketimi sürekli artış göstermektedir. Son 20 yılda et tüketimi %58 artarak yıllık 360 milyon tona ulaşmıştır. Ekonomik açıdan dünya genelinde et sektörünün değeri 2018 yılında 945.7 milyar ABD doları iken 2023 yılında 1142.9 milyar ABD dolarına ulaşması beklenmektedir (Manassis vd., 2020).

“Et ürünleri; etin işlenmesinden veya işlenmiş ürünlerin daha ileri düzeyde işlenmesiyle elde edilen ve kesit yüzeyi çiğ etin karakteristik özelliklerini göstermeyen ürünleri” ifade etmektedir (TGK, 2019). Geleneksel et ürünlerinden en önemlileri sucuk ve pastırmadır. “Sucuk; büyükbaş ve/veya küçükbaş hayvan karkas etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermantasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıl işlem uygulanmamış fermente et ürünü” olarak tanımlanmaktadır. “Pastırma ise büyükbaş hayvan karkaslarından usulüne göre ayrılan parça etlerin teknolojisine uygun olarak kürlenme ve yıkama işlemlerinden sonra baskılama ve kurutma işlemlerine tabi tutulup, çemenlendikten sonra yeniden kurutulması ile elde edilen ısıl işlem uygulanmamış kürlenmiş ve kurutulmuş et ürününü” ifade etmektedir (TGK, 2019)

“Köfte; kıyılmış büyükbaş ve küçükbaş hayvan karkas etlerinin veya kanatlı hayvan karkas etlerinin 2018/52 no.lu Tebliğe uygun olacak şekilde biri veya birkaçının karışımına, aynı ve/veya farklı tür hayvanların yağları, lezzet vericiler ile diğer gıda bileşenlerinden biri veya birkaçı ilave edilerek çeşitli şekillerde hazırlanan pişirilmeye hazır kırmızı veya kanatlı et

karışımını veya pişirilmiş et ürünü” olarak tanımlanmaktadır (TGK, 2019).

“Emülsifiye et ürünü; evcil tırnaklı hayvan etlerinden veya kanatlı hayvan etlerinden emülsiyon işlemi uygulanarak elde edilen hamurun doğal veya yapay kılıflara doldurulup ısıtılarak işlem uygulanmasıyla elde edilen et ürünü” ifade etmektedir (TGK, 2019). Sosis ve salam emülsifiye et ürünleridir.

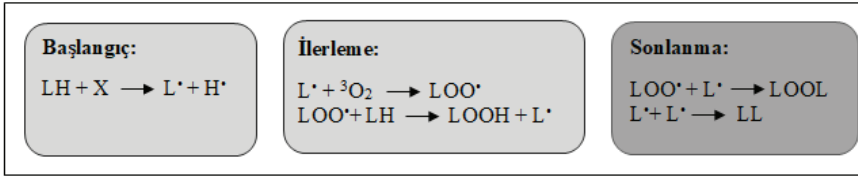
“Jambon, evcil tırnaklı hayvan veya kanatlı hayvan karkas etlerinden elde edilen parça etlerin veya küçük parça etlerin tekniğine uygun olarak tuzlama, kürlleme gibi işlemlerden geçirilip ısıtılarak işlem uygulanmasıyla elde edilen et ürünü” olarak tanımlanmaktadır. “Pate kıyılmış et veya sakatat ve diğer bileşenlerden elde edilen sürülebilir kıvamda ısıtılarak işleme tabi tutulmuş et ürünü” ifade etmektedir.

Et ve et ürünleri, zengin besin ögesi içeriği nedeniyle bozulmalara karşı hassastırlar (Devatkal vd., 2014). Etin kalitesinin belirlenmesinde kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri büyük önem taşımaktadır. Et ve et ürünlerinde en yaygın görülen bozulma çeşidi mikrobiyolojik bozulmadan sonra kimyasal bir bozulma olan oksidasyondur. Kimyasal bozulmanın en yaygın şekli et lipidlerinin ve proteinlerin oksidasyonudur (Falowo vd., 2014).

Oksidasyon

Oksijen, biyomoleküllerin oksidasyon reaksiyonunda hayati bir bileşendir. Oksijen hücreler için toksik olan reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturabilir. ROS lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve vitaminlerle reaksiyona girerek esansiyel yağ asitlerini, amino asitleri ve vitaminleri parçalar ve kanserojen maddelere dönüştürebilirler (Choe ve Min, 2005).

Lipit oksidasyonu, başlangıç, ilerleme ve sonlanma aşamalarını içerir (Şekil 1) ve bu reaksiyonlar sonucu insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olan çeşitli bileşikler meydana gelebilir (Johnson ve Decker, 2015). Bir doymamış yağ asidinin başlatıcı radikal ile reaksiyonu sonucu lipit radikali oluşur. Kararsız lipit radikali, oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksil radikalini oluşturur. Oluşan radikal, başka bir doymamış yağ asidi ile reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir lipit radikali oluşturur (McGill ve Jaeschke, 2013). Radikaller birbiriyle reaksiyona girerek aldehit, keton ve alkol gibi ikincil ürünlere dönüşürler.



Şekil 1: Lipit Oksidasyonu Aşamaları (Johnson ve Decker, 2015)

Lipit oksidasyonu, gıda işleme ve depolama sırasında gıdanın raf ömrünü sınırlayan başlıca bozulma reaksiyonlarından birisidir. Lipit oksidasyonu etin kimyasal bileşimi, ışık, oksijen, depolama sıcaklığı ve etin işleme sırasında tabi tutulduğu teknolojik işlemlerden etkilenmektedir (Kanner, 1994). Et ürünlerinde kalite kaybının en önemli nedenidir (Johnson ve Decker, 2015). Oksidasyon reaksiyonları sonucu aldehitler, ketonlar, alkoller ve karbonil bileşikler gibi ikincil oksidasyon ürünleri meydana gelir (Jin vd., 2021). Bu bileşikler et ürünlerinin duyuusal özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca bazı bileşikler toksik özellik gösterebilmektedir. Bu nedenle ette lipit oksidasyonunun önlenmesi, hem et ürünlerinin kalitesi hem de insan sağlığı için önemlidir (Huang ve Ahn, 2019). Antioksidanların kullanılmasıyla lipit oksidasyonu yavaşlatılabilir veya önenebilir ve böylece ürün kalitesi ve raf ömrü iyileştirilebilir.

Antioksidanlar

Antioksidanlar “yağların acılaşması ve renk değişikliği gibi oksidasyonun neden olduğu bozulmalara karşı koruyarak, gıdaların raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler” olarak tanımlanmaktadır (TGK-GKMY, 2013). Antioksidanlar, işlenmiş gıdalarda en çok kullanılan katkı maddeleri arasındadır. Gıdalara eklenen antioksidanlar oksidasyon reaksiyonlarını yavaşlatır veya önlerler (Franco vd., 2019). Bu bileşikler, oksidatif ve otooksidatif işlemlerin başlangıcında etki göstererek oksidasyonu ve buna bağlı olarak oluşabilecek istenmeyen bileşiklerin oluşumunu önleyebilmektedirler.

Antioksidanlar, serbest radikalleri temizleyerek, radikal zincir reaksiyonlarını kırarak, peroksitleri parçalayarak, metal iyonları ve oksijen gibi zincir reaksiyonları katalizleyen bileşikler bağlayarak oksidasyonu engellerler (Dorman vd., 2003). Günümüzde antioksidan aktiviteye sahip olduğu öne sürülen çok sayıda bileşik olmasına rağmen gıda ürünlerinde sadece birkaçı kullanılabilir. Gıda ürünlerinde antioksidanların kullanımı, ulusal mevzuat ve/veya uluslararası standartlar tarafından kontrol edilmektedir (Karre vd., 2013). Antioksidanlar doğal ve sentetik olarak ikiye ayrılır. Et ve et ürünlerinde oksidasyonun etkilerini önlemek için sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Antioksidan özellikleri nedeniyle kullanılan kimyasal bileşiklerden bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), tert-bütillhidrokinon (TBHQ),

propil gallat (PG) ve sentetik tokoferol gibi fenol türevi bileşikler radikal temizleme etkileri dolayısıyla (Yehye vd., 2015), fosfatlar (tripolifosfat, hekzametafosfat ve pirofosfat), iki değerlikli katyonları şelatlama, demir bağlama ve oksitlenmeyi geciktirme özelliklerinde dolay ve asitler (organik asitler ve hidroklorik asit) kalpain, katepsin ve aminopeptidaz enzimlerini etkisiz hale getirerek enzimatik bozulmayı geciktirdiklerinden dolayı kullanılmaktadırlar (Dave ve Ghaly, 2011).

Et ürünlerinde BHT, BHA, NDGA (nor dihidro guaiaretik asit), TBHQ ve PG yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlardır (Jin vd., 2021). “Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Yönetmeliği’nde” BHA (E-321), BHT (E-320), TBHQ (E-319) ve PG (E-310)’un gıdalarda kullanımına izin verilmiştir (TGKGMKY, 2013).

Sentetik antioksidanlar lipit oksidasyonu engelleyebilir, gıda kararlılığını iyileştirebilir, gıdanın raf ömrünü uzatabilir, ancak bunların aşırı eklenmesi veya yanlış kullanımı insan sağlığına zarar verebilir (Kim vd., 2016). TBHQ uzun süreli ve yüksek dozlarda uygulandığında mide tümörlerine, DNA hasarına ve diğer zararlara neden olabilir. Uzun süreli çalışmalar, PG’nin kanserojen olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte, yüksek konsantrasyonlarda, PG, karaciğer gibi belirli organlarda toksisite gösterdiği rapor edilmiştir (Xu vd., 2021).

Doğal Antioksidan Kaynakları

Lipit oksidasyonunu önlemek, istenmeyen tatların gelişimini geciktirmek ve renk kararlılığını iyileştirmek için et ürünlerine çeşitli antioksidanlar eklenmektedir. (Kumar vd., 2015) Günümüzde, sentetik antioksidanların uzun süreli kullanımının sağlık açısından olası yan etkilerinin olması tüketicilerde endişeye neden olduğundan bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara talep son yıllarda artış göstermiştir (Manassis vd., 2020). Bitkisel kaynaklardan elde edilen pek çok bileşik ve özütün gıdaya eklenmesi güvenli kabul edilmektedir (Gahruie vd., 2017).

Doğal antioksidanlar yapraklar (çay, biberiye, kekik, tarçın, adaçayı, nane ve zencefil), kökler, saplar ve meyveler (üzüm, nar ve mandalina), sebzeler (brokoli ve balkabağı), tohumlar ve kabuk gibi bitkilerin farklı kısımlarından elde edilmektedir (Shah vd., 2014). Bu doğal antioksidanların bazıları ticari olarak da mevcuttur ve ticari olarak temin edilebilen bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlar bazı et ürünlerine uygulanmıştır.

Et ürünlerinde doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirliği araştırılan bitkisel kaynaklar Tablo 1’de verilmiştir. Biberiye, adaçayı, kekik, keklük otu, yeşil çay, üzüm ve nar antioksidan maddeler açısından zengin olmaları nedeniyle en fazla çalışma yapılan bitkisel doğal antioksidan kaynaklarıdır.

Biberiye

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) özütü, karnosik asit, rosmarinik asit, karnosol, rosmanol ve kafeik asit gibi fenolik maddeler içermektedir. Yüksek antioksidan kapasitesi, karnosik asit ve rosmarinik asidin katyon ve metal şelatlanmasını sağlayan 2 tane hidroksil grubu içermesinden kaynaklanmaktadır (Manassis vd., 2020). Biberiye ile yapılan çalışmalarda domuz köftesi (Lara vd., 2011), jambon (Armenteros vd., 2016), ve tavuk sosisi (Rižnar vd., 2006) gibi ürünlerde antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir.

Adaçayı

Adaçayı özleri, *Salvia officinalis* ve *Salvia fruticosa* bitki türlerinden elde edilmektedir. Antioksidan özellik gösteren karnosol, karnosik asit, rosmanol, apigenin ve luteolin gibi bileşikler içermektedir. Adaçayı esansiyel yağ olarak α -thujon, kafur, viridiflorol, 1,8-sineol ve α,β -pinen gibi bileşikler içermektedir. Bu bileşikler iyi bir serbest radikal temizleyicidir (Manassis vd., 2020). Adaçayı özütünün, karaciğer pate (Estevez vd., 2007), köfte (Akcan vd., 2017) ve sosis (Šojić vd., 2018; Zhang vd., 2013) gibi ürünlerde lipit oksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir.

Kekik

Kekik esansiyel yağları ve özütleri, *Thymus vulgaris*, *T. mastichina*, *T. caespititius* ve *T. camphorate* bitki türlerinin yapraklarından elde edilmektedir. Kekik, yüzyıllardır aromatik ve şifalı bir bitki olarak kullanılmaktadır. Antioksidan özellik gösteren bileşenleri timol, p-simen, karvakrol, α -terpinen ve linalool'dur (Manassis vd., 2020). Kekik esansiyel yağı, kıyılmış sığır eti (Zengin ve Baysal, 2015) ve tavuk göğüs eti (Fratianni vd., 2010) gibi ürünlere uygulanmıştır. Ancak kekiğin yoğun aroması ürünlerin duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir.

Keklik otu

Keklik otu esansiyel yağı, *Origanum majorana* ve *Origanum vulgare* bitki türlerinden elde edilmektedir. Başlıca antioksidan özellik gösteren bileşikleri, rosmarinik asit, p-kumarik asit, karvakrol, timol, p-simen, α -thujon, α,β -pinen, ve γ -terpinendir (Manassis vd., 2020). Tavuk eti (Chouliara vd., 2007), kuzu burgeri (Fernandes vd., 2017) ve kuzu sosisi (Fernandes vd., 2018) gibi ürünlere doğal antioksidan olarak ilave edilmiştir.

Yeşil çay

Yeşil çay özütleri çok yüksek antioksidan aktivite sahiptirler. Yaprakları flavonoidler, tanenler, theaflavinler ve thearubigenler gibi fenolikler bakımından zengindir. Yeşil çayın ana flavonoidleri kateşin grubuna aittir.

Çay kateşinlerinin (epikateşin, gallokateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat vd.) yüksek antioksidan kapasiteleri, radikal temizleme, metal şelatlama ve katyon bağlama özelliklerinden ileri gelmektedir (Manassis vd., 2020). Çay özütleri, Bologna tipi sosis (Jongberg vd., 2013), Frankurter tipi sosis (Alirazalu vd., 2017) ve karaciğer pate (Pateiro vd., 2014) gibi et ürünlerine uygulanmıştır.

Tablo 1 : Et ve et ürünlerinde bitkisel kaynakların doğal antioksidan olarak kullanımı

Adı	Botanik Adı	Kullanılan Kısımları	Kullanılan Et Ürünü	Oksidasyon Parametresi	Kaynak
Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Yaprak, kalın dallar	Domuz eti	TBARS	(Fernández-López vd., 2003)
Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Yaprak	Domuz eti köftesi	TBARS	(McCarthy vd., 2001)
Adaçayı	<i>Salvia officinalis</i>	Yaprak	Sosis	TBARS	(Šojić vd., 2018)
Adaçayı	<i>Salvia officinalis</i>	Yaprak	Domuz eti köftesi	TBARS	(McCarthy vd., 2001)
Isırgan Otu	<i>Urtica dioica</i>	Yaprak	Dana eti	TBARS	(Akarpat vd., 2008)
Nar	<i>Punica granatum</i>	Çiçek, kabuk	Koyun eti	TBARS	(Devatkal vd., 2010; Karabacak ve Bozkurt, 2008)
Zencefil	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	Kök	Domuz eti	TBARS	(Cao vd., 2013)
Brokoli	<i>Brassica oleracea</i>	Çiçek	Koyun eti	TBARS	(Banerjee vd., 2012)
Nane	<i>Mentha spicata</i>	Yaprak	Kuzu eti	TBARS	(Kanatt vd., 2007, 2008)
Sarımsak	<i>Allium sativum</i>	Tüm parçacık	Domuz eti	TBARS	(Cao vd., 2013)
Çemen otu	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Tohum tozu	Dana eti	TBARS	(Mansour ve Khalil, 2000)
Çemen otu	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Tohum	Domuz eti köftesi	TBARS	(McCarthy vd., 2001)
Limon otu	<i>Melissa officinalis</i>	Yaprak	Dana eti	TBARS	(Akarpat vd., 2008)
Karanfil	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Tomurcuk	Domuz eti	TBARS	(Shan vd., 2009)
Karanfil	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Tomurcuk	Kuzu ve domuz kıyması	TBARS	(Jayathilakan vd., 2007)
Karanfil	<i>Syzygium aromaticum</i>	Tomurcuk	Domuz köftesi	TBARS	(Jin vd., 2021)
Tarçın	<i>Cinnamomum verum</i>	Gövde ve yapraklar	Domuz köftesi	TBARS	(Jin vd., 2021)
Tarçın	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	İç kabuk	Kuzu ve domuz kıyması	TBARS	(Jayathilakan vd., 2007)
Zencefil	<i>Zingiber officinale</i>	Kök	Domuz köftesi	TBARS	(Jin vd., 2021)
Kırmızı biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	Tüm parçacık	Domuz sosisi	TBARS	(Revilla ve Quintana, 2005)
Ginseng	<i>Panax ginseng</i>	Kök	Domuz köftesi	TBARS	(Jin vd., 2021)
Ginseng	<i>Panax ginseng</i>	Kök	Domuz eti köftesi	TBARS	(McCarthy vd., 2001)
Meryemana diken	<i>Silybum marianum</i>	Kök ve yapraklar	Domuz köftesi	TBARS	(Jin vd., 2021)
Hardal	<i>Sinapis alba</i> L.	Tohum	Domuz eti köftesi	TBARS	(McCarthy vd., 2001)
Kekik	<i>Thymus zygis</i> ssp. <i>gracilis</i>	Yaprak	Kuzu eti	TBARS	(Nieto vd., 2010)
Yeşil çay	<i>Camellia sinensis</i>	Yaprak	Koyun eti	TBARS	(Rababah vd., 2011)
Soğan	<i>Allium cepa</i> L.	Tüm parçacık	Domuz eti	TBARS	(Cao vd., 2013)

Soya	<i>Glycine max L. Mer</i>	Yaprak	Dana eti	TBARS	(Kim vd., 2013)
Bal kabağı	<i>Cucurbita moschata Duch.</i>	Yaprak	Dana eti	TBARS	(Kim vd., 2013)
Köri	<i>Murraya koenigii</i>	Yaprak	Domuz eti	TBARS	(Biswas vd., 2012)

TBARS: Tiyobarbütirik asit sayısı

Meyve atıkları

Meyvelerin antioksidan aktivitesi yüksektir. Meyvelerin meyve suyu, reçel ve marmelat gibi meyve ürünlerine işlenmesi sırasında posa, kabuk ve çekirdek gibi atıklar oluşmaktadır. Bu atıklar antioksidan özellik gösteren C ve E vitamini, karotenoidler ve fenoller gibi bileşenler içermektedir. Bu nedenle meyve atıklarının doğal antioksidan kaynağı olarak gıdalarda ve özellikle et ürünlerinde kullanılabilirliği üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Manassis vd., 2020). Meyve atıklarının et ürünlerinde antioksidan olarak kullanılabilirliğini araştıran çalışmalar Tablo 2’de verilmiştir.

Doğal antioksidan kaynağı olarak et ürünlerinde kullanılabilirliği en fazla araştırılan meyve atıkları üzüm çekirdeği ve nar kabuğudur. Üzüm fenolik asitler, antosiyaninler, kuersetin, kateşin, resvatrol ve prosiyanidler gibi fenolik bileşikler içermektedir. Fenolik bileşiklerin çoğunluğu üzüm kabuğu (resvatrol, antosiyanin ve kateşin) ve çekirdeğinde (prosiyanidler) bulunmaktadır. Üzüm çekirdeği özütü ile yapılan çalışmalarda kıyma (Ahn vd., 2002), köfte (Rojas vd., 2008) ve sosis (Kulkarni vd., 2011; Paterio vd., 2015) gibi ürünlerde üzüm atıklarının antioksidan olarak etkinliği kanıtlanmıştır. Üzüm posası antioksidan aktivitesi yüksek bir diğer üzüm atığıdır. Çiğ hamburger ile yapılan bir çalışmada üzüm posasının antioksidan olarak etkinliği kanıtlanmıştır (Garrido vd., 2011).

Nar elajik asit, punik asit, ellagitinin, flavanoller ve flavonlar içermektedir. Nar atıkları da antioksidan özellik gösteren bileşenler içermektedir. Nar atıkları ile yapılan çalışmalarda çiğ et (Qin vd., 2013), tavuk köftesi (Chandralekha vd., 2012) ve sığır köftesi (Turgut vd., 2017) gibi ürünlerde nar atıklarının lipit oksidasyonuna karşı etkili olduğu belirlenmiştir.

Kestane atıkları gallik asit, elajik asit, rutin, kuersetin, apigenin ve tannin gibi fenolik bileşikler içermektedir (Echegaray vd., 2018). Bu nedenle kestane atıklarının da et ve et ürünlerinde kullanılabilirliği araştırılmaktadır. Kestane kabuğu özütünün sığır köftelerinde lipit oksidasyonuna karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Zamus vd., 2018).

Tablo 2 : Et ve et ürünlerinde meyve atıklarının doğal antioksidan olarak kullanımı

Meyve Atığı	Kullanılan Et ürünü	Oksidasyon Parametresi	Kaynak
Üzüm çekirdeği özütü	İspanyol tipi kürlenmiş sosis (Chorizo)	TBARS	(Pateiro vd., 2015)
Üzüm çekirdeği özütü	Sosis	TBARS	(Kulkarni vd, 2011)
Ticari üzüm çekirdeği özütü	Piştirilmiş dana kıyma	TBARS	(Ahn vd, 2002)
Üzüm çekirdeği özütü	Köfte	TBARS	(Rojas vd., 2008)
Üzüm çekirdeği özütü	Hindi eti	TBARS	(Mielnik vd., 2006)
Üzüm posası	Çiğ domuz hamburgeri	TBARS	(Garrido vd., 2011)
Nar kabuğu özütü	Çiğ domuz eti	TBARS	(Qin vd., 2013)
Nar kabuğu özütü	Siğır köftesi	PS-TBARS	(Turgut vd., 2017)
Nar kabuğu özütü	Tavuk köftesi	TBARS	(Chandralekha vd., 2012)
Elma kabuğu	Tavuk eti salam	TBARS	(Biswas vd., 2012)
Muz kabuğu			
Kestane kabuğu özütü	Siğır köftesi	TBARS	(Zamus vd., 2018)

PS: Peroksit Sayısı TBARS: Tiyobarbütirik asit sayısı

Sonuç

Et ürünleri diyetle yer alan önemli besin gruplarından birisidir. Et ürünlerinde en önemli kimyasal bozulma lipid oksidasyonudur. Oksidasyonu önlemek için en etkili yöntem antioksidan kullanımıdır. Et ürünlerinde oksidasyonu önlemek için sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanların olası yan etkileri nedeniyle kullanımı tüketicilerde endişe yaratmaktadır. Bu nedenle sentetik antioksidanlara alternatif doğal antioksidan kaynakları üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Biberiye, adaçayı, kekik, kekek otu, yeşil çay, üzüm ve nar gibi bitkisel kaynaklar antioksidan maddeler açısından zengindir. Bu bitkisel kaynaklardan elde edilen tozlar ve özütler et ürünlerine uygulanarak doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmeleri araştırılmaktadır. Yapılan çalışmaların çoğunda bu bitkisel kaynakların antioksidan etkileri kanıtlanmıştır. Ancak bu bitkisel kaynaklardan elde edilen tozlar ve özütlerin doğal antioksidan olarak kullanılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Öncelikle bu bitkisel materyallerin standardize edilmesi gerekmektedir. Et ürünlerinin duyu kalitesine olumsuz etkisinin olmadığı ve antioksidan olarak etkinlik gösterdiği miktarlar belirlenmelidir.

Kaynaklar

- Ahn, J. Grün, I.U., ve Fernando, L.N. (2002). Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Journal of Food Science*, 67, 1364–1369.
- Akarpat, A., Turhan, S., ve Ustun, N. S. (2008). Effects of hot-water extracts from myrtle, rosemary, nettle and lemon balm leaves on lipid oxidation and color of beef patties during frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(1), 117–132. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4549.2007.00169.X>
- Akcan, T., Estévez, M., ve Serdaroğlu, M. (2017). Antioxidant protection of cooked meatballs during frozen storage by whey protein edible films with phytochemicals from *Laurus nobilis* L. and *Salvia officinalis*. *LWT*, 77, 323–331. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.11.051>
- Alirezula, K., Hesari, J., Eskandri, M.H., Valizeh, H., ve Sirausazar, M. (2017). Effect of green tea, stinging nettle and olive leaves extracts on the quality and shelf life stability of Frankfurter type sausage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1-11.
- Armenteros, M., Morcuende, D., Ventanas, J., ve Estévez, M. (2016). The application of natural antioxidants via brine injection protects Iberian cooked hams against lipid and protein oxidation. *Meat Science*, 116, 253–259. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2016.02.027>
- Banerjee, R., Verma, A. K., Das, A. K., Rajkumar, V., Shewalkar, A. A., ve Narkhede, H. P. (2012). Antioxidant effects of broccoli powder extract in goat meat nuggets. *Meat Science*, 91(2), 179–184. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2012.01.016>
- Biswas, A. K., Chatli, M. K., ve Sahoo, J. (2012). Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. *Food Chemistry*, 133(2), 467–472. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.01.073>
- Cao, Y., Gu, W., Zhang, J., Chu, Y., Ye, X., Hu, Y., ve Chen, J. (2013). Effects of chitosan, aqueous extract of ginger, onion and garlic on quality and shelf life of stewed-pork during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 141(3), 1655–1660. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.04.084>
- Chandralekha, S. Jagadeesh Babu, A. Moorthy, P.R.S. ve Karthikeyan, B. (2012). Studies on the Effect of Pomegranate Rind Powder Extract as Natural Antioxidant in Chicken Meat Balls During Refrigerated Storage. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 2, 107–112.
- Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I.N., ve Kontominas, M.G.A. (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packa-

- ging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. *Food Microbiology*, 24, 607-617.
- Choe, E., ve Min, D. B. (2005). *R : Concise Reviews in Food Science Chemistry and Reactions of Reactive Oxygen Species in Foods*. 70(9), 28–36.
- Dave, D., ve Ghaly, A. E. (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486–510. <https://doi.org/10.3844/AJAB-SSP.2011.486.510>
- Devatkal, S. K., Narsaiah, K., ve Borah, A. (2010). Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. *Meat Science*, 85(1), 155–159. <https://doi.org/10.1016/J.MEATS-CI.2009.12.019>
- Devatkal, S. K., Thorat, P., ve Manjunatha, M. (2014). Effect of vacuum packaging and pomegranate peel extract on quality aspects of ground goat meat and nuggets. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2685–2691. <https://doi.org/10.1007/S13197-012-0753-5/TABLES/4>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., ve Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants* (Vol. 8, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., ve Tikkanen, M. J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83(2), 255–262. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00088-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00088-8)
- Echegaray, N., Gomez, B., Barba, F.J., Franco, D., Estevez, M., Carbollo, J., Marszatek, K. Ve Lorenzo, J.M. (2018). Chestnuts and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 82, 110-121.
- Estevez, M., Ramirez, R., Ventanes, S., ve Cava, R. (2007). Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pate. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 58-65.
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., ve Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2014.06.022>
- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Pugine, S. M. P., Lima, C. G., Lorenzo, J. M., ve de Melo, M. P. (2017). Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. *Food Chemistry*, 233, 101–109. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.04.100>
- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Lorenzo, J. M., ve Melo, M. P. De (2018). Assesment of the stability of sheep sausages with the addition of different

concentrations of *Origanum vulgare* extract. *Food Chemistry*, 137, 244-257.

- Fernandez-Gines, J. M., Fernandez-Lopez, J., Sayas-Barbera, E., ve Perez-Alvarez, J. A. (2005). R : Concise Reviews / Hypotheses in Food Science Meat Products as Functional Foods : A Review. *Journal of Food Science*, 70(2), 37–43.
- Franco, R., Navarro, G., ve Martínez-Pinilla, E. (2019). *Antioxidants versus Food Antioxidant Additives and Food Preservatives*. <https://doi.org/10.3390/antiox8110542>
- Fратиanni, F., De Martino, L., Melone, A., De Feo, V., Coppola, R., ve Nazzaro, F. (2010). Preservation of Chicken Breast Meat Treated with Thyme and Balm Essential Oils. *Journal of Food Science*, 75(8), M528–M535. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2010.01791.X>
- Garrido, M.D., Auqui M., Marti, N. ve Linares, M. B (2011). Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 2238-2243.
- Gahruie, H. H., Hosseini, S. M. H., Taghavifard, M. H., Eskandari, M. H., Golmakani, M. T., ve Shad, E. (2017). Lipid oxidation, color changes, and microbiological quality of frozen beef burgers incorporated with shirazi thyme, cinnamon, and rosemary extracts. *Journal of Food Quality*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6350156>
- Huang, X., ve Ahn, D. U. (2019). Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. In *Food Science and Biotechnology* (Vol. 28, Issue 5, pp. 1275–1285). <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00631-7>
- Jayathilakan, K., Sharma, G. K., Radhakrishna, K., ve Bawa, A. S. (2007). Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavour in different species of meat. *Food Chemistry*, 105(3), 908-916.
- Johnson, D. R., ve Decker, E. A. (2015). The role of oxygen in lipid oxidation reactions: A review. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6(January), 171–190. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015532>
- Jin, S. K., Kim, G. D., ve Jeong, J. Y. (2021). Evaluation of the Effect of Inhibiting Lipid Oxidation of Natural Plant Sources in a Meat Model System. *Journal of Food Quality*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6636335>
- Jongberg, S., Tørngren, M. A., Gunvig, A., Skibsted, L. H., ve Lund, M. N. (2013). Effect of green tea or rosemary extract on protein oxidation in Bologna type sausages prepared from oxidatively stressed pork. *Meat Science*, 93(3), 538–546. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2012.11.005>
- Kanatt, S. R., Chander, R., ve Sharma, A. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*, 100(2), 451–458. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.09.066>

- Kanatt, S. R., Chander, R., ve Sharma, A. (2008). Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*, 107(2), 845–852. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.08.088>
- Kanner, J. (1994). Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Science*, 36(1–2), 169–189. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)90040-X](https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90040-X)
- Karabacak, S., ve Bozkurt, H. (2008). Effects of *Urtica dioica* and *Hibiscus sabdariffa* on the quality and safety of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Meat Science*, 78(3), 288–296. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2007.06.013>
- Karre, L., Lopez, K., ve Getty, K. J. K. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*, 94(2), 220–227. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.01.007>
- Kim, S. J., Min, S. C., Shin, H. J., Lee, Y. J., Cho, A. R., Kim, S. Y., ve Han, J. (2013). Evaluation of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant extracts and their application to fresh ground beef. *Meat Science*, 93(3), 715–722. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2012.11.029>
- Kim, J. M., Choi, S. H., Shin, G. H., Lee, J. H., Kang, S. R., Lee, K. Y., Lim, H. S., Kang, T. S., ve Lee, O. H. (2016). Method validation and measurement uncertainty for the simultaneous determination of synthetic phenolic antioxidants in edible oils commonly consumed in Korea. *Food Chemistry*, 213, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.053>
- Kumar, Y., Yadav, D. N., Ahmad, T., ve Narsaiah, K. (2015). Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 796–812. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12156>
- Kulkarni, S. Desantos, F.A. Kattamuri, S. Rossi, S.J. ve Brewer, M.S. (2011). Effect of grape seed extract on oxidative, color and sensory stability of a pre-cooked, frozen, re-heated beef sausage model system. *Meat Science*, 88, 139–144.
- Lara, M.S., Gutierrez, J.I., Timon, M., ve Andres, A.I. (2011). Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as antioxidant in cooked pork patties in MAP. *Meat Science*, 88, 481–488.
- Manassis, G., Kalogianni, A. I., Lazou, T., Moschovas, M., Bossis, I., ve Gelaskakis, A. I. (2020). Plant-Derived Natural Antioxidants in Meat and Meat Products. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(12), 1–30. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9121215>
- Mansour, E. H., ve Khalil, A. H. (2000). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chemistry*, 69(2), 135–141. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00234-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00234-4)

- McCarthy, T. L., Kerry, J. P., Kerry, J. F., Lynch, P. B., ve Buckley, D. J. (2001). Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Science*, 58(1), 45–52. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00129-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00129-7)
- McGill, M. R., ve Jaeschke, H. (2013). Oxidant stress, antioxidant defense, and liver injury. In *Drug-Induced Liver Disease (Third Edit)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387817-5.00004-2>
- Mielnik, M.B., Olsen, E., Vogt, G., Adeline, D., ve Skrede, G. 2006. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 191–198.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., ve Garrido, M. D. (2010). Effect on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves in ewes' diet. *Meat Science*, 85(1), 82–88. <https://doi.org/10.1016/J.MEATS-CI.2009.12.009>
- Pateiro, M., Lorenzo, J.M., Amado, I.R., Franco, D. (2014). Effect of addition of green tea, chestnut and grape extract on the shelf-life of pig liver pate. *Food Chemistry*, 147, 386-394
- Pateiro, M., Bermudez, R., Lorenzo, J.M. ve Franco, D. (2015). Effect of Addition of Natural Antioxidants on the Shelf-Life of “Chorizo”, a Spanish Dry-Cured Sausage. *Antioxidants*, 4, 42-67
- Qin, Y, Zhang, Z., Li, L., Xiong, W., Shi, J., Zhao, T. ve Fa, J. (2013). Antioxidant Effect of Pomegranate Rind Powder Extract, Pomegranate Juice, and Pomegranate Seed Powder Extract as Antioxidants in Raw Ground Pork Meat. *Food Science and Technology*, 22, 1063-1069
- Rababah, T. M., Ereifej, K. I., Alhamad, M. N., Al-Qudah, K. M., Rousan, L. M., Al-Mahasneh, M. A., Al-U'Datt, M. H., ve Yang, W. (2011). Effects of Green Tea and Grape Seed and TBHQ on Physicochemical Properties of Baladi Goat Meats. <https://doi.org/10.1080/10942911003637327>, 14(6), 1208–1216. <https://doi.org/10.1080/10942911003637327>
- Revilla, I., ve Quintana, A. M. V. (2005). The effect of different paprika types on the ripening process and quality of dry sausages. *International Journal of Food Science and Technology*, 40(4), 411-417.
- Rižnar, K., Čelan, Š., Knez, Ž., Škerget, M., Bauman, D., ve Glaser, R. (2006). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Rosemary Extract in Chicken Frankfurters. *Journal of Food Science*, 71(7), C425–C429. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2006.00130.X>
- Rojas, M.C. ve Brewer, M.S. (2008) Effect of natural antioxidants on oxidative stability of frozen, vacuum-packaged beef and pork. *Journal of Food Quality*, 2008, 31, 173–188.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., ve Corke, H. (2009). Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw

- pork. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(11), 1879–1885. <https://doi.org/10.1002/JSFA.3667>
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., ve Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1), 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.020>
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung - Food*, 44(3), 158–163. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20000501\)44:3<158::AID-FOOD158>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20000501)44:3<158::AID-FOOD158>3.0.CO;2-L)
- Šojić, B., Pavlić, B., Zeković, Z., Tomović, V., Ikonić, P., Kocić-Tanackov, S., ve Džinić, N. (2018). The effect of essential oil and extract from sage (*Salvia officinalis* L.) herbal dust (food industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages. *LWT*, 89, 749–755. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.11.055>
- Turgut, S., Işıkcı, F. ve Soyer, A. (2017) Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. *Meat Science*, 129, 111-119
- TGK (2019). Türk Gıda Kodeksi. Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği. Tebliğ no: 2018/52. Erişim tarihi: 04.03.2022
- TGKGKMY (2013) Türk Gıda Kodeksi. Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Erişim Tarihi: 04.03.2022
- Yehye, W. A., Rahman, N. A., Ariffin, A., Abd Hamid, S. B., Alhadi, A. A., Kadir, F. A., ve Yaeghoobi, M. (2015). Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 101, 295–312. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2015.06.026>
- Zamus, S., Lopez-Pedrouso, M., Barbac, F.J., Lorenzo, J.M., Dominguez, H. ve Franco, D. (2018) Application of hull, bur and leaf chestnut extracts on the shelf-life of beef patties stored under MAP: Evaluation of their impact on physicochemical properties, lipid oxidation, antioxidant, and antimicrobial potential. *Food Research International*, 112, 263-273.
- Zengin, H., ve Baysal, A. H. (2015). Antioxidant and antimicrobial activities of thyme and clove essential oils and application in minced beef. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1261–1271. <https://doi.org/10.1111/JFPP.12344>
- Zhang, L., Lin, Y.H., Leng, X.J., Huang, M., ve Zhou, G.H. (2013). Effect of sage (*Salvia officinalis*) on the oxidative stability Chinese style sausages during refrigerated storage. *Meat Science*, 95, 145-150.
- Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M. R., Wang, X., Martínez, M., Anadón, A., ve Martínez, M. A. (2021). Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. *Food Chemistry*, 353(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>



BÖLÜM 9

X-IŞINLARI YAYAN GÖK CİSİMLERİNDE YAYINIM MEKANİZMALARI

E.Nihal Ercan¹

¹ Prof.Dr., Boğaziçi Üniversitesi, Fizik Bölümü

X-ışınları Astronomisi alanında uzun sayılabacak bir süredir ülkemizde son derece önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bu çok farklı gerek galaksimiz Samanyolu içindeki gerekse galaksimiz dışındaki çok uzak bölgelerden gelen X-ışınlarının çalışılması artık tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemini her geçen gün arttırmaktadır. Bu kısa çalışmada sadece Plazma olarak adlandırdığımız ve hatta iki bölüme ayırdığımız sıcak ve soğuk plazmalarda oluşan fiziksel mekanizmaları tanıtacağız. Plazma gerek kısmen gerekse tamamen iyonize olmuş çok yüksek sıcaklıklı gazlar demektir. Yaklaşık birkaç milyon derece ile bir yüz milyon derecelerdeki gazların buldukları ortamlarda nasıl oluyor da X-ışınları ortaya çıkıyor onu anlayacağız. Bu yazının sonunda verdiğimiz kaynakça ile daha önce yazmış olduğum basılan birkaç kitabımı da bu alana ilgi duyan okurlar için kuvvetle önermek isterim.

A- Plazmada Gerçekleşen Temel Süreçler

Bu başlık altında plazma ışımlarının ardında yatan uyarılma, iyonlaşma, yeniden birleşim ve yük transfer süreçleri incelenecektir.

1- Uyarılma (Excitation) Süreçleri

Bir iyon içerisindeki bağlı (atoma bağlı - serbest olmayan) elektronların, serbest elektronlar ile çarpışarak veya foton absorbe ederek enerji almasına, uyarılma adı verilir. Bu durumda, enerji alarak uyarılmış elektron, atomda bulunan daha üst bir enerji seviyesine geçer. Elektronun geçtiği enerjinin seviyesi, elektrondan veya fotondan aldığı enerji miktarı ile belirlenir.

Uyarılmış elektron genellikle, bir sonraki adımda ışımaya yaparak taban durumuna (ground state) döner. Taban durumuna dönme süreci, uyarılmış enerji seviyesinden doğrudan tabana olabileceği gibi, ara enerji seviyeleriyle basamak basamak da olabilir.

Galaksi küme içi ortam (Intracluster Medium - ICM) gazı ve yıldızlararası ortam (Interstellar Medium- ISM) gazının yaptığı ışımalarda, uyarılma sıklığından toplam çizgi ışımaya gücü elde edilebilmektedir.

Uyarılma sürecinde, uyarılan elektronlar hala atoma bağlıdırlar.

2- İyonlaşma (Ionisation) Süreçleri

İyonlaşma, atoma bağlı elektronun enerji alarak atomu terk etmesi ile sonuçlanan süreçtir. Atomu terk eden elektron, serbest elektron haline gelirken, atom ise iyon halini alır. Aşağıda farklı iyonlaşma süreçleri anlatılmıştır.

2.1 - Çarpışma İyonlaşması

Bağlı bir elektrona, serbest bir elektronun çarparak enerjisi aktarma-

sı, bağlı elektronun üst enerji seviyelerine geçmesine sebep olabilir. Fakat eğer aktarılan enerji (E), bağlı elektronun bulunduğu atom kabuğunun bağlanma enerjisinden (I) de büyük ise, enerji alan elektron atomdan kaçabilmektedir.

Düşük enerjili ortamlarda, iyonlaşma sıklığı sifıra yaklaşmaktadır. Bunun sebebi, düşük enerjide ($kT \ll I$) serbest elektronların, atomları iyonlaştırma için gereken enerjiye sahip olmamaları, bu enerjiden gittikçe uzaklaşmalarıdır. Fazla yüksek enerjili ortamlarda ise ($kT \gg I$), elektronların iyonlaşma kesiti giderek küçüleceğinden iyonlaşma sıklığı gene azalmaktadır. Bu durum bir benzetme olarak serbest elektronun fazla hareketli olduğu için bağlı elektronu kaçırmaması şeklinde düşünülebilir. Özetle, bağlanma (I) enerjisine kıyasla çok düşük veya çok yüksek enerjili ortamlarda iyonlaşma sıklığı azalmaktadır.

2.2 Fotoiyonlaşma

Çarpışma iyonlaşmasına benzemektedir, bağlı elektron bu durumda serbest elektron yerine foton ile etkileşerek iyonlaşır. Gelen fotonu absorbe eden elektron, atomu terk etmektedir.

Görece düşük sıcaklıklı ortamlarda, fotoiyonlaşma çarpışma iyonlaşmasına göre daha baskındır.

2.3 Compton İyonlaşması

Compton saçılması, yüksek enerjili X-ışını veya gama ışını fotonun, serbest elektron ile çarpışma sonucu saçılmasıdır. Çarpışma esnasında yüksek enerjili foton, enerjisinin bir kısmını serbest elektrona aktarır.

Bir üstte işlenen fotoiyonlaşma sürecinde, bağlı elektron fotonu absorbe ederek enerjisini alıp üst seviyeye çıkmaktadır. Compton İyonlaşmasında ise, yüksek enerjili foton, bağlı elektrona çarparak saçılmaya sebep verir. Temel fark olarak fotonun kendisi absorbe olmaz, enerjisinin bir bölümünü kaybederek saçılıma uğrar.

Compton iyonlaşması, yüksek enerjili sert X-ışını ortamlarında önemli hale gelir. Bunun sebebi, yüksek enerjili ortamlarda compton iyonlaşma sıklığının, fotoiyonlaşma sıklığından yüksek hale gelmesidir.

2.4 Otoiyonlaşma ve Floresan

İyonlaşma süreçlerinde, kopartma işleminin en üst (en dış) enerji seviyesinde gerçekleşmesi gerekmez. İç kabuklarda yer alan elektronların da, kendi bağlanma enerjilerini aşan enerji almaları durumunda kopması mümkündür. Bu durumda kabuklarda boşluk meydana gelir. İyonu düzenli hale getirmek için, bu boşluk doldurulmalıdır. Daha üst seviyedeki elektronlar, bu boşluğu doldurmak için çeşitli süreçlerden geçer.

İlk süreç, floresan sürecidir. Daha üst kabuklarda bulunan elektron, alt seviyeye geçerek boşluğu doldurur ve bu işlem sırasında ışımaya yapar. Yapılan ışımadaki fotonun enerjisi, başlangıç seviyesindeki enerjisi ile, son enerjisi arasındaki fark kadardır.

İkinci süreç ise otoiyonlaşmadır. Bu durumda, Auger süreci ile boşluk doldurulur. Dış kabuklarda bulunan elektron, boşluğun bulunduğu iç seviyeye iner. Floresandan farklı olarak, açığa çıkan enerji foton ışınması ile sonuçlanmaz. Alt seviyeye inen elektron, üst seviyedeki bir başka elektrona fazla enerjisi aktarır. Bunun sonucu, dış katmandaki elektron, komşu elektrondan aldığı enerji ile atomdan kaçabilmektedir. Sonuç olarak, tek bir elektronun iyonlaşması olarak başlayan süreç, iki elektronun iyonlaşması ile tamamlanır. Eğer iyonlaşan ikinci elektron da en üst seviyede değilse ve kendisi de bir boşluk yarattıysa, atom kararlı hale gelene kadar otoiyonlaşma veya floresan süreçlerinden geçmeye devam eder.

2.5 Uyarılma-otoiyonlaşma

Önceki kısımlarda da anlatıldığı gibi, iç kabuklarda yer alan elektron, serbest elektron veya foton vasıtasıyla enerji aldığı anda eğer bu enerji bağlanma enerjisinin üstünde ise atomdan kaçıp iyonlaşabilmektedir. Eğer bağlanma enerjisinden düşük ise, uyarılıp üst seviyelere çıkmaktadır. Genellikle, üst seviyeye çıkan elektron, tekrar kendi seviyesine inip ışımaya yapar. Fakat, nadiren de olsa, üst seviyeye çıkmış elektron ışımaya yaparak kendi seviyesine inmez. Bu durumda üst seviyeye çıkmış kararsız elektron yerine, üst kabukta bulunan başka bir elektron bu boşluğu doldurur. Eğer boşluğu doldurma esnasında ışımaya yapmaz ise, aşağı seviyeye inme esnasında açığa çıkan enerji, ilk başta uyarılıp üst seviyeye çıkan elektrona devredilir. Bu durumda, alt seviyeden üst seviyeye çıkmış olan elektron daha fazla enerji alarak bağlanma enerjisini aşabilir ve süreç iyonlaşma ile sonuçlanır.

3- Yeniden Birleşme (Recombination) Süreçleri

Yeniden birleşme (Recombination), iyonlaşmanın tersi olarak tanımlanabilir. Serbest elektronlar, iyonlar tarafından yakalanıp bağlanır ve serbest elektronun enerjisi ile bağlanma enerjisi arasındaki fark kadar enerji açığa çıkar. Temel yeniden birleşme süreçleri aşağıda anlatılmıştır.

3.1- Işımalı Yeniden Birleşme

İyonun serbest bir elektronu yakalayıp bağlı hale getirmesi, ve bu süreçte foton salması sürecidir. Salınan fotonun enerjisi, serbest elektronun enerjisi ile bağlanma enerjisinin farkı kadardır. Yapılan bu ışımaya serbest-bağlı süreklilik ışınması adı verilmektedir.

Milne ilişkisine göre yeniden birleşim katsayısı, $T \rightarrow 0$ iken sonsuza

gitmektedir. Yani, ortam soğudukça yeniden birleşmenin sıklığı artacaktır. Sonuç olarak, serbest elektronların oranı gittikçe azalır, atom ile birleşmesi artacak ve soğuk plazma ortamlarında iyonlaşma azalacaktır. Sıcaklığın yüksek olduğu durumlarda ise tam tersi geçerlidir, $T \rightarrow \infty$ iken, yeniden birleşme sifıra yaklaşır. Temel olarak aşağıdaki gibi bir genelleme yapmak mümkündür:

$kT \gg I$: İyonlaşan plazma

$kT \ll I$: Yeniden birleşen plazma

Burada kT ortam sıcaklığı, I ise iyonun bağlama enerjisidir. İyonlaşan sıcak plazmalarda aynı anda yeniden birleşme olduğu gibi, yeniden birleşen soğuk plazmalarda iyonlaşma da olmaktadır; yukarıdaki ifade sadece ortamdaki baskın sistemi göstermektedir.

Yeniden birleşen soğuk plazmalarda, yeniden birleşme üst enerji seviyelerinde gerçekleşmektedir (Yeniden birleşme süresince iyonun çok sayıda elektron topladığı ve elektron yakalamasının üst seviyelere kadar çıktığı düşünülebilir). Üst seviyelerin bağlanma enerjisi, alt seviyelere göre daha düşüktür; atom çekirdeğine ne kadar yakın bir kabukta ise elektronu koparmak o kadar zordur, dolayısıyla tekrar bağlamak aynı yüksek enerjiyi gerektirir. Dolayısıyla, yeniden birleşen soğuk plazmalarda, üst enerji seviyelerine yakalanan elektron, enerjisinin daha düşük bir kısmını bağlanma enerjisi ile harcamakta ve daha yüksek miktarda enerji, salınan fotona geçmektedir. Böylece yeniden birleşen soğuk plazmalarda, ışınım çizgileri güçlüdür, çünkü enerjinin büyük bölümü ışımada kullanılır.

İyonlaşan sıcak plazmalarda gerçekleşen yeniden birleşme süreçlerinde ise, serbest elektronlar daha düşük enerji seviyelerinde yakalanır. Çünkü bu atomlar, daha sık iyonlaşmaya uğramış ve elektronlarının büyük bölümünü kaptırmışlardır, dolayısıyla iç kabukları boş hale gelmiştir. Düşük enerji seviyelerinde bağlanma enerjisi daha büyük olduğu için, serbest elektronlar enerjisinin büyük bölümünü bağlanmaya harcayarak düşük enerjili foton yayırlar. Dolayısıyla, yüksek sıcaklıklı iyonlaşan plazmalarda, ışınım çizgileri zayıftır.

Özetle, görece düşük sıcaklıklı ortamlarda yeniden birleşme ışınımı baskın iken, yüksek sıcaklıklı ortamlarda iyonlaşma ışınımı baskındır.

3.2- Dielektronik Yeniden Birleşim

Uyarılma-otoiyonlaşma sürecinin tersidir. Yakalanan serbest elektron, foton yayarak ışınım yapma yerine, kalan enerjisini iyona ait bir başka elektrona vererek onu uyarır. Bu sürecin arından, uyarılma-otoiyonlaşma süreci işleyerek iyon düzenli hale gelebilir. Veya, yakalanan elektron tara-

findan uyarılarak üst enerji seviyesine çıkan elektron, ışına yaparak taban haline geçebilir.

$T \rightarrow \infty$ iken, ışına yeniden birleşmesi ile aynı özellikleri gösterir. $T \rightarrow 0$ durumunda ise durum farklıdır. Soğuk plazmalarda, yakalanan serbest elektronun enerjisi, iyonu ait bağlı elektronu uyarmaya yetmez. Dolayısıyla, soğuk plazmalarda dielektronik yeniden birleşim ihmal edilebilir. Dielektronik yeniden birleşimde tek bir ışına çizgisi değil, iyonu göre sayısı değişmekle birlikte birden çok ışına çizgisi gözüktür. Bunun sebebi, düzenli hale gelmek için çok fazla olasılık olmasıdır. Beklenen ışına çizgisi ile beraber gözlemlenen ışımalara, uydu X-ışınları denmektedir. Buradaki uydu kelimesi, asıl ışına çizgisine eşlik etmelerinden kaynaklanmakta, X-ışın gözlem uydularından kaynaklanan enstrumental arkaplan ışınması ile karıştırılmamalıdır. Dielektronik yeniden birleşim, Güneş koronasında oldukça baskındır.

4- Yük Transfer Süreçleri

Plazmalarda uyarılma, iyonlaşma ve yeniden birleşim süreçleri, iyon ile serbest elektron arasındaki etkileşimlerden dolayı gerçekleşmektedir. Görece düşük (yaklaşık $< 10^5$ K) sıcaklıklarda, iyonlar da birbirleri ile etkileşebilmektedir. Bu etkileşim, iyonların birbirine elektron transfer etmesi ile sonuçlanabilir. Transfer edilen elektron, genellikle en başta uyarılmış üst enerji seviyelerine geçer ve ardından alt seviyelere geçerek ışına yapar.

Transfer edilen elektron, ara enerji seviyelerine geçebilmektedir. Ara enerji seviyelerinde görülen ışına fazlası, yük transfer sürecinin aktif olduğunu gösteren bir imza niteliği taşır.

B- İyonlaşma Dengeleri

Bir plazmadan yapılan veya absorbe edilen X-ışınları hesaplayabilmek için, sistemin denge mekanizmasını anlamak gerekir. Bu başlık altında üç ana denge durumu incelenecektir; çarpışma iyonlaşma dengesi, dengesiz iyonlaşma ve fotoiyonlaşma dengesi.

1- Çarpışma İyonlaşma Dengesi

Çarpışma iyonlaşma dengesi, en temel denge durumudur. Sistem üzerine dışarıdan gelen bir ışınanın baskın olmadığı, ve sistemin optik olarak ince (kendi ışığı fotonlar iyonlar ile etkileşime girmiyor) olduğu durumdur. Basitçe, bu denge durumunda foton-iyon ilişkileri baskın değildir. Dolayısıyla, foton etkileşiminden doğan fotoiyonlaşma ve Compton saçılımı ihmal edilebilir.

Baskın iyonlaşma süreçleri; çarpışma iyonlaşması ile uyarılma-otoiyonlaşma süreçleridir. Yeniden birleşim süreçlerinde ise baskın olarak ışına yeniden birleşimi ile dielektronik yeniden birleşimi gözlenir. Düşük

sıcaklıklarda, yük transfer iyonlaşması ve yeniden birleşimi de etkili hale gelir. Çarpışma iyonlaşma dengesinde, iyonlaşma genellikle ortamdaki serbest elektron sayısının artması ile sonuçlanır.

Galaksi küme içi ortam gazı, Güneş ve diğer yıldız koronaları; çarpışma iyonlaşma dengesinin olduğu plazmalara örnektir.

X-ışın spektroskopik tayf analizlerinde, bu denge durumu model olarak kullanılır ve kaynağın fiziksel özellik parametreleri (Sıcaklık, metal bolluğu v.b.) tayin edilebilir. Bu tarz modeller (Örneğin: XSPEC - APEC, SPEX - Cie) iki aşamalı bir hesaplama sürecinden geçer. İlk olarak, iyonizasyon dengesi hesaplanır. Ardından, bulunanlar ışığında X-ray tayf hesabı yapılır. İncelenen kaynağın fiziksel özelliklerinin tespiti için yapılan bu hesaplamalardaki temel parametreler; elektron sıcaklığı, iyon sıcaklığı ve iyonlaşma denge sıcaklığıdır.

Elektron sıcaklığı, temel olarak plazmanın sıcaklığına denktir. Süreklilik tayfinin şekline ve çizgi ışımalarını etkiler. X-ışın tayfini en çok etkileyen parametredir. İyonun plazma içindeki termal hızı, iyonun atom kütlesi ve iyon sıcaklığı ile belirlenir. Termal hız, çizgi ışımalarının olağan genişliğine kıyasla ne kadar genişlediğini belirler. Dolayısıyla, iyon sıcaklığı çizgi ışımalarının genişliğini belirlemede kullanılan parametredir. İyon sıcaklığı, termal hız ve çizgi ışımalarının genişlemesi sadece yüksek çözünürlüğe sahip tayflarda belli olmaktadır. Üçüncü parametre ise iyonlaşma denge sıcaklığıdır. Denge sıcaklığı, iyonlaşma ve yeniden birleşme katsayılarının hesabında kullanılır. Denge durumundaki plazmalarda, iyon denge sıcaklığı elektron sıcaklığına eşittir.

2- Dengesiz İyonizasyon

Tıpkı Çarpışma Dengeli İyonizasyon gibi dışarıdan bir ışımaya maruz kalmadığı ve fotoiyonlaşmanın ihmal edildiği bir dengesizlik durumudur. Dengesiz İyonizasyon, ani fiziksel değişiklikler ile denge durumunun bozulması sonucu oluşur. Örneğin, ortam sıcaklığının bir şok dalgası ile aniden yükselmesi denge durumunu bozacaktır. Denge durumuna dönüş, zamanla çarpışma iyonlaşmalarının etkisi ile tekrar sağlanmaktadır.

3- Fotoiyonlaşma Dengesi

Fotoiyonlaşma etkisinin olduğu plazmaların denge durumudur. Çarpışma iyonlaşması ve yeniden birleşme etkileri de gözlemlenmekle beraber, yukarıda anlatılan denge durumlarından farkı, fotoiyonlaşma ve Compton saçılmasının da etkili olmasıdır. Auger süreci ile birden çok iyonlaşma gerçekleşebileceği için, iyonlaşma denge denklemleri, bir önceki denge durumlarına kıyasla daha kompleks yapıdadır. Fotoiyonlaşmanın baskın olduğu plazmalarda, tıpkı çarpışma iyonlaşması etkili plazmalar gibi, genel hal denge hali olsa da denge durumunun bozulması söz konusu olabilir.

C- Işıma Süreçleri

Bu bölümde iki ana ışımaya sürecinden bahsedilecektir; süreklilik ışımaları ve çizgi ışımalar.

1- Süreklilik Işımaları

Plazmalarda üç adet ana süreklilik ışımaya süreci vardır; Bremsstrahlung (Serbest-Serbest) ışımaları, Serbest-Bağlı ışımaya ve İki Foton ışımaları. Bu ışımalar, daha önce anlatılan yeniden birleşme gibi temel süreçlerin sonucu olarak gerçekleşmektedir. Sürekli ışımaya tayfinin tepe noktası, sıcaklığa bağlıdır. Ortamın sıcaklığı arttıkça, sürekli ışımaya tepe noktası daha yüksek frekanslara doğru kayar. Ortam sıcaklığı, tepe noktasının denk geldiği dalga boyu ile ters orantılıdır.

1.1- Bremsstrahlung (Serbest-serbest)

Serbest haldeki elektronların, iyon ile etkileşime geçerek enerjisini kaybederken foton ışımaları olayıdır. Adı, Almanca “frenleme ışımaları” anlamını taşır. Kimi zaman Serbest-serbest Işıma da olarak adlandırılmasının nedeni ise, serbest haldeki elektronun, ışımaya sonucu tekrar serbest haline devam etmesi, atoma bağlanmamasıdır (Yeniden Birleşim sürecinin aksine).

Bremsstrahlung ışımalarında, plazma içindeki serbest elektron, pozitif yüklü iyonun yakınından geçerken kinetik enerjisini kaybeder ve kaybettiği enerji kadar enerjiye sahip foton ışımaları yapar. Teorik olarak, yavaşlamadan bağlı ışımaları iyonların da yapması mümkündür. Fakat plazma içinde elektronlar, iyonlara göre yaklaşık bin 800 kat daha efektif ivmelenip yavaşlamaktadır. Dolayısıyla, baskın ışımaya elektronların yavaşlamasından kaynaklanır.

Bremsstrahlung ışımaları vasıtası ile plazma zamanla enerji kaybederek soğur. Bu soğumaya, Bremsstrahlung soğuması denir. Serbest-serbest ışımaları, elektron yoğunluğu ile iyon yoğunluğunun çarpımı ile oranlıdır.

1.2- Serbest-bağlı Işıması

Plazma içinde serbest haldeki elektronun, yeniden birleşme süreci sonucu iyona bağlanması ile foton ışımaları durumudur. Salınan fotonun enerjisi; elektronun, bağlandığı enerji seviyesine kaybettiği enerji kadardır. İlk hali serbest, son hali bağlı olduğu için bu ışımaya Serbest-bağlı ışımaya adını almıştır.

Yeniden birleşme sürecinin baskın olduğu ortamlarda, Serbest-bağlı sürekli ışımaları baskın hale gelir. Genel olarak, plazma sıcaklığı $kT \ll 0.1$ keV ise, Serbest-bağlı ışımaya baskındır. $kT \gg 1$ keV olan plazmalarda ise baskın sürekli ışımaya Bremsstrahlung'dur. Serbest-bağlı ışımaya, sıcaklığın daha düşük olduğu Fotoiyonlaşma dengesine sahip plazmalarda, yeniden birleşme daha aktif olduğu için baskın olan ışımadır.

1.3- İki Foton Işıması

Hidrojen-benzeri ve helyum-benzeri iyonlar için önemlidir. 1s seviyesindeki bağlı elektron, serbest elektron ile çarpışması sonucu enerji alarak 2s seviyesine yükselir. Fakat, kuantum mekaniği kuralları gereği, 2s seviyesinden 1s seviyesine ışına yaparak inmesi mümkün değildir. Böyle bir koşula tabi elektronun önünde iki seçenek vardır. İlki, başka bir serbest elektron ile tekrar enerjisini yükseltip, 2s seviyeden 2p seviyeye çıkmak. Bu durumda, elektron 2p seviyesinden 1s seviyesine, foton ışıması yaparak inebilir. Fotonun enerjisi, $E_{2p} - E_{1s}$ kadardır. İkinci seçenek ise, 2s seviyesine çıkmış elektronun ikinci çarpışmayı yapmamasıdır. Bu durum, yoğunluğu az plazmalarda daha mümkündür. Bu halde, elektron 2s seviyesinden 1s seviyesine iki foton yayarak iner. İki fotonun toplam enerjisi, $E_{2s} - E_{1s}$ kadardır.

İki foton ışıması, 2s seviyesinde çarpışma ihtimali ne kadar zayıfsa, o kadar güçlü hale gelir. Çarpışma ihtimali ise, plazmanın yoğunluğu ve sıcaklığına bağlıdır. Yaklaşık olarak 0.5 keV ile 5 keV sıcaklık arasında önemli hale gelir.

2- Çizgi Işıması (Bağlı-bağlı)

Plazmalar için önemli olan diğer ışına türüdür. İki aşama ile gerçekleşir; bağlı elektronun uyarılması ve ardından ışına yapması. Sürekli ışınadakinin aksine, elektronların enerji seviyeleri sürekli değil, ayrıktır (discrete). Bu sebeple, çizgi ışına sürekli ışınadan farklılaşır ve belirli enerji seviyeleri için belirli ayrık enerjilerde gerçekleşir. Her bir iyon enerji seviyesi için yapılan ışınanın belli ve biricik olması, ışına yapan iyonun gözlemler ile tayininde kullanılır. Çizgi ışınalar, plazmalardaki elementlerin bolluğunun anlaşılması için hayatidir. Genellikle 10 keV üzeri sıcaklığa sahip plazmalarda, iyonlardaki elektronlarının tamamını yüksek enerjiden dolayı iyonlaşarak kopar. Dolayısıyla, 10 keV üzeri sıcaklıklarda çizgi ışınası gözlemlenmez. Bunun sebebi, çizgi ışınasının, elektronun iyon içerisindeki faaliyeti sonucu gerçekleşmesidir. Çizgi ışınası bu sebeple, bağlı-bağlı (Işımaya yol açan elektronun başlangıçta bağlı, son durumda da bağlı olduğundan) ışına adını da almaktadır. Temel olarak, plazma sıcaklığı arttıkça, süreklilik ışınasının etkisi artarken; çizgi ışınanın etkisi azalır.

Çizgi ışınasında gerçekleşen uyarılma, önceki bölümlerde anlatılan uyarılma süreçleri ile gerçekleşir. Uyarılmanın ardından gerçekleşen ışına, hangi süreç ile uyarıldığından bağımsızdır. Yapılan çizgi ışınasının gücü (birim zaman ve birim hacimdeki fotonlar), uyarılmış enerji seviyesindeki (j) elektron yoğunluğu ile, alt seviyeye (i) geçme ihtimalinin (s-1) çarpımı kadardır.

$$P_{(j \rightarrow i)} = A_{(j \rightarrow i)} n_j$$

Elektronun, doğrudan temel enerji seviyesine inmeyip, ara enerji basamaklarından atlayarak temel seviyeye gelebileceği ve farklı seviyelerde de uyarılma olma ihtimali unutulmamalıdır.

Örnek: Fe (Demir) Element Çizgisi

Galaksi kümeleri, kütleçekimi ile bağlı, evrendeki en büyük yapılardır. 10 - 100 arası parlak galaksi ile 1000 civarı sönük galaksiden oluşur. Fakat, galaksiler toplam baryonik (karanlık madde olmayan) kütlelerin sadece küçük bir kısmını oluşturur. Galaksileri saran küme içi ortam (Intracluster Medium - ICM) gazı, galaksi kütlelerinin 5 ila 10 katı kadarını oluşturur.

ICM gazı, kümeden küme ve küme içinde de merkeze olan uzaklığına göre değişmekle beraber, yaklaşık 1-10 keV arası bir sıcaklığa sahip plazmadır. Küme içi ortam gazının sıcaklığı, küme içindeki tekil galaksilerin içindeki yıldızlararası ortam (Interstellar Medium - ISM) gazından ve onları çevreleyen galaksi çevre (Circumgalactic Medium) gazından (galaksi atmosferi olarak düşünülebilir) daha sıcaktır. Bunun sebebi, gazı ısıtan kütleçekimsel alanın, galaksilerden çok daha fazla olması ve gazı daha çok ısıtmasıdır.

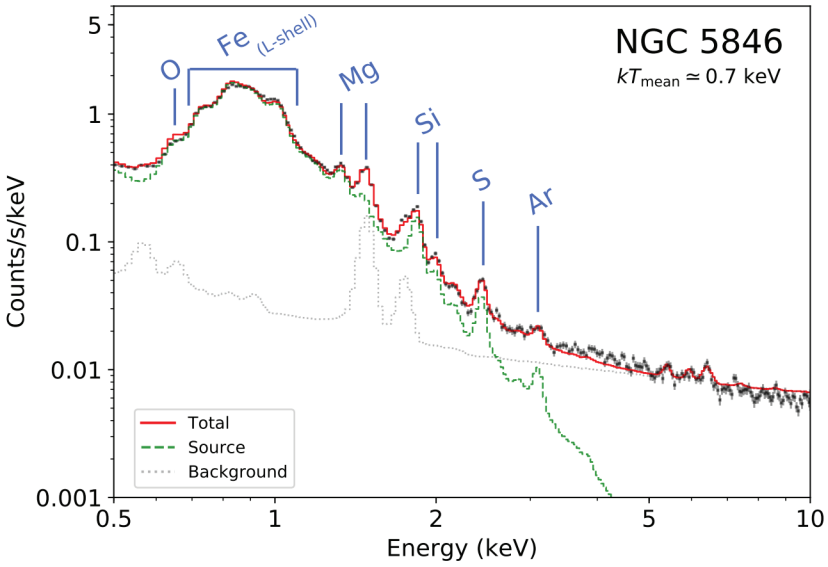
Sıcak ICM gazı içerisinde, elementler iyonlaşır. Serbest elektronların enerjisinin (efektif olarak plazma sıcaklığına denktir) yüksek olması, elementleri yoğun bir şekilde iyonlaştırır. $Z=26$ Fe (Demir) elementi örneğin, bu sıcaklıkta genellikle 1 elektronlu Fe_{xxvi} (İyonlaşmamış hali Fe_I olmak üzere, alt numara her iyonlaşmada 1 artar) ve 2 elektronlu Fe_{xxv} iyonuna kadar iyonlaşır.

X-ışın astrofizikinde, 1s enerji seviyesi, K-kabuğu olarak tanımlanır. K-kabuğunda, 1s'de 2 elektron bulunduğundan dolayı, 2 elektron bulunur. 2s ve 2p enerji seviyeleri, L-kabuğu olarak adlandırılır. 2s'de 2 elektron, 2p'de ise 6 elektron bulunduğundan, L-kabuğunda toplam 8 elektron bulunur. Bir üst seviyeler sırasıyla, M (18 elektron), N (32 elektron) ve O (50 elektron) şeklinde devam eder.

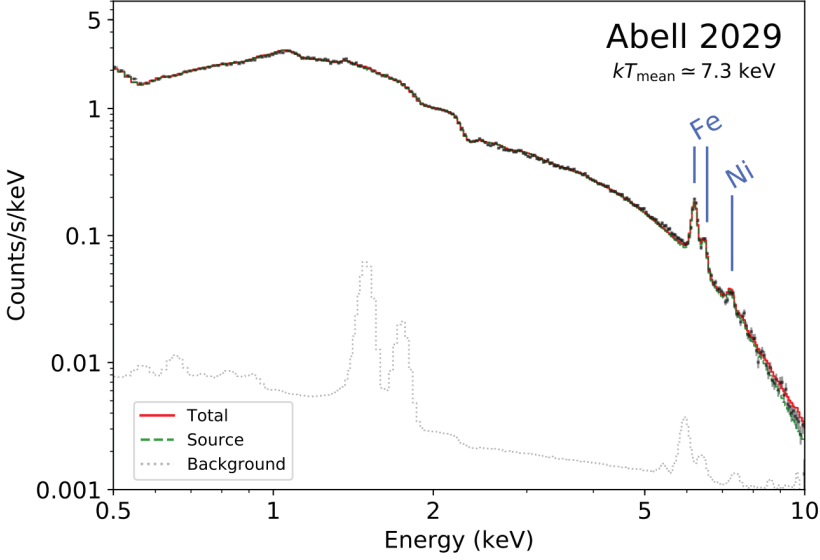
K-kabuğundaki bir boşluğun L-kabuğundan bir elektronun geçişi ile doldurulması ve foton salınmasına, K-alfa ışınması adı verilir. K-kabuğundaki boşluğun, M-kabuğundan bir elektron geçişi ile doldurulmasına ise K-beta ışınması adı verilir. Sıcak ICM gazı içerisinde, Fe elementi, güçlü bir şekilde iyonlaştığı için 1 veya 2 elektronlu iyon halinde gözlemlenir. Dolayısıyla, yaptığı ışınmalar, en içerideki K-kabuğuna geçişlerle gerçekleşir. Fe elementinin en içindeki K-kabuğuna yapılan geçişlerle Fe K-alfa ve K-beta ışınmaları, yüksek enerjideki ICM gazı gözlemlerinde güçlü bir şekilde gözlenir. Fe-K ışınmaları toplam olarak, 6-7 keV arasında çizgi ışınma olarak gözlemlenir. Bu yapı, Fe-K kompleksi olarak da anılmaktadır.

Benzer bir şekilde, L-kabuğundaki bir boşluğun M-kabuğundan elekt-

ron ile doldurulması ve foton salınmasına L-alfa ışınması, N-kabuğundan bir elektron ile doldurulup foton salınmasına ise L-beta ışınması adı verilir. Fe-L ışınmasının gerçekleşmesi, Fe iyonunun L kabuğuna kadar dolu olması, yani daha az iyonlaşmış olduğu anlamına gelir. Daha az iyonlaşma, daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşir. Dolayısıyla, galaksi gibi daha düşük sıcaklığa sahip yapılarda (yaklaşık 0.3-3 keV arası), Fe elementi, Fe_{XVII} (10 elektron) ile Fe_{XXIV} (3 elektron) arasında, L kabuğunda elektronlar olacak şekilde bulunur. Dolayısıyla, düşük sıcaklıklarda (yumuşak X-ray ışınma), Fe elementi, L-alfa ve L-beta ışınmaları gözlemlenerek tespit edilebilir. L-kompleksi de denilen bu yapı, yaklaşık 0.6 keV ile 1.2 keV arasında bulunur.



Dev eliptik NGC 5846 galaksisinin XMM-Newton/EPIC gözlemleri. Düşük sıcaklığa sahip yapıda, L-kabuğu ışınmasının baskın olduğu görülüyor. Kaynak: Werner vd. (2020)



Abell 2029 galaksi kümesinin XMM-Newton/EPIC gözlemleri. Yüksek sıcaklığa sahip yapıda, K-kabuğu ışımasının baskın olduğu görülüyor. Kaynak: Werner vd. (2020)

Bu çalışmadaki desteği için öğrencim Sinancan Kara'ya teşekkür ederim.

Kaynaklar:

1. Adams – Cosmic X-ray Astronomy (1980)
2. Courvoisier ve Thierry - High Energy Astrophysics: An Introduction (2013)
3. Cox, D. P. & Tucker, W. H. 1969, ApJ, 157, 1157
4. de Plaa, Jelle et al. SPEX Development Team, SRON Netherlands Institute for Space Research.
5. Gu, Liyi et al. Werner, N et al. (2020) Hot Atmospheres of Galaxies, Groups, and Clusters of Galaxies. In: Kabáth P., Jones D., Skarka M. (eds) Reviews in Frontiers of Modern Astrophysics. Springer, Cham., A&A 641, A93 (2020)
6. Gu, Liyi et al. X-ray spectra of the Fe-L complex, A&A 627, A51 (2019)
7. Hitomi Collaboration, Aharonian, F., Akamatsu, H., et al. 2018, PASJ, 70, 12
8. Kaastra, J. S. 1992, in internal SRON-Leiden Report
9. Kaastra, Jelle. - Clusters of Galaxies: Beyond the Thermal View (2008)
10. Kaastra, Tamura, Peterson et al., Astron. Astrophys. 413, 415 (2004)
11. Kallman, McCray, Astrophys. J. Suppl. Ser. 50, 263 (1982)
12. Karzas, R. Latter, Astrophys. J. Suppl. Ser. 6, 167 (1961)
13. Kuntz, Snowden, Astrophys. J. 543, 195 (2000)
14. Landini, M. & Monsignori Fossi, B. C. 1972, A&AS, 7, 291
15. Sarazin, Craig L. – X-ray emission from clusters of galaxies (1988)
16. Smith, R. K., Brickhouse, N. S., Liedahl, D. A., & Raymond, J. C. 2001, ApJ, 556, L91
17. Smith, R. K., Brickhouse, N. S., Liedahl, D. A., & Raymond, J. C. 2001, ApJ, 556, L91
18. Werner, N et al. (2020) Hot Atmospheres of Galaxies, Groups, and Clusters of Galaxies. In: Kabáth P., Jones D., Skarka M. (eds) Reviews in Frontiers of Modern Astrophysics. Springer, Cham.
19. Astrofizik – E.Nihal Ercan (2019)
20. X-ray astronomy: Its past and future E.Nihal Ercan (2020)
21. X-ışınları ve Evren I , E.Nihal Ercan (2021)



BÖLÜM 10

BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARDA TAGUCHI YAKLAŞIMI

Özden Canlı Taşar¹

¹ Öğr. Gör. Dr., Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (YÜ-TAM), Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, e-mail: ozden.tasar@erzurum.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4313-5373>

Kıymetli bir ürünün üretim sürecinde yüksek verim elde edilmesi amacıyla, büyük ölçekli üretimlerden önce, üretimde kullanılan parametrelerin optimizasyonunun gerçekleştirilmesi, başarıya giden yolda en önemli adımlardan biridir. Bir ürünün üretim aşamalarının ardından, muayenesinin yapılması ile kalitesinin belirlenmesi amaçlanır. Kalitenin artırılması ise eski yöntemlerden olan klasik deney tasarımı uygulamaları ile mümkün hale gelmesine rağmen, kalite üzerine etki eden faktörlerin sayısı artacağından endüstriyel şartlar bakımından kalitenin kontrolü pek de istenen bir durum değildir (Taylan, 2009). Diğer yandan, 1900'lü yılların başından beri dünyada meydana gelen savaşlar ve yıkımların ardından, ülke ekonomilerinin toparlanması ve ayağa kalkması amacıyla kaliteli ürünlerin elde edilmesi için istatistiksel uygulamaların kullanımı kaçınılmaz hale gelmiştir (Baynal, 2007; Hamzaçebi & Kutay, 2001; Şanyılmaz, 2006; Taşar, 2015). Bu amaçla kullanılan deney tasarımları, faktörler/parametreler ve bunlara verilen yanıtlar arasındaki ilişkiyi bulmayı hedefler (Yılmaz, 2017).

Optimizasyon teknikleri, geleneksel ve istatistiksel olarak iki grupta incelenebilir. Geleneksel yöntem olan bir kerede bir değişken (BKBD, one variable at a time, OVAT) metodu, uygulama bakımından oldukça basit ve kullanışlı bir metodur. BKBD yönteminde dizayn edilen bir deney düzeneğinde sadece bir değişken bulunurken, diğer parametreler/faktörler sabit tutularak, o değişken için optimal olan değer belirlenir. Bu şekilde, sırasıyla diğer parametrelerin de optimal seviyeleri belirlenerek optimizasyon işlemi tamamlanmış olur. Burada çoğunlukla, üretim maliyetlerinin, üretimde geçen zamanın ve iş/insan gücünün etkileri, optimizasyonun etkinliğini belirler (Rao, Kumar, Prakasham, & Hobbs, 2008). Bazı uygulamalar için, özellikle az sayıdaki parametre içeren üretim süreçlerinde kullanışlı olan bu yöntem, fazla sayıda parametre ile yapılan üretim süreçleri için pek kullanışlı değildir. Bununla birlikte, klasik yöntemlerin kullanımı sonucunda, biyoteknolojik uygulamalarda sıklıkla araştırılan çevresel şartlardan pH ve sıcaklık gibi, birbirleri ile etkileşime girebilecek parametrelerin adım adım optimizasyonu nedeniyle aralarındaki etkileşimin azalmasına sebep olmaktadır. Her iki yöntemin de kendine has avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Dahası, çeşitli uygulamaların kombinasyonu ile daha etkin bir optimizasyon elde edilebilir (Abdel-Rahman et al., 2020; Singh et al., 2017; Tasar, 2017, 2022; Tasar, Erdal, & Taskin, 2016).

Optimize edilen bir üretim süreci ile, düşük maliyetle, yüksek verimli ürün eldesi sağlanabilir. Deney tasarımlarının temel amacı, çok sayıda yapılması gereken deneylerin, daha az sayıda yapılarak, maliyetin düşürülmesi ve zaman/iş gücü sarfiyatının mümkün olduğunca

azaltılmasıdır (Sabırlı, 2020). İngiliz istatistikçi ve biyolog Sir Ronald Aymler Fisher, tarımın iyileştirilmesi amacıyla, bloklara ayırdığı tarla topraklarına uygun yetiştirme ortamı, sulama, iklim koşulları ve gübreleme deneylerini yaparak, deney tasarımının temelini oluşturulmasına katkı sunmuştur. Bununla birlikte, varyans analizi tekniğini geliştirmiş ve bu tekniğin kullanımı ile Amerika'nın bu alanda dünya lideri olmasına katkıda bulunmuştur (Şırvancı, 2011).

Deney tasarımı yöntemleri, ilerleyen süreçte farmakolojik ve kimyasal endüstrilerinde kullanılmaya devam etmiştir. II. Dünya Savaşı sonrasında büyük yıkıma uğrayan Japon Ulusal Ekonomisi'nin toparlanması sürecinde büyük katkısı olan Dr. Genichi Taguchi, geliştirdiği Taguchi yönteminde ortogonal dizileri (orthogonal arrays) kullanarak standart tablolardan faydalanmıştır. Bu diziler, tam faktöriyel dizaynın bir parçasından oluşmaktadır. Dr. Taguchi tarafından geliştirilen, kalite yönetim endüstrisinde oldukça popüler olan ve istatistiksel bir optimizasyon aracı olarak çok farklı alanlarda kullanılan Taguchi deney dizaynı yöntemi, temelde kalitenin korunmasını esas almaktadır. Dr. Taguchi'nin "Maliyet, kaliteden daha önemlidir; ancak, maliyeti düşürmenin en etkili yolu kalitedir." sözünden hareketle, etkin bir optimizasyon ile daha kaliteli ve yüksek verimli ürünlerin eldesi mümkün olmaktadır. Taguchi yöntemi, üretim aşamasında süreç iyileştirme yoluyla ortaya çıkabilecek olumsuz faktörlerin (noise factor) engellenmesi esasına dayanmaktadır. Buradan hareketle, üretim sürecinde kaliteyi artırmanın en önemli adımının, varyasyonun en aza indirilmesi olduğu tespit edilmiştir (Dieter 2000; Sabırlı 2020). Tam faktöriyel deney tasarımlarında, en az iki faktörün en az iki seviyeli olarak etkilerinin incelenmesi esastır. Burada yapılması gereken deney sayısı (N), seviye sayısı (n) ve faktör sayısı (k) olacak şekilde;

$$N = n^k$$

formülünün kullanımı ile hesaplanır (Zümrüt, 2009). Tam faktöriyel dizaynda bütün kombinasyonlar dikkate alınır. Kesirli faktöriyel dizaynlarda ise, bütün kombinasyonların alt kümelerinden faydalanılır ki, bu alt kümeler faktörler arasındaki etkileşim/interaksiyonların ön bilgisi kullanılarak elde edilir. Buradaki amaç ise tüm kombinasyonlar içerisinden sadece gerekli olanların yapılması suretiyle, zaman ve maliyetin azaltılmasıdır (Savaş, 2019). Tam faktöriyel deney tasarımına bir örnek verilecek olursa, 4 faktörlü ve 4 seviyeli bir optimizasyon için tam faktöriyel dizaynda 4^4 tane deney düzeneği gerekir. Bu şekilde bir deney düzeneğinin kurulması pek mümkün değildir bu nedenle bir istatistiksel deney tasarımı kullanımı önerilebilir. Aynı sayıdaki faktör ve seviyeli bir optimizasyon süreci için, Taguchi yönteminde 4 seviyeli ve 4 faktörlü ortogonal dizi olan L16 dizisinin kullanımı ile, 16 deney

düzeneği gerekir. Bu da, daha az maliyet, zaman ve enerji tüketimini beraberinde getirdiği için daha avantajlıdır. Tam faktöriyel dizayn çalışmalarında, faktör ve seviye sayısı artınca deney sayısı da artacağı için, maliyetin, enerji, zaman ve iş gücü tüketiminin azaltılması amacıyla, Taguchi deney dizaynı, Plackett- Burmann dizaynı, Central Composite dizaynı, yüzey cevap (response surface) dizaynı, vb. gibi istatistiksel araçlar devreye girer. Taguchi deney tasarımı ile aslında teorik yenilikler sunulmamıştır, ancak, geliştirilen yöntem ile üretim uygulamalarında yenilikler gerçekleştirilmiştir (Şirvancı, 2011). Genel olarak bir deney tasarımının oluşturulması için, problem belirlenir, optimize edilecek olan faktörler ve seviyeleri tespit edilir, deney tasarımı seçilir, deney düzeneğinden elde edilen yanıtlar toplanır ve analiz edilir. Son adımda ise doğrulama ve ön görüş/tahmin deneyleri ile tasarım tamamlanmış olur (Sabırlı, 2020). Taguchi deney tasarımı, kuadratik kayıp fonksiyonunu kullanarak, ürünlerdeki kayıpların en aza indirilmesini hedefler. Sinyal oranı/Gürültü oranı (Signal/Noise, S/N ratio), ortalamanın (sinyal), standart sapmaya (gürültü) oranıdır. Optimize edilen ürünlerdeki istenen gerçek değer sinyal değeri, gerçek değer oluşmasında istenmeyen paya sahip olan değerler ise gürültü değerini oluşturur. Bu nedenle, istenmeyen durumların mümkün olduğunca en aza indirilmesi gerekir. S/G oranı, her bir faktörün performans özelliklerini elde ettikleri seviyelerde sunar. Bu amaçla Taguchi yöntemi temelde üç farklı S/G oranı üzerine kurulur. Bunlar, daha büyük olan daha iyi (the larger the better), normal olan daha iyi (the nominal the better) ve daha küçük olan daha iyi (the smaller the better) karakteristik kriterleridir ve denklemleri aşağıdaki gibidir (Hsieh, K.L., Tong, L.I., Chiu, H.P., 2005; Kasman, 2009; Tabazık, T., Öztürk, 2019).

$$S/G = -\log_{10} (1/n \sum_{i=1}^n 1/Y_i^2), \text{ daha büyük olan daha iyi,}$$

$$S/G = -\log_{10} (1/n \sum_{i=1}^n (Y_i - Y_0)^2) \text{ nominal olan daha iyi,}$$

$$S/G = -\log_{10} (1/n \sum_{i=1}^n Y_i^2), \text{ daha küçük olan daha iyi.}$$

S/G sonucu performans karakteristiklerini açıklarken, n deneysel bir kombinasyonda yapılan test sayısını belirtir, Y_i değeri i .ci deneyin performans değerini ve Y_0 değeri ise nominal değeri göstermektedir. Doğrulama deneylerinin analizinde ANOVA (analysis of variance) yöntemi kullanılır. (Taguchi, 1986; Tan, Zaimoglu, Hınıslıoğlu, & Altun, 2005).

Biyoteknolojik Uygulamalarda Taguchi Yönteminin Kullanımı

Çeşitli üretim alanlarında olduğu gibi, biyoteknolojik uygulamalarda da sıklıkla başvurulmuş optimizasyon yöntemleri,

parametrelerin sayısı, zaman, enerji tüketimi, insan gücü, vb. gibi değişkenlere bağlı olarak klasik veya istatistiksel metodların kullanımıyla varyasyon göstermektedir. Biyoteknolojik uygulamalarda, enzimler, peptidler, biyopolisakkaritler gibi değerli ürünlerin üretimleri amacıyla kullanılan besiyerlerinin ve/veya çevresel faktörlerin optimizasyonu, üretim sürecinin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Bu amaçla, Taguchi deney tasarımıyla faydalanılarak gerçekleştirilen biyoteknolojik uygulamaların bazıları aşağıda sunulmuştur.

1. Biyopolimer Üretimi

Değerli bir ekzopolisakkarit olan levan, çeşitli endüstri kollarında biyoyoumluluk özelliği nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, antibakteriyel özelliklere sahip olan manyetik demir nanopartikülleri içeren bir nanokompozit üretiminde levan biyopolimeri kullanılmıştır. Bu amaçla sukroz, KH_2PO_4 ve soya unu, optimizasyon faktörleri olarak seçilmiş ve üç seviyeli olacak şekilde Taguchi L_9 ortogonal dizisinden yararlanılmıştır. Çalışmada levan ekzopolisakkaritini üretici mikroorganizma olarak *Bacillus polymyxa* PTCC1020 bakterisi kullanılmıştır. Manyetik demir nanopartiküllerinin üretimi amacıyla, birlikte çöktürme (coprecipitation) tekniği uygulanmıştır. Çalışmada ayrıca, manyetik demir nanopartikülleri ve levan biyopolimeri içeren nanokompozitler üretilmiştir. En yüksek levan ekstraksiyonu, 5 g soya unu, 0.7 g KH_2PO_4 ve 5 g sukrozun olduğu deney dizaynından elde edilmiştir. Sonuç olarak, elde edilen levan ve Fe_3O_4 antibakteriyel nanokompozitlerin, çeşitli endüstrilerde yaygın bir şekilde kullanılabileceği bildirilmiştir (Taran, Etemadi, & Safaei, 2017).

Bakteriyel selüloz, yaygın olarak kullanılan bir biyopolimer çeşididir. Yapılan bir çalışmada, Taguchi metodunun kullanımıyla *Glucacetobacter xylinus* ATCC 23768 adlı bakterinin, bakteriyel selüloz üretimi ortamı optimize edilmiştir. Başlangıç pH değeri olarak 4.5, asetik asit konsantrasyonu olarak %1.5 (v/v), glukoz konsantrasyonu %5 (w/v) ve sıvı yüksekliğinin 7.2 cm olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak ıslak film kalınlığının 3.92 mm olduğu ve %39.0 oranında artırıldığı belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, iki aşamalı kültür metodu ile modifiye edilmiş YPD-glukoz besiyeri ile maksimal film kalınlığının 5.56 mm olarak gerçekleştiği bulunmuştur (Lin, Sung, Chen, Lin, & Kuo, 2012). Bilindiği gibi bakteriyel enfeksiyonlar pek çok hastalığa hatta bazı durumlarda ölümlere sebep olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporuna göre *Staphylococcus aureus* ve *Echerichia coli* %50'den fazla oranda antibiyotiklere karşı direnç göstermektedir. Bu nedenle, bu bakterilerin gösterdiği antibiyotik direncinin azaltılması hususunda çalışmalar yapılmaktadır (Laxminarayan, R., Matsoso, P., Pant, S., Brower, C. & J.A., Klugman, K. & Davies, 2016; Taran et al., 2017).

Bakterilerin kullanımı ile biyopolimer üzerine yapılan bir diğer çalışmada, antibakteriyel özellikteki selüloz-MgO nanokompozitlerinin üretimi araştırılmıştır. Çalışmada Taguchi L₉ ortogonal dizisi kullanılmış ve optimizasyon parametreleri olarak MgO, selüloz ve karıştırma zamanı seçilmiştir. Elde edilen nanokompozitlerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Dokuzuncu deney düzeneğinde seviyelerin kullanımı sonucunda, MgO için 8mg/ml, selüloz için 2 mg/ml ve karıştırma zamanı için 60 dk optimal seviyeler olarak belirlenmiş ve elde edilen nanokompozitlerin en güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Safaei et al., 2019).

Kıymetli biyopolimerlerden biri olan kitosan, beta-1,4 bağlı-2 asetamido-2deoksi-D-glukoz içeren bir polisakkarittir ve çeşitli derecelerde *N-asetillenmiş* gruplar içeren, doğada selülozdan sonra en fazla miktarda bulunan polisakkarit olan kitinin deasetilasyonu yolu ile elde edilir (Sandipan Chatterjee, Guha, & Chatterjee, 2019). Kitin, deniz kabuklularında, böceklerin dış kabuklarında, yengeçlerde, karideslerde ve ıstakozlarda bulunur (Sudipta Chatterjee, Chatterjee, Chatterjee, & Guha, 2008; Naghdi, Zamani, & Karimi, 2014; Tasar et al., 2016). Özellikle farmasötik, gıda, medikal, çevre dostu yenilebilir film üretimi uygulamaları gibi çeşitli alanlarda yoğun bir şekilde kullanılan kitosan, ticari olarak, atık halde bulunan deniz kabuklularının dış iskeletinin oluşturan kabuklarının, demineralizasyon, deproteinizasyon, dekolorizasyon ve deasetilasyon gibi çeşitli kimyasal işlemlerin uygulanması sonucunda üretilmektedir (Ak Kalut, 2008; George, T.S., Guru, K.S.S., Vasanthi, N.S. and Kannan, 2011; Roberts, 2009; Songa, R., Xuea, R., Hea, L.H., Liua, Y. and Xiaob, 2008; Uçan, F., Mercimek, 2013). Buna karşın, mevsimsel kısıtlama, üretimin sürekliliği, çok yüksek sıcaklıklarda alkali işlemlerin sebep olduğu enerji tüketimi ile birlikte hava kirliliği ve arzu edilen kalite karakterlerinin tam olarak elde edilememesi gibi nedenlerden dolayı alternatif üretim şekli araştırılmaktadır (Sudipta Chatterjee et al., 2008; Taşar, 2015). Diğer yandan, filamentsi yapıya sahip olan fungusların, bilhassa Zygomycetes grubu üyeleri fungusların, hücre duvarları kitosan kaynağı olarak çeşitli araştırmacılar tarafından test edilmiştir. Kitin, bazı bakterilerin ve fungusların hücre duvarlarına alkalın uygulaması sonucunda deasetile olarak kitosana dönüşmektedir. Mikrobiyal kaynaklı kitosanın ise istenilen şekilde manipüle edilerek özellikle kozmetik ve farmasötik endüstrilerinde kıymetli olan, düşük moleküler ağırlıklı kitosanın elde edilmesi büyük avantaj sağlamaktadır (Tasar et al., 2016). *Rhizopus oryzae* PAS-17 (GenBank accession number KU318422.1) fungusu ile yapılan bir çalışmada, steril olmayan fermentasyon şartları altında, şeker üretimi atık ürünlerinden olan melasın substrat olarak kullanımı araştırılmıştır. Kültür şartlarının optimizasyonunda BKBD metodu ile kombine olarak Taguchi L₁₆ ortogonal dizisinden faydalanılmıştır.

Optimizasyon parametreleri olarak BKBD için sıcaklık ve pH değerleri, Taguchi yöntemi için ise melas miktarı (ml/l), magnezyum sülfat miktarı (g/l), inokülüm materyali miktarı, çalkalama hızı ve inkübasyon süresi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, *R. oryzae* PAS-17 suşunun kullanımıyla 1.59 g/l kitosan üretimi gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyal kaynaklı kitosan üretiminin bilinen tek dezavantajı, elde edilen ürünün miktarının az olmasıdır (Tasar et al., 2016).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, gelişmiş ülkelerde %20'den az oranda ve gelişmekte olan ülkelerde ise %50 civarında okul öncesi çağıdaki çocukların demir eksikliği bulunmaktadır (McLaren, 2019). Laktoferrin, farmasötik ve gıda endüstrilerinde yoğun bir şekilde kullanılan, globüler yapıdaki protein bazlı bir biyopolimerdir. Laktoferrinin kullanımı ile kandaki serbest demir düzeyinin kontrolü ve hücrelere transferi gerçekleştirilmektedir (Hashim, H.A., Foda, O., Ghayaty, 2017). Yapılan bir çalışmada insan laktoferrin nanopartüküllerinin termal uygulama tekniği ile Taguchi deney düzeneği kullanılarak optimizasyonu araştırılmıştır. Çalışmada seçilen parametreler olarak laktoferrin konsantrasyonu, pH değeri, ısıtma oranı ve son sıcaklık farklı seviyelerde test edilmiştir. Dinamik ışık saçırma, Fourier transform kızılötesi spektroskopisi, taramalı elektron mikroskopisi ve atomik güç mikroskopisi analizleri ile elde edilen sonuçlara göre, laktoferrin konsantrasyonunun %45 oranında bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Optimal sonuçlar olarak laktoferrin konsantrasyonu için 3 mg/ml, pH değeri için 8, ısıtma oranı için 3°C/dk ve son sıcaklığın 90°C belirlenmiştir (Mofidian, Barati, Jahanshahi, & Shahavi, 2019).

Ekzopolisakkaritler farmasötik uygulamalarda, tıbbi biyolojide ve çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılan biyolojik polimerlerdir. Yapılan bir çalışmada, *Pleurotus geesteranus* mantarı tarafından ekzopolisakkaritlerin batık kültür şartlarında üretimlerinin optimizasyonu amacıyla Taguchi metodundan yararlanılmıştır. Polisakkaritler mantarlardan izole edilen çok önemli biyoaktif bileşenlerdendir. Bu biyoaktif bileşenler farmasötik uygulamalarda, antitümör, antioksidan, hipoglisemik, antiradyasyon, hipolipidemik ve hipoglisemik aktiviteleri gibi özellikleri bakımından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Çalışmada L_9 (3^4) ortogonal dizisi ile optimizasyon yapılmıştır. Polisakkarit üretimini etkileyen faktörler olarak maltoz, tripton, NaCl ve KH_2PO_4 üç seviyeli olarak denenmiştir. Elde edilen ekzopolisakkaritlerin antitümör ve antioksidan aktiviteleri test edilmiş ve tanımlanmıştır (He, Geng, Mao, Wang, & Xu, 2013).

2. Atık Su/Ürünlerin Değerlendirilmesi ve Biyoremediasyon

Bir insanın ortalama günlük gri su oluşturma kapasitesi 90 L/ gün ile 120 L/ gün arasında değişiklik göstermektedir (Morel, A., Diener,

2006). Hızlı endüstrileşme ve şehirleşme politikaları sonucunda yer altı ve yer üstü su kaynaklarında bozulmalar meydana gelmektedir. Yaptırımı fazla olan yasaların kullanımıyla, endüstriyel kaynaklı atık suların değerlendirilerek yeniden kullanımına ilişkin teknikler geliştirilmektedir. Mevcut uygulamalar arasında elektrokoagülasyon, elektroflotasyon, evaporasyon, membran filtrasyon, iyon değişim tekniği, aktif karbon adsorpsiyonu, sedimentasyon çöktürme işlemleri yer almaktadır (Karthikeyan, S., Kumar, M.A., Maharaja, P., Rao, B.P., & Sekaran, 2014). Flokülasyon tekniğinde fizikokimyasal yöntemlerden faydalanılırken, sadece suyun içerisindeki bulanıklığın giderilmesi sağlanmaz, aynı zamanda su içerisinde bulunan ağır metaller ve yağın giderimi ile kimyasal oksijen ihtiyacı azaltılmış olur (Nie, M., Yin, X., Jia, J., Wang, Y., Liu, S., Shen, Q., Li, P., & Wang, 2011). Klasik BKBD tekniğinin zaman alan, ekonomik olmayan ve pratikte uygulanabilir olmayışından dolayı istatistiksel optimizasyon teknikleri daha avantajlı olarak görülmektedir (Prasad, K.K., Mohan, S.V., Rao, R.S., Pati, B.R., & Sarma, 2005). Yapılan bir çalışmada, nişasta işleme endüstrisinden kaynaklanan atık suların biyoflokülasyonu amacıyla *Klebsiella pneumoniae* NJ7 suşunun biyoflokülant üretiminde optimizasyonu amacıyla Taguchi metodu uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, nişasta işleme endüstrisinin atık sularında oluşan kimyasal oksijen ihtiyacının ve bulanıklığın azaldığı tespit edilmiştir. *K. pneumoniae* NJ7 suşunun besin açısından zengin olan nişasta işleme endüstrisi atık sularının ham karbon kaynağı olarak kullanma yeteneği ile daha ekonomik biyoflokülant üretimi ile çifte verim sağlanmıştır (Joshi, Naresh Dholakiya, Anil Kumar, & Mody, 2017). Yapılan bir çalışmada, gri suyun artırılması üzerine Taguchi uygulamasının etkinliği araştırılmıştır. Elde edilen optimizasyon sonuçlarına göre sentetik gri sudan besinlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Taguchi deney düzeneği için gri su arıtımında etkin parametreler olarak çinko klorid, emprenye oranı ve aktivasyon zamanı test edilmiştir. Bu amaçla Taguchi deney düzeneğine ek olarak yüzey yanıt metodu (response surface methodology) Box Behnken dizaynı kullanılmıştır (Praveena, Rashid, & Abdul Rashid, 2021).

Agro-endüstriyel atıklar, diğer bir deyişle tarım-endüstri kaynaklı atıklar, dünya çapında her yıl büyük oranlarda değerlendirmek üzere çeşitli araştırmalara konu olmaktadır. Çoğunlukla besin içeriği yönünden zengin olan bu atık maddelerin substrat olarak kullanımlarıyla, biyoteknolojik uygulamalar sonucunda, hem çevreye verdiği kirlilik zararı engellenmekte, hem de kıymetli ürünlerin ekonomik yollardan üretimleri amaçlanmaktadır. Tarım-endüstri atıklarının başında gelen buğday kepeğinin pek çok çalışmada substrat olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu çalışmalardan birinde, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi tarafından üretilen alkalın proteaz enzimi katı hal fermentasyonu

(solid state fermentation) tekniği kullanılarak optimize edilmiştir. Taguchi tekniği ile yapılan optimizasyon çalışmasında, L_8 ortogonal dizisi, ortam pH değeri, NaCl miktarı, sıcaklık değeri, inokülüm miktarı ve çalkalama hızı optimizasyon faktörleri olarak seçilmiştir. Sonuçta elde edilen proteazın 582.25 U/ml olarak elde edildiği tespit edilmiştir (Meena, Tripathi, Srivastava, & Jha, 2013).

Endüstriyel öneme sahip ve mikrobiyolojik yollarla üretilen enzimler için atık maddelerin substrat olarak değerlendirilmesine yönelik pekçok çalışma mevcuttur. Lakkaz enzimi, kağıt beyazlatma, deterjan, yapıştırıcı, detoksifikasyon, denim kumaşlarının ağartılması, tekstil boyası giderimi gibi bir çok uygulamada kullanılan ve ticari yönden kıymetli olan bir enzimdir (Arslan, Canlı Taşar, Taşkın 2021; Couto & Toca 2006; Mano, Mao & Heller 2003). Yapılan bir çalışmada, *Coriolopsis caperata* RCK2011 fungusu ile katı hal fermentasyonunda lakkaz enzimi üretiminin optimizasyonu amacıyla Taguchi L_{18} ($2^1 \times 3^7$) karışık ortogonal dizisinden yararlanılmıştır. Çalışmada, lakkaz üretimini en fazla etkileyen sekiz faktörün farklı seviyelerde lakkaz üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Katı hal fermentasyonu sağlanması amacıyla 250 ml'lik erlenlerin içerisinde 3, 5 ve 7 gr olacak şekilde buğday kepeği kullanılmıştır. Nem oranı 1:3 olarak ayarlanmıştır buna ek olarak besiyeri içeriğinde, mısır mazerasyon sıvısı kullanılarak ekonomik ve yüksek verimli bir üretim elde edilmesi amaçlanmıştır (Nandal, Ravella, & Kuhad, 2013).

Civa tarafından oluşturulan çevresel kirliliğin giderek artması sebebiyle, özellikle Hindistan gibi gelişen ülkelerde alarm seviyesinde tehlike oluşturmaktadır. Mikrobiyal yollarla civanın giderimi için yapılan araştırmalar sonucunda optimize edilen süreçlerle etkin bir şekilde atık sulardan Hg (II) giderimi gerçekleştirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* kullanılmış ve atık sulardan Hg (II) giderimi prosesi için Taguchi L_{18} düzeneğinden faydalanılmıştır. Çalışmada, çalkalama, sıcaklık, pH, karbon kaynağı gibi parametreler optimize edilmiştir. Qualitek 4 (Nutek Inc., MI, USA) programı kullanılarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda, 24 saat sonunda Hg (II) redüksiyon etkinliğinin %99 oranında elde edildiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Taguchi DOE metodunun etkisi ile Hg (II) redüksiyonu ve onun atık sulardan gideriminin *P. aeruginosa* kullanımıyla %29 oranında arttığı görülmüştür. Taguchi yöntemi ile etkin ve zamandan tasarruf edilerek bir biyoremediasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Tupe, Rajwade, & Paknikar, 2007).

Fosil yakıtların, petrokimya türevi bileşiklerin, petrol endüstrisinin sebep olduğu çevresel kirlilik, özellikle toprakta oluşan kontaminasyon sonucunda, bu toprakların tarım amaçlı kullanımı

mümkün değildir. Biyoremediasyon işlemlerinde hidrokarbonların sebep olduğu toksisitenin işlenmesi ile biyoteknolojik yollarla arıtılması amaçlanmaktadır. Hidrokarbonların ve fosil yakıtların eksik yanması sonucu oluşan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), doğal yollarla veya insanların etkileri sonucunda, özellikle petrol ve petrokimya endüstrilerinin etrafındaki topraklarda kontaminasyona sebep olmaktadır. Biyoremediasyon işlemlerinin temel amacı, çevreye karşı duyarlı, ekosisteme karşı yan etkiler oluşturmayan, çevrede daha az fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişikliklere sebep olan, ek kimyasalların çok az kullanıldığı veya hiç kullanılmadığı ve daha düşük maliyetli proseslerin geliştirilmesidir (Bento, F., Camargo, F., Okeke, B. and Frankenberger, 2005; Nikolopoulou, M. and Kalogerakis, 2008). PAH'ların uzaklaştırılması işleminde bakteriyel susşarın PAH'ları karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaları gerekmektedir. Bu bağlamda, kontamine olmuş topraklardan izole edilen bakterilerin iyi araştırılması amaçlanır. PAH'lar yüksek oranda hidrofobik bir yapıda olduğundan, suda düşük çözünürlüğe sahiptirler ve bu durum, bakteriyel remediasyon için sıkıntı oluşturmaktadır (Yi, C., Yu-Hong, C. and Jo, 2009).

Biyosüpfaktanların, biyoremediasyon uygulamaları için kontamine toprak örneklerinde, PAH'ların çözünmesini kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* SP4 izolatu tarafından kontamine topraktan pyren giderimini artırmak için biyosüpfaktan üretiminin optimizasyonu için karbon ve nitrojen kaynakları, pH, C/N oranı ve tuzluluk faktörleri test edilmiştir. Elde edilen ANOVA analizi sonucunda, karbon kaynağının en etkili faktör olduğu, ardından pH, nitrojen kaynağı, C/N oranı ve tuzluluğun geldiği tespit edilmiştir. Taguchi deney tasarımı, optimal çalışma şartlarının, zeytinyağı, NH₄NO₃, C/N oranı 5, tuzluluk %0,5 ve pH 7 olarak belirlemiştir. Üretilen biyosüpfaktan maddenin kullanımıyla, 500 mg/kg pyren ile kontamine olan toprağın biyoremediasyonu gerçekleştirilmiştir. 250 mg/l biyosüpfaktan madde ilavesi ile %84.6 oranında pyren gideriminin sağlandığı tespit edilmiştir (Jorfi, Rezaee, Mobeh-Ali, & Jaafarzadeh, 2013).

Yapılan diğer bir çalışmada, total petroleum hidrokarbonların (TPH), kontamine topraklardan uzaklaştırılması amacıyla Taguchi deney tasarımı uygulanmıştır. Çalışmada melas konsantrasyonu, peynir altı suyu konsantrasyonu, üre konsantrasyonu, inokülüm ve Tween 80 miktarı, optimizasyon için seçilen faktörlerdir. Elde edilen sonuçlar neticesinde %72.63 oranında hidrokarbon miktarında azalma olduğu tespit edilmiştir (Khayati & Barati, 2017).

Şeker üretimi endüstrisinin atık ürünlerinden biri olan ve lifsi özellikteki posalı bir yapıya sahip olan bagas, lakkaz enzimi üretiminde

en etkin teşvik edici madde olarak tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, Taguchi tekniğinin kullanımı ile pH, bakır sülfat, karbon, azot ve teşvik edici (indüser) maddelerin dört seviyeli optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler sonucunda lakkaz üretiminin 32 IU/mg değerinden 219 IU/mg seviyesine artış gösterdiği görülmüştür. İndüser madde olarak bagasın kullanımıyla %52 oranında lakkaz aktivitesini arttığı tespit edilmiştir, diğer yandan, enzim üretimi üzerine pH %7 oranında en düşük etkiyi göstermiştir. 2 U/ml lakkaz aktivitesi içeren büyüme ortamında, boyaların, atıkların ve kimyasal bileşenlerin biyoremediasyonu test edilmiştir. *Cryptococcus albidus* mayasının, 2 U/ml lakkaz aktivitesine sahip ortamda gelişmesi neticesinde, toksik ve parçalanması zor bileşiklerin biyolojik olarak ayrıştırılmasında etkin bir şekilde rol aldığı bildirilmiştir (Singhal, Choudhary, & Thakur, 2009).

3. Gıda ve Endüstriyel Fermentasyon İşlemleri

Taguchi yönteminin kullanımı ile gıda ve endüstriyel fermentasyon işlemleri ile ilgili çok sayıda ve farklı alanlarda bir çok çalışma bulunmaktadır. Sitrik asit, gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan, faydalı bir asitleştirici ajandır. Sitrik asit, gıdaların korunması amacıyla, aroma artırıcı olarak, hayvan yemlerine katkı maddesi olarak, antioksidan, antikoagülan ve biyomedikal uygulamalarda tampon ajanı olarak kullanılmaktadır (Behera, 2020; Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R., Pogliaro, 2017; Sawant, O., Mahale, S., Ramchandran, V., Nagaraj, G. & A., 2018). Dünyada sitrik asit üretiminin yıllık 2.1 milyon ton ve 2020 yılı için yaklaşık 3.6 milyar dolar olduğu tespit edilmiştir (Börekeçi, B.S., Kaban, G., Kaya, 2021; Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R., Pogliaro, 2017). Sitrik asit üretimi amacıyla yapılan bir çalışmada, kaju elma suyunun mutant bir fungus olan *Aspergillus niger* LCFAn40 tarafından fermentasyonu ile Taguchi yöntemi kullanılarak optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada araştırılan parametreler, kaju elma suyu konsantrasyonu, fermentasyon süresi, pH ve inokülüm miktarıdır. Optimizasyon sonucunda sitrik asit üretimi %92.61/gün olarak ölçülmüştür (Adeoye & Lateef, 2022).

Antibiyotiklerin, hayvan yemi üretiminde büyüme promotör ajanı olarak kullanımı 1940'lerden beri gerçekleştirilmektedir. *Streptomyces aureofaciens*'in kurutulmuş biyokütlesi ile beslenen hayvanların gelişmelerinde artış olduğu gözlenmiştir (Castanon, 2007). Diğer yandan, Avrupa Komisyonu, mikroorganizmaların gösterdiği antibiyotik direncin artmasından dolayı antimikrobiyal büyüme promotörleri içeren yem maddelerinin kullanımını yasaklamıştır. Antimikrobiyal büyüme promotörlerine alternatif maddelerin araştırılması sonucunda, tavukçuluk endüstrisinde kullanılan esansiyel (uçucu) yağların aynı özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir (Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C.,

Kroismayr, 2008). Esansiyel yağlar, hem domuz hem de kümes hayvanları endüstrilerinde antimikrobiyal maddelere alternatif olarak kabul edilmiştir. Esansiyel yağların lipofilik özellikte olmaları ve kimyasal yapılarından dolayı antimikrobiyal mekanizması üzerine yeterince çalışma yapılamamıştır. Öte yandan, kolloidal sistemlerde mikrokapsüller, mikrokürecikler, lipozomlar gibi nanoemülsiyonlar üzerine yapılan çalışmalar ile esansiyel yağların biyoetkinliği araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar, sarımsak bitkisinin büyüme promotör ajanı olarak sıklıkla kullanıldığını göstermiştir. Bir çalışmada, Taguchi deneysel tasarımı ve emülsifikasyon yöntemi kullanılarak sarımsak esansiyel yağı nanoemülsiyonları elde edilmiştir. Çalışmada, damlacık boyutunu ve polidispersite endeksini belirleyen önemli optimizasyon parametreleri olarak, sürfaktan madde konsantrasyonları, karıştırma oranı, yüzey aktif madde türü ve karıştırma hızı seçilmiştir. Sürfaktan çeşidinin, damlacık boyutu ve polidispersite endeksi üzerine büyük ölçüde etkin olduğu tespit edilmiştir. Optimize edilmiş nanoemülsiyon sonucunda elde edilen damlacık boyutunun 28.4 nm, polidispersite endeksinin 0.315 ve zeta potansiyelinin 28.15 ± 1.1 mV değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Sarımsak esansiyel yağı ile Tween® 80'in uyumluluğu Fourier transform kızılötesi spektroskopisi ile belirlenmiştir. Sarımsak yağının içeriğindeki önemli bileşikler gaz kromatografisi ile belirlenmiştir. Taguchi L₉ yaklaşımı ile elde edilen sonuçlar doğrultusunda, araştırılan çeşitli parametrelerin optimizasyonu amacıyla kullanılan, kolay ve faydalı bir araç olduğu ortaya çıkmıştır (Katata-Seru, Lebepe, Aremu, & Bahadur, 2017).

Gıdaların hazırlanması kadar, sunumlarının da etkili olması amacıyla optimizasyon işlemleri kullanılmaktadır. Restoranlarda sunum kalitesinin artırılması ile ilgili yapılan bir çalışmada, müşterilerin memnuniyetinin artırılması ve sunumların kaliteli bir şekilde gerçekleştirilmesi amacıyla, Taguchi deney düzeneği kullanılmıştır. Yemek sunumu hijyeni, ardından mutfak özellikleri ve gıda hareketi hakkında bilgiler, müşterilerin geri dönüşleri ile elde edilen sonuçlara göre Taguchi deney tasarımının kullanımı ile yenilikçi bir restoran hizmeti geliştirilmiştir (Rejikumar, Aswathy, Jose, & Sonia, 2021).

Hindistan mutfağında önemli bir yere sahip olan chutney tabağının hazırlanması amacıyla çeşitli sebze, meyve veya ikisinin karışımı kullanılarak, sirke ve diğer bileşenler kullanılmaktadır. Yapılan bir araştırmada, yenmeye hazır fıstık (*Arachis hypogaea*) ile chutney yapımının optimizasyonu için Taguchi L₄ (2³) ortogonal dizisinden faydalanılmıştır. Kaliteyi etkileyen parametreler olarak serbest yağ asidi, peroksit değeri ve total fenolik bileşenler seçilmiştir ve 40 günlük inkübasyonun ardından sonuçlara bakılmıştır. Çalışmada ayrıca, kullanılan sirkenin yüzde değeri, paketleme materyali ve soğutma

sıcaklığı optimize edilmiştir (Chandrasekar, Kannan, Priyavarshini, & Gayathri, 2015).

Endüstriyel öneme sahip enzimlerin biyoteknolojik yollarla üretimlerinde kullanılan Taguchi yöntemi ile yapılan pekçok çalışma bulunmaktadır. Farklı substratların mikroorganizmaların yetiştirilmesi amacıyla test edildiği ve yetiştirme ortamının optimizasyonunun gerçekleştiği çalışmalar neticesinde istatistiksel deney tasarımlarının kullanımının, ekonomik bir üretim süreci sağladığı ve birbirleri ile etkileşim içerisinde olan bazı faktörlerin, aynı anda farklı seviyelerinin denenmesine olanak sağlaması yönünden faydalı bir uygulama olduğu tespit edilmiştir (Canlı, Tasar, & Taskin, 2013; Tasar, 2020). Mikrobiyal yoldan β -fruktofuranozidaz enziminin üretimi ilgili yapılan bir çalışmada, Taguchi L_{16} deney düzeneği kullanılmıştır. Çalışmada optimizasyon amacıyla seçilen parametreler, karbon kaynağı, pH değeri, inkübasyon sıcaklığı, çalkalama hızı ve inkübasyon süresidir. Çalışmada ekonomik karbon kaynağı olarak şeker pancarı kullanılmıştır ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda yüksek verimli enzim üretimi gerçekleştirilmiştir (Tasar, 2017). İnülin, sarımsak, soğan, muz, pırasa, yer elması, vb. gibi bir çok bitkide depo materyali olarak rol alan, son molekülünde sukroz-tip bağlantısı ile sonlanan bir β -2,1-bağlı D-fruktofuranoz zinciri içeren başlıca karbohidratlardandır (O. C. Tasar, Erdal, & Algur, 2015; Zhao, C.H., Cui, W., Liu, X.Y., Chi, Z.M., Madzak, 2010). İnülinin parçalanması için inülinaz (EC 3.2.1.7) enzimi katalizör olarak görev yapar. İnülinaz enziminin biyoteknolojik yollardan üretiminde de çeşitli substratlardan faydalanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, mikrobiyal inülinaz enzimi üretimi amacıyla yüksek protein ve mineral oranına sahip olan ve kültüre alınmış bir böcek türü olan *Locusta migratoria* substrat olarak kullanılmıştır. Çalışmada Taguchi L_9 ortogonal dizisi kullanılmış ve *Geotrichum candidum* adlı mayadan inülinaz üretimi araştırılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda, inülinaz enziminin yüksek kapasitede üretildiği tespit edilmiştir (Canlı et al., 2013). Bu bağlamda, elde edilen sonuçlar ışığında, ileriki çalışmalarda farklı böcek türlerinin biyoteknolojik yönden kıymetli ürünlerin üretiminde ve özellikle artan dünya nüfusunun sonucu olarak daha da önemli hale gelen biyoremediasyon işlemlerinde kullanılabilirliği araştırılmalıdır (Canlı et al., 2013; Tasar, 2014, 2017b, 2017a, 2018b, 2018a; Taskin, Tasar, & Incekara, 2013).

Kıymetli endüstriyel enzimlerden bir diğeri glukoz oksidaz enzimidir. Glukoz oksidaz enzimi, enzimlerin oksidoredüktaz ailesinden olup, oksidazları, peroksidazları, dehidrojenazları içeren ve canlılarda oksitleyici ajanlardan elektron transferinde görev alan önemli bir enzimidir (Khatami et al., 2021; Trisolini et al., 2019). Bu enzim aynı zamanda, endüstriyel olarak gerçekleştirilen, glukonik asit üretiminde

görev almaktadır. Glukoz oksidaz enzimi, ilerleyen teknoloji ile diyabet hastaları için glukoz duyarlı sensörlerin imalatında ve ilaçların taşınmasında kullanılmaktadır (Nguyen & Yang, 2017; Suzzi et al., 2017; Zhang, Tsitkov, & Hess, 2016; Zhao et al., 2017). Yapılan bir çalışmada, tıbbi yönden önemli bir değere sahip olan ve farmasötik endüstrisinde sıklıkla kullanılan bir bitki olan *Inula viscosa*'nın substrat olarak kullanılmasıyla *Rhodotorula glutinis* mayasından glukoz oksidaz enziminin üretimi ve optimizasyonu araştırılmıştır. Çalışmada optimizasyon amacıyla seçilen parametreler, *I. viscosa* miktarı, pH değeri, inkübasyon sıcaklığı ve inkübasyon süresidir. Taguchi L₁₆ deney düzeneği ile gerçekleştirilen optimizasyon sonucunda, optimize edilmemiş deney düzeneğine göre 2.4 kat daha fazla glukoz oksidaz enzimi aktivitesi tespit edilmiştir. Çalışmada en etkin faktörün %41'lik bir orana sahip olan *I. viscosa* olduğu ve en az etkin olan faktörün ise inkübasyon süresi olduğu görülmüştür. Sonuçta, gıda, ilaç, tekstil, biyosensör, biyoyakıt, vs. gibi pek çok önemli endüstriyel alanda kullanılan bir enzim olan glukoz oksidazın, yağlı bir maya olan *R. glutinis* tarafından etkin bir şekilde üretimi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ayrıca substrat olarak kullanılan *I. viscosa*'nın enzim üretimine yüksek oranda etkisi olduğu görülmüştür (Tasar, 2022).

Taguchi deney tasarımı, pek çok alanda olduğu gibi biyoteknolojik çalışmalarda da etkin bir şekilde uygulanmaktadır. Klasik deney tasarımlarının yanında kombine bir şekilde uygulama olduğu gibi, sadece istatistiksel optimizasyon tekniği olarak kullanılmaktadır. Taguchi deney düzeneklerinin kullanımı ile üretim maliyetlerinin, iş/insan gücünün, üretim amacıyla kullanılan sürenin azaltılması ve üretim veriminin artırılması amaçlanmaktadır. Yapılan çalışmalar, Taguchi deney tasarımının etkin bir şekilde biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilir olduğunu ortaya koymuştur. Endüstriyel ölçekli üretimlerin ön çalışmaları amacıyla yapılan küçük ölçekli araştırmalar için optimizasyon amacıyla Taguchi tekniği etkin bir şekilde kullanılabilir.

Kaynaklar

- Abdel-Rahman, M. A., Hassan, S. E. D., El-Din, M. N., Azab, M. S., El-Belely, E. F., Alrefaey, H. M. A., & Elsakhawy, T. (2020). One-factor-at-a-time and response surface statistical designs for improved lactic acid production from beet molasses by *Enterococcus hirae* ds10. *SN Applied Sciences*, 2(4), 1–14. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2351-x>
- Adeoye, A. O., & Lateef, A. (2022). Improving the Yield of Citric Acid Through Valorization of Cashew Apple Juice by *Aspergillus niger*: Mutation, Nanoparticles Supplementation and Taguchi Technique. *Waste and Biomass Valorization*, 13(4), 2195–2206. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01646-0>
- Ak Kalut, S. (2008). *Enhancement of Degree of Deacetylation of Chitin in Chitosan Production, (Bachelor Thesis), Faculty of Chemical Engineering and Natural Resources University, Malaysia Pahang.*
- Arslan, N.P.; Canlı Taşar, O.; Taşkın, M. (2021). Mikrobiyal Enzimler: Üretimden Endüstriyel, Tıbbi ve Biyoteknolojik Uygulamalara. In *Fen Bilimleri ve Matematikte Araştırma ve Değerlendirmeler - I* (pp. 115–148).
- Baynal, K. (2007). *Çok Yanıtlı Problemlerin Optimizasyonunda Taguchi Yönteminin Kullanılması ve Alkollü İçkiler Sektöründe Bir Uygulama. Yüksek Lisans, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.*
- Behera, B. C. (2020). Citric acid from *Aspergillus niger*: a comprehensive overview. *Critical Reviews in Microbiology*, 46, 727–749.
- Bento, F., Camargo, F., Okeke, B. and Frankenberger, W. (2005). Diversity of biosurfactant producing microorganisms isolated from soils contaminated with diesel oil. *Microbiol. Res.*, 160, 249–255.
- Börekçi, B.S., Kaban, G., Kaya, M. (2021). Citric acid production of yeasts: an overview. *EuroBiotechnology Journal*, 5, 79–91.
- Canlı, O., Tasar, G. E., & Taskin, M. (2013). Inulinase production by *Geotrichum candidum* OC-7 using migratory locusts as a new substrate and optimization process with Taguchi DOE. *Toxicology and Industrial Health*, 29(8), 704–710. Retrieved from <https://doi.org/10.1177/0748233712442737>
- Castanon, J. I. R. (2007). History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86(11), 2466–2471. Retrieved from <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00249>
- Chandrasekar, V., Kannan, K., Priyavarshini, R., & Gayathri, R. (2015). Application of taguchi method in optimization of process factors of ready to eat peanut (*Arachis hypogaea*) Chutney. *International Food Research Journal*, 22(2), 510–516.

- Chatterjee, Sandipan, Guha, A. K., & Chatterjee, B. P. (2019). Evaluation of quantity and quality of chitosan produce from *Rhizopus oryzae* by utilizing food product processing waste whey and molasses. *Journal of Environmental Management*, 251(August), 109565. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109565>
- Chatterjee, Sudipta, Chatterjee, S., Chatterjee, B. P., & Guha, A. K. (2008). Enhancement of growth and chitosan production by *Rhizopus oryzae* in whey medium by plant growth hormones. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42(2), 120–126. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.10.006>
- Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R., Pogliaro, M. (2017). Citric acid: emerging applications of key biotechnology industrial product. *Chemical Central Journal*, 11, 1–9.
- Couto, S. R. & Toca, H. J. L. (2006). Industrial and biotechnological applications of laccases: a review. *Biotechnology Advances*, 24, 500–513.
- George, T.S., Guru, K.S.S., Vasanthi, N.S. and Kannan, P. (2011). Extraction, purification and characterization of chitosan from endophytic fungi isolated from medicinal plants. *World Journal of Science and Technology*, 1(4), 43–48.
- Hamzaçebi, C., Kutay, F. (2001). Kalite Maliyetlerine Genel Bir Bakış: Taguchi Kayıp Fonksiyonu. *Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7(2), 287–293.
- Hashim, H.A., Foda, O., Ghayaty, E. (2017). Lactoferrin or ferrous salts for iron deficiency anemia in pregnancy: a meta-analysis of randomized trials. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 219, 45–52.
- He, P., Geng, L., Mao, D., Wang, Z., & Xu, C. (2013). Production, preliminary characterization, and bioactivities of exopolysaccharides from *Pleurotus geesteranus* 5 #. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 43(1), 108–122. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/10826068.2012.712078>
- Hsieh, K.L., Tong, L.I., Chiu, H.P., et al. (2005). Optimization of a multi-response problem in Taguchi's dynamic system. *Computer Industrial Engineering*, 49, 556–571.
- Jorfi, S., Rezaee, A., Mobeh-Ali, G. A., & Jaafarzadeh, N. A. (2013). Application of Biosurfactants Produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 for Bioremediation of Soils Contaminated by Pyrene. *Soil and Sediment Contamination*, 22(8), 890–911. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/15320383.2013.770439>
- Joshi, N., Naresh Dholakiya, R., Anil Kumar, M., & Mody, K. H. (2017). Recycling of starch processing industrial wastewater as a sole nutrient source for the bioflocculant production. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 36(5), 1458–1465. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/ep.12608>

- Karthikeyan, S., Kumar, M.A., Maharaja, P., Rao, B.P., & Sekaran, G. (2014). Process optimization for the treatment of pharmaceutical wastewater catalyzed by poly sulphasponge. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 45(45), 1739–1747.
- Kasman, Ş. (2009). Lazer Mikro İşleme Parametrelerinin Yüzey Kalitesine Etkisinin Deney Tasarım Yöntemiyle Belirlenmesi. 5. Uluslar. İleri Tek. Sem. (IATS'09), Karabük, Türkiye.
- Katata-Seru, L., Lebepe, T. C., Aremu, O. S., & Bahadur, I. (2017). Application of Taguchi method to optimize garlic essential oil nanoemulsions. *Journal of Molecular Liquids*, 244, 279–284. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.09.007>
- Khatami, S. H., Vakili, O., Ahmadi, N., Soltani Fard, E., Mousavi, P., Khalvati, B., ... Movahedpour, A. (2021). Glucose oxidase: Applications, sources, and recombinant production. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, (March), 1–12. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/bab.2165>
- Khayati, G., & Barati, M. (2017). Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil: Optimization Strategy Using Taguchi Design of Experimental (DOE) Methodology. *Environmental Processes*, 4(2), 451–461. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s40710-017-0244-9>
- Laxminarayan, R., Matsoso, P., Pant, S., Brower, C., R., & J.A., Klugman, K. & Davies, S. (2016). Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. *Lancet*, 387, 168–175. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00474-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00474-2)
- Lin, J.-H., Sung, W.-P., Chen, T.-Y., Lin, Y.-J., & Kuo, J.-C. (2012). Applying the Taguchi Method in Improving the Production of Bacterial Cellulose. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 6(6), 610–616. Retrieved from <https://doi.org/10.1166/jbmb.2012.1287>
- Mano, N., Mao, F. & Heller, A. (2003). Characteristics of a miniature compartment-less glucose-O₂ biofuel cell and its operation in a living plant. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 6588–6593.
- McLaren, G. D. (2019). Iron Deficiency. In *Concise Guide to Hematology* (pp. 29–36). Retrieved from https://doi.org/10.1007/978-3-319-97873-4_5
- Meena, P., Tripathi, A. D., Srivastava, S. K., & Jha, A. (2013). Utilization of agro-industrial waste (wheat bran) for alkaline protease production by *Pseudomonas aeruginosa* in SSF using Taguchi (DOE) methodology. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(3), 210–216. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.05.003>
- Mofidian, R., Barati, A., Jahanshahi, M., & Shahavi, M. H. (2019). Optimization on thermal treatment synthesis of lactoferrin nanoparticles via Taguchi design method. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1–9. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1353-z>

- Morel, A., Diener, S. (2006). *Greywater Management in Low and Middle-Income Countries: Review of different treatment systems for households or neighbourhoods*. Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology.
- Naghdi, M., Zamani, A., & Karimi, K. (2014). A sulfuric-lactic acid process for efficient purification of fungal chitosan with intact molecular weight. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 158–162. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.042>
- Nandal, P., Ravella, S. R., & Kuhad, R. C. (2013). Laccase production by *Corioliopsis caperata* RCK2011: Optimization under solid state fermentation by Taguchi DOE methodology. *Scientific Reports*, 3, 1–7. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/srep01386>
- Nguyen, L. T., & Yang, K. L. (2017). Combined cross-linked enzyme aggregates of horseradish peroxidase and glucose oxidase for catalyzing cascade chemical reactions. *Enzyme and Microbial Technology*, 100, 52–59. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.02.007>
- Nie, M., Yin, X., Jia, J., Wang, Y., Liu, S., Shen, Q., Li, P., & Wang, Z. (2011). Production of a novel bioflocculant MNXY1 by *Klebsiella pneumoniae* strain NY1 and application in pre-cipitation of cyanobacteria and municipal wastewater treatment. *Journal of Applied Microbiology*, 111, 547–558.
- Nikolopoulou, M. and Kalogerakis, N. (2008). Enhanced bioremediation of crude oil utilizing lipophilic fertilizers combined with biosurfactants and molasses. *Mar. Pollut. Bull.*, 1855–1861.
- Prasad, K.K., Mohan, S.V., Rao, R.S., Pati, B.R., & Sarma, P. N. (2005). Laccase production by *Pleurotus ostreatus* 1804: Optimization of submerged culture conditions by Taguchi DOE methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 24, 17–26.
- Praveena, S. M., Rashid, U., & Abdul Rashid, S. (2021). Optimization of nutrients removal from synthetic greywater by low-cost activated carbon: application of Taguchi method and response surface methodology. *Toxin Reviews*, 1–10. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/15569543.2021.1903037>
- Rao, R. S., Kumar, C. G., Prakasham, R. S., & Hobbs, P. J. (2008). The Taguchi methodology as a statistical tool for biotechnological applications: A critical appraisal. *Biotechnology Journal*, 3(4), 510–523. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/biot.200700201>
- Rejikumar, G., Aswathy, A. A., Jose, A., & Sonia, M. (2021). A collaborative application of design thinking and Taguchi approach in restaurant service design for food wellbeing. *Journal of Service Theory and Practice*. Retrieved from <https://doi.org/10.1108/JSTP-12-2020-0284>
- Roberts, G. A. E. (2009). *Thirty Years of Progress in Chitin and Chitosan*,

Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivates ed: Struszczyk H., Poland, 13, 7-15.

- Sabırlı, A. (2020). *Elektrik Direnç Kaynağında Optimum Kaynak Parametrelerinin Taguchi Yöntemiyle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi.* Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Safaei, M., Taran, M., Imani, M. M., Moradpoor, H., Rezaei, F., Jamshidy, L., & Rezaei, R. (2019). Application of Taguchi method in the optimization of synthesis of cellulose-MgO bionanocomposite as antibacterial agent. *Polish Journal of Chemical Technology*, 21(4), 116–122. Retrieved from <https://doi.org/10.2478/pjct-2019-0047>
- Şanyılmaz, M. (2006). *Deney Tasarımı ve Kalite Geliştirme Faaliyetlerinde Taguchi Yöntemi ile Bir Uygulama. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.*
- Savaş, Ö. (2019). *Experimental Design and Statistical Modeling for Efficient Wind Tunnel Testing, Master Thesis, Middle East Technical University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ankara, 594821.*
- Sawant, O., Mahale, S., Ramchandran, V., Nagaraj, G., B., & A. (2018). Fungal citric acid production using waste materials: a minireview. *Journal of Microbio. Biotechnol. Food Sci.*, 8, 821–828.
- Singh, V., Haque, S., Niwas, R., Srivastava, A., Pasupuleti, M., & Tripathi, C. K. M. (2017). Strategies for fermentation medium optimization: An in-depth review. *Frontiers in Microbiology*, 7(JAN). Retrieved from <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02087>
- Singhal, A., Choudhary, G., & Thakur, I. S. (2009). Optimization of growth media for enhanced production of laccase by *Cryptococcus albidus* and its application for bioremediation of chemicals A paper submitted to the Journal of Environmental Engineering and Science. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 36(7), 1253–1264. Retrieved from <https://doi.org/10.1139/L09-050>
- Şırvancı, M. (2011). *Kalite İçin Deney Tasarımı Taguchi Yaklaşımı, Literatür Yayıncılık.*
- Songa, R., Xuea, R., Hea, L.H., Liua, Y. and Xiaob, Q. L. (2008). he Structure and Properties of Chitosan/Polyethylene Glycol/Silica Ternary Hybrid Organic-Inorganic Films. *Chinese Journal of Polymer Science*, 26, 621–630.
- Suzzi, G., Ozogul, F., Dubey, M. K., Shukla, S., Bajpai, V. K., Zehra, A., Bueno-Mari, R. (2017). Improvement Strategies, Cost Effective Production, and Potential Applications of Fungal Glucose Oxidase (GOD): Current Updates. *Frontiers in Microbiology | Www.Frontiersin.Org*, 1, 1032. Retrieved from <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01032>
- Tabazık, T., Öztürk, F. D. (2019). Taguchi Yöntemi Kullanılarak Aladağ

(Adana) Krom Cevherinin Zenginleştirilmesinin Araştırılması. *DÜMF Mühendislik Dergisi*, 10(1), 229–237.

- Taguchi, G. (1986). *UNIPUB/Kraus International, White Plains, N.Y.*
- Tan, O., Zaimoglu, A. S., Hınıslioglu, S., & Altun, S. (2005). Taguchi approach for optimization of the bleeding on cement-based grouts. *Tunnelling and Underground Space Technology*, 20(2), 167–173. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.tust.2004.08.004>
- Taran, M., Etemadi, S., & Safaei, M. (2017). Microbial levan biopolymer production and its use for the synthesis of an antibacterial iron(II,III) oxide–levan nanocomposite. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(12), 2–6. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/app.44613>
- Tasar, G. E. (2014). A CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF TURKISH DRYOPIDAE, ELMIDAE AND HETEROCERIDAE (COLEOPTERA: BYRRHOIDEA) FAUNA. *Archives of Biological Sciences*, 66(4), 1473–1478.
- Tasar, G. E. (2017a). *Hydrochus adiyamanensis* sp n. from Adiyaman Province in south-eastern Turkey (Coleoptera: Hydrochidae). *Zoology in the Middle East*, 63(4), 356–361.
- Tasar, G. E. (2017b). Hydrophiloidea (Coleoptera: Helophoridae, Hydrochidae and Hydrophilidae) Fauna of Adiyaman Province. *Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal of Natural Sciences*, 20(2), 103–110.
- Tasar, G. E. (2018a). Contributions to the knowledge of Aquatic Coleoptera Fauna (Dryopidae, Helophoridae, Heteroceridae, Hydrochidae, Hydrophilidae, Gyrinidae, Haliplidae and Noteridae) of Diyarbakir, Mardin and Batman Provinces (Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(8), 927–936.
- Tasar, G. E. (2018b). Investigations on The Hydrophiloidea (Coleoptera: Helophoridae, Hydrochidae an Hydrophilidae) Fauna of Sanliurfa Province. *KSU Journal of Agriculture and Nature*, 21(2), 111–118.
- Tasar, O. C. (2017). Enhanced β -fructofuranosidase biosynthesis by *Rhodotorula glutinis* using Taguchi robust design method. *Biocatalysis and Biotransformation*, 35(3), 191–196. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1304386>
- Tasar, O. C. (2022). Glucose oxidase production using a medicinal plant: *Inula viscosa* and optimization with Taguchi DOE . *Journal of Food Processing and Preservation*, (November 2021), 1–8. Retrieved from <https://doi.org/10.1111/jfpp.16375>
- Tasar, Ö. C. (2020). Inulinase production capability of a promising medicinal plant: *Inula viscosa*. *Commagene Journal of Biology*, 4, 67–73. Retrieved from <https://doi.org/10.31594/commagene.747618>

- Taşar, Ö. C. (2015). *Batık Kültürde Steril Olmayan Koşullarda Fungal Kitosan Üretimi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Tasar, O. C., Erdal, S., & Algur, O. F. (2015). Utilization of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*) for inulinase production. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 45(6), 596–604. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/10826068.2014.940538>
- Tasar, O. C., Erdal, S., & Taskin, M. (2016). Chitosan production by psychrotolerant *Rhizopus oryzae* in non-sterile open fermentation conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 428–433. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.007>
- Taskin, M., Tasar, G. E., & Incekara, U. (2013). Citric acid production from *Aspergillus niger* MT-4 using hydrolysate extract of the insect *Locusta migratoria*. *Toxicology and Industrial Health*, 29(5), 426–434. Retrieved from <https://doi.org/10.1177/0748233712436646>
- Taylan, D. (2009). *Taguchi Deney Tasarımı Uygulaması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.*
- Trisolini, L., Gambacorta, N., Gorgoglione, R., Montaruli, M., Laera, L., Colella, F., ... Pierri, C. L. (2019). Clinical Medicine FAD/NADH Dependent Oxidoreductases: From Different Amino Acid Sequences to Similar Protein Shapes for Playing an Ancient Function. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/jcm8122117>
- Tupe, S. G., Rajwade, J. M., & Paknikar, K. M. (2007). Taguchi approach significantly increases bioremediation process efficiency: A case study with Hg (II) removal by *Pseudomonas aeruginosa*. *Letters in Applied Microbiology*, 45(1), 36–41. Retrieved from <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02152.x>
- Uçan, F., Mercimek, A. (2013). Gıda Endüstrisinde Kitosanın Önemi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknolojisi Dergisi*, 1(2), 79–85.
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A. (2008). Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 46, 140–148.
- Yi, C., Yu-Hong, C. and Jo, W. (2009). Biosurfactant-enhanced removal of total petroleum hydrocarbons from contaminated soil. *Journal Hazardous Materials*, (167), 609–614.
- Yılmaz, H. (2017). *Investigation of Carburized Quenching Process of Shafts Using Design of Experiments, Master Thesis, Atilim University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ankara.*
- Zhang, Y., Tsitkov, S., & Hess, H. (2016). Proximity does not contribute to activity enhancement in the glucose oxidase-horseradish peroxidase cascade. *Nature Communications*, 7, 1–9. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/ncomms13982>

- Zhao, C.H., Cui, W., Liu, X.Y., Chi, Z.M., Madzak, C. (2010). Expression of inulinase gene in the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* and single cell oil production from inulin-containing materials. *Metabolic Engineering*, 12(6), 510–517.
- Zhao, L., Wang, L., Zhang, Y., Xiao, S., Bi, F., Zhao, J., ... Ding, J. (2017). Glucose oxidase-based glucose-sensitive drug delivery for diabetes treatment. *Polymers*, 9(7), 1–21. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/polym9070255>
- Zümrüt, Z. (2009). *Tam Faktöriyel Deney Tasarımı Tekniği ile Hidroksiapatit Kaplı Titanyum İmplant Malzemelerin Mekanik Özellikleri Üzerine Parametrelerin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 251010.*



BÖLÜM 11

FARKLI PCBK KATKILAMALARINA SAHİP PCDTBT SHOTTKY BARİYER DİYOTUN IŞIK VE SICAKLIĞA BAĞLI KARAKTERİZASYONU

*Muzaffer Şağban¹
Özge Tüzün Özmen²*

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Beykent Üniversitesi, ORCID ID: 0000-0001-8820-5622

² Prof. Dr., İzmir Bakırçay Üniversitesi, Temel Bilimler Bölümü, ORCID ID:
0000-0002-5204-3737

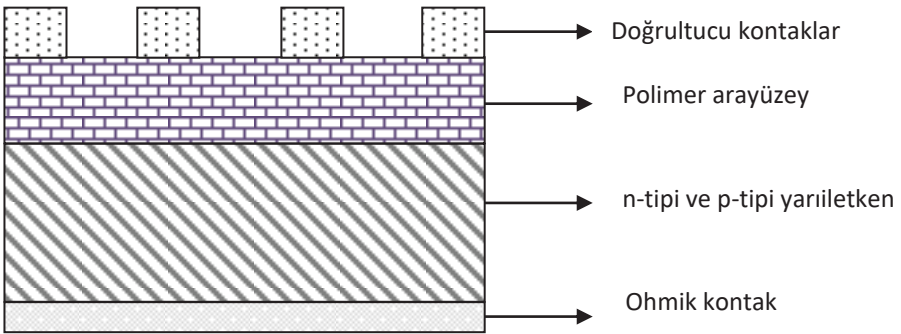
1.Giriş

Elektronik ve optoelektronik teknolojisinde inorganik malzemeler elektronik aygıtlarda (ışık yayan diyotlar (LED), Si tabanlı alan etkili transistörler(FET), ince film transistörler (TFT) vb.) aktif malzeme olarak geniş kullanım alanlarına sahiptir [1]. Diğer yandan, organik elektronik aygıtlar inorganik yarıiletkenlerle kıyaslandığında sahip oldukları pek çok avantajları dolayısıyla inorganik malzemelerle hazırlanan aygıtlara göre oldukça avantajları bulunmaktadır [2]. Organik malzemelerin yarıiletken teknolojilerinde yaygın kullanıma sahip olmalarının en önemli sebebi organiklerin kolayca farklı tekniklerle sentezlenebilmeleri ve kolay teknolojilerle (spin kaplama, spre yöntemi gibi) malzeme üretimine olanak sağlamalarıdır. Bu durum, organik yarıiletken malzemelerin üretimi esnasındaki AR-GE çalışmalarında hem zaman hem de üretim maliyeti açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Diğer yandan, farklı özelliklerdeki organik yarıiletkenlerin üretilmesinde moleküler ağırlıkları, yasak enerji aralıkları, moleküler orbital enerji seviyeleri, yapısal özellikleri ve katkılanmaları gibi malzemeye ait birçok özellik ve parametreleri değiştirilebilmektedir [3,4]. Böylece, farklı ve gelişmiş özellikteki organik yarıiletken malzemeler kolay ve ucuz maliyetli üretilebilmektedir. Organik malzemelerin belirtilen avantajları dolayısıyla günümüz optoelektronik ve elektronik teknolojisinde kullanımı ve araştırmaları hızla artış göstermektedir. Günümüzde organik malzemelerle üretilen aygıtların başında organik ışık yayan diyot (OLED), organik alan etkili transistör (OFET), organik fotodiyot (OPD), organik fotovoltaiik (OPV) ve Schottky bariyer diyotdur (SBD) [3].

Günümüzde elektronik cihazlarda en çok kullanılan aygıtlardan biri diyotlardır. SBD'lar ise diğer tüm diyotlar arasında gösterdikleri performans ve yüksek frekans değerleri altında da çalışabilme özelliğinden dolayı büyük önem taşımaktadırlar [5]. Yüksek frekans değerleri altında, diyotlar üzerlerine uygulanan gerilim değişimlerine karşılık verememektedirler. Yani iletim halinden yalıtım haline ya da tam tersi geçiş yapamamaktadırlar. SBD'ler ise yüksek frekans değerlerinde dahi bu değişimlere çok hızlı karşılık verebilmektedirler. SBD'leri diğer diyotlardan ayıran diğer bir özellik ise daha düşük ileri besleme gerilimi ile çok daha hızlı bir şekilde iletim haline geçebilmeleridir. Ayrıca azınlık yük taşıyıcıları daha az olduğu için sızıntı akımı da daha küçüktür. Bu sebeplerden dolayı SBD'lerin verimleri diğer diyotlara kıyasla daha fazladır. Bununla birlikte, organik teknolojinin gelişmesiyle birlikte SBD'ler de organik tabanlı malzemelerle üretilip yüksek performans gösterebilmektedirler [6].

Metal-yarıiletken (MY) kontaklar Schottky bariyer diyot yapısı oluşturmaktadır ve yarıiletken tipi ve konsantrasyonu, bant aralığı ve metalin iş fonksiyonu gibi etkiler diyotun özelliklerini belirlemektedir. Bununla birlikte, metal-yalıtkan-yarıiletken (MYY) ve metal-polimer-yarıiletken (MPY) şeklinde isimlendirilen ve metal yüzey ile yarıiletken yüzey arasına yalıtkan ya da polimer bir tabakanın yerleştirilmesiyle de SBD oluşmaktadır. Özellikle metal ile yarıiletken yüzey arasına yerleştirilen polimer tabakası ile elde edilen MPY tipi SBD'ler için deneysel ve teorik çalışmalar son zamanlarda büyük bir artış göstermektedir. [2].

MPY tipi SBD'ler yarıiletken bir alttaş üzerine çeşitli kaplama yöntemleri (spin kaplama, spreycaplama) kullanılarak polimer tabakasının kaplanması ve sonrasında oluşan yapının arka ve ön yüzüne kontakların kaplanmasıyla elde edilir (Şekil 1.1). MPY tipi SBD'lerde, metal tabaka ile yarıiletken tabaka arasına yerleştirilen yüksek dielektrik sabitine sahip polimer ile yük geçişlerinin düzenlenmesi sağlanarak daha yüksek performanslı aygıtların üretimi gerçekleştirilebilir. Arayüzey katmanı olarak yerleştirilen bu tabakaların başlıca görevi yüzey pasivasyonunu sağlamak akım-iletim mekanizmasını daha ideal hale getirmek ve sızıntı akımlarını engellemektir. MPY tip yapıların hazırlanmasında doğrultucu kontak ve omik kontak oluşturmak için uygun iş fonksiyonuna sahip metaller kullanılır. Φ_m metalin, Φ_s yarıiletkenin iş fonksiyonu olarak ifade edilirse; metal/n-tipi yarıiletken kontaklar için $\Phi_m > \Phi_s$ olması halinde doğrultucu kontak, $\Phi_s > \Phi_m$ olması halinde ise omik kontak oluşur. Benzer şekilde metal/p-tipi yarıiletken kontaklar için $\Phi_s > \Phi_m$ olması halinde doğrultucu kontak, $\Phi_m > \Phi_s$ olması halinde ise omik kontak oluşur [7-13].



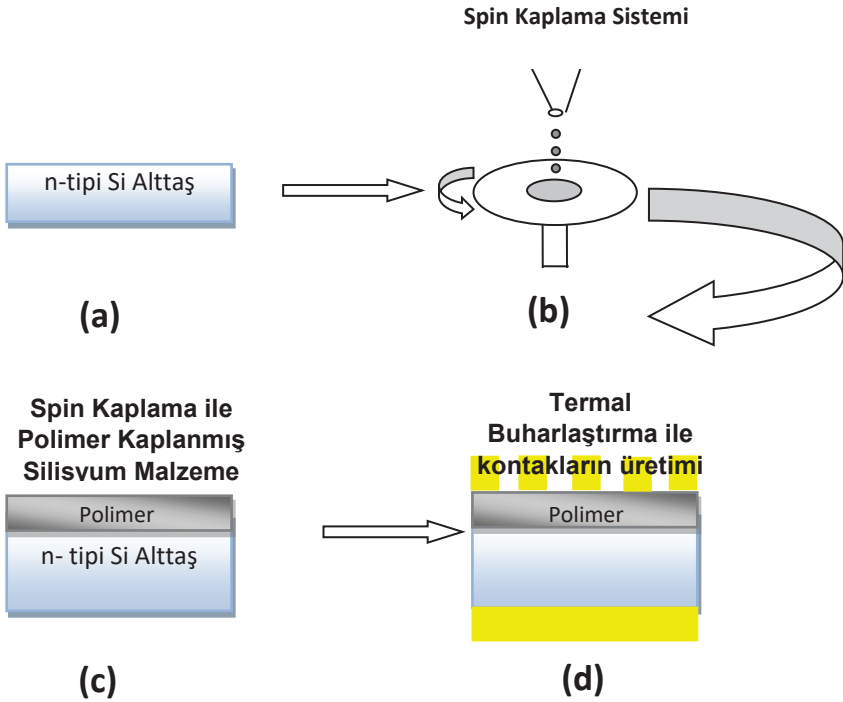
Şekil 1.1. MPY SBD'nin şematik gösterimi

Bu çalışmada, yukarıda belirtilmiş olan avantajları dolayısıyla MPY yapıdaki SBD'nin üretimi ve elektriksel karakterizasyonu üzerine araştırmalar yapılmıştır. Bu özellikleri göz önüne alınarak bu çalışmada ana malzeme olarak PCDTBT (Poly[[9-(1-octylnonyl)-9H-carbazole-2,7-diy]-

2,5-thiophenediyl-2,1,3-benzothiadiazole-4,7-diyl-2,5-thiophenediyl], Poly[N-9'-heptadecanyl-2,7-carbazole-alt-5,5-(4',7'-di-2-thienyl-2',1',3'-benzothiadiazole)] ve katkılama malzemesi olarak ise PCBM (1-[3-(Methoxycarbonyl)propyl]-1-phenyl-[6.6]C61, 3'H-Cycloproa[1,9][5,6]fullerene-C60-1h-3'-butanoic acid 3'-phenyl methyl ester) organikleri kullanılmıştır. Bu organiklerden 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranlarına sahip karışımlar yapılarak SBD üretimleri gerçekleştirilmiştir.

2. Materyal Metot

Yarıiletken malzeme olarak n-tipi katkılama özelliğine sahip silisyum (Si) kristali kullanılmıştır. Kullanılan n-tipi Si alttaşın üzerine organik polimer malzeme spin kaplama tekniği ile kaplanmıştır (Şekil 2.1). Şekilden de görüleceği üzere polimer/yarıiletken malzemenin üretiminden sonra SBD'nin elde edilebilmesi için alt ve üst metal kontaklar termal buharlaştırma sistemi kullanılarak üretilmiştir. Burada kullanılan malzemenin katkılama tipine bağlı olarak iş fonksiyonları göz önünde bulundurularak metal kontaklar için altın (Au) ve gümüş (Ag) metalleri kullanılmıştır.



Şekil 2.1. MPY SBD'nin hazırlanış işlemi aşamaları.

Kullanılan malzemelerin seçimi, daha önce güneş hücresi uygulamalarında yüksek hücre verimliliği, kolay ulaşılabilir olması ve düşük maliyet gibi etkenler göz önünde bulundurularak seçilmiştir. PCDTBT organik polimer malzemesi kullanılarak elde edilen güneş pilinin (ITO/MoO₃-Al/PCDTBT:PC₇₁BM/MoO₃/Al) enerji dönüşüm verimliliği %6,77 olarak verilmiştir [14]. PCBM organik polimer ise literatürde yapılan çalışmalardan iyi bir katkı maddesi olduğu bilindiği için tercih edilmiş olup F4-TCNQ güçlü elektron eğilimi nedeniyle polimer-katkı sistemleri için etkili bir p-tipi katkılama reaktiflerinden birisidir [15]. Polimerin iletkenliği PCBM ile artırılabilir bu da MPY SBD yapısının elektriksel parametrelerini geliştirebilir. Diğer yandan PCBM katkı konsantrasyonunun MPY SBD yapısının elektriksel özellikleri üzerine etkisini anlamak cihaz performansını denetlemek için önemlidir.

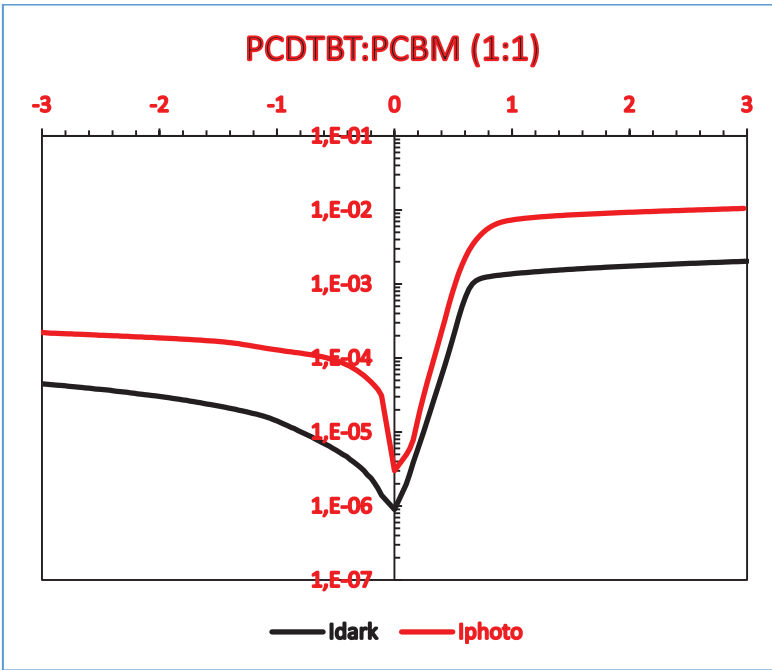
Altaş olarak kullanılan n-tipi tek kristal Si pullar <100> yönelimine sahip Czochralski (Cz) metodu ile üretilmiş malzemelerdir. SBD üretiminde kullanılan Si pulların kalınlığı $350 \pm 25\mu\text{m}$ kalınlığında ve $4,8\Omega$ özdirence sahip olacak şekilde satın alınmıştır. Si pullar elmas kesici yardımı ile boyutları $1 \times 1 \text{cm}$ olacak şekilde kare olarak kesilmiştir. Ardından temizleme işlemi gerçekleştirilen Si pulların termal kaplama cihazı ile omik kontak oluşturmak amacıyla mat tarafına yüksek saflıkta Ag kaplaması yaklaşık 2500 \AA kalınlık elde edilecek şekilde maske kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Arayüzey katmanı olarak kullanılan PCDTBT ve PCBM organik malzemeleri her biri ayrı ayrı 20mg/ml olacak şekilde klorobenzen içinde yaklaşık 3 saat süreyle 60°C sıcaklıkta karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar hacimce 1:1 ve 2:1 oranında olacak şekilde tüp içine yerleştirilerek 24 saat süreyle karıştırılmıştır. Elde edilen çözeltiler Si pulların parlak tarafına spin kaplama tekniği kullanılarak 30 saniye süreyle 1500devir/dakika hızda yaklaşık 160nm kalınlığında olacak şekilde kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Son olarak kaplanan organik yüzeylerin üstüne doğrultucu kontakların kaplanması işlemi yine termal kaplama yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Doğrultucu kontak üretimi için yüksek saflıkta Au kullanılarak yaklaşık 2500 \AA kalınlık elde edilecek şekilde kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Üretilen SBD'lerin analizleri için karanlık ve aydınlık altında gerçekleştirilen ölçümler kapalı devre kreostat içinde, $1 \times 10^{-4} \text{mbar}$ vakum altında ve -5V ile $+5\text{V}$ gerilim aralığında yapılmıştır. Işık altında yapılan ölçümler 1000W/m^2 aydınlatma altında gerçekleştirilmiştir. SBD'lerin sıcaklığa bağlı $I-V$ ölçümleri 240K - 340K aralığında 20K basamaklarla gerçekleştirilmiştir. SBD'lerin karanlık, aydınlık ve sıcaklığa bağlı $I-V$ ölçümlerinden idealite faktörleri, doyum akımları ve bariyer yükseklikleri elde edilmiştir.

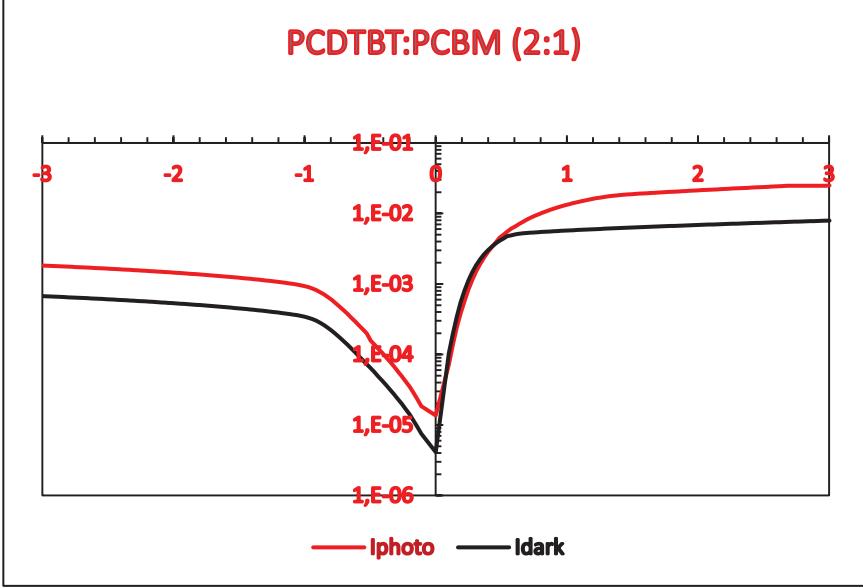
3.Bulgular ve Tartışma

Bu çalışma kapsamında 1:1 ve 2:1 katkı oranına sahip olan PCDTBT:PCBM polimer karışımı ile üretilen Schottky Bariyer diyotların ışık altında ve sıcaklığa bağlı elektriksel analizleri gerçekleştirilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen Au/PCDTBT:PCBM/n-Si heteroeklem SBD'lerin ilk olarak vakum altında karanlık ve aydınlık $I-V$ ölçümlerin oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Daha sonra SBD'lerin sıcaklığa bağlı ölçümleri yine vakum altında 240K-340K aralığında 20K basamaklarla yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda üretilen SBD'lerin karakteristiği hakkında bilgi veren temel elektriksel parametrelerin (n , I_0 , Φ_B) hesaplanması gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma kapsamında üretimi gerçekleştirilen Au/PCDTBT:PCBM/n-Si SBD'lerin karanlık ve aydınlık ölçümleri kapalı devre kreostat içinde yaklaşık 1×10^{-4} mbar basınç, -5V ile +5V gerilim aralığında karanlıkta ve 1000 W/m^2 aydınlık altında gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.1 ve 3.2'de sırasıyla 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranı kullanılarak üretilen diyotların karanlık ve aydınlık $I-V$ eğrileri verilmiştir.



Şekil 3.1. 1:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip heteroeklem SBD'nin karanlık ve aydınlık I-V karakteristiği



Şekil 3.2 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip heteroeklem SBD'nin karanlık ve aydınlık I-V karakteristiği

Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de görüldüğü üzere her iki diyotunda ışık altında hem negatif kısımda hem de pozitif kısımda akım değerlerinde artış olduğu görülmektedir. SBD'lerin üzerine ışık düşürülmesiyle birlikte daha fazla elektron-hol çiftinin oluşması sebebiyle akım değerlerinde böyle bir artış gözlenmektedir[16]. Bunun yanı sıra ışık altında iletkenlik değerlerinin artmasının başka bir sebebi de, yasak enerji aralığında bulunan tuzak seviyelerinin uyarılması sonucu yük taşıyıcıların iletme katkısıdır [17]. Aydınlatma etkisiyle her iki SBD'nin de negatif bölgedeki iletkenlik artışı daha fazladır. Aydınlatma etkisi ile birlikte oluşan yeni yük taşıyıcılarından azınlık yükleri oluşturanlar, ters besleme durumunda oluşan elektrik alanının da etkisiyle çok daha fazla katkıda bulunacaklarından negatif bölgede iletkenlik değerlerinde daha fazla bir artış gözlenmiştir. SBD'lerin ışık altında verdikleri bu tepki aynı zamanda fotodiyot özelliğine sahip olduklarının bir göstergesidir.

Üretilen SBD'lerin n idealite faktörü, Φ_B bariyer yüksekliği ve I_0 doyum akımı değerleri hesaplanmıştır. İdealite faktörleri elde edilen $I-V$ grafiklerinin lineer bölgesindeki eğimden yararlanılarak aşağıdaki eşitlik ile elde edilmiştir [3]:

$$n = \frac{q}{kT \tan \theta} \quad (3.1)$$

Bu eşitlik yardımı ile yapılan hesaplamalar doğrultusunda 1:1 PCDTBT:PCBM katkılmasına sahip diyotun idealite faktörü karanlıkta 3,14 ve ışık altında 4,65 elde edilmiştir. 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip diyotun ise karanlıkta idealite faktörü 4,35 ve ışık altında 4,70 olarak hesaplanmıştır. Her iki SBD içinde aydınlatma etkisi ile birlikte idealite faktöründe bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

Φ_B değerleri ise aşağıdaki eşitlik ile elde edilmiştir:

$$\Phi_B = \frac{kT}{q} \ln\left(\frac{AA^*T^2}{I_0}\right) \quad (3.2)$$

Yukarıdaki eşitlikte I_0 doyum akımı, $I-V$ eğrisindeki gerilim değerinin sıfır olduğu noktadaki akım değerini vermektedir. 1:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip olan SBD'nin karanlıktaki doyum akım değeri $9,91 \times 10^{-7}$ A ve aydınlıktaki değeri $2,02 \times 10^{-6}$ A olarak bulunmuştur. 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip diyotun ise karanlıktaki doyum akım değeri $6,80 \times 10^{-6}$ A, aydınlıktaki değeri $1,56 \times 10^{-5}$ A olarak elde edilmiştir. Doyum akım değerleri kullanılarak eşitlik 2.2 yardımıyla Φ_B değerleri elde edilmiştir. 1:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip diyotun karanlıktaki Φ_B değeri 0,71 eV ve ışık altındaki Φ_B değeri 0,70 eV, 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip olan diyotun karanlıktaki Φ_B değeri 0,70 eV ve ışık altındaki Φ_B değeri ise 0,69 olarak elde edilmiştir. Elde edilen tüm değerler çizelge 3.1'de verilmiştir.

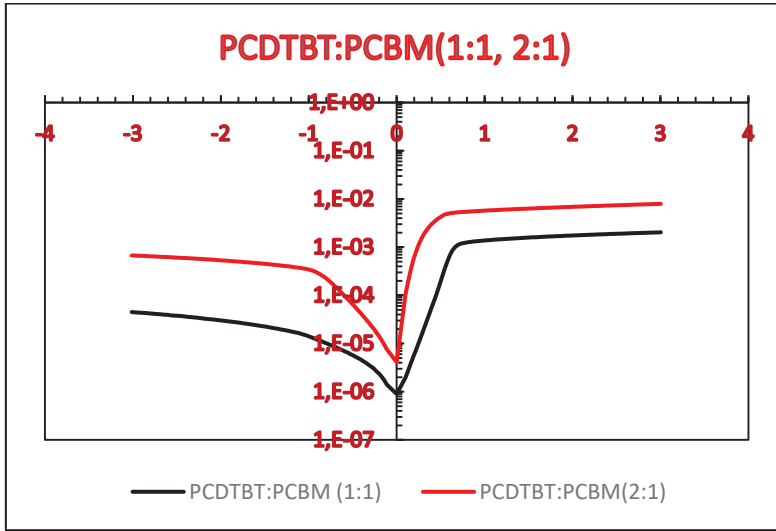
Çizelge 3.1. 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip SBD'lerin karanlık ve ışık altında elde edilen n , I_0 ve Φ_B değerleri.

	Karanlık			Aydınlık		
	n	$I_0(A)$	$\Phi_B(eV)$	n	$I_0(A)$	$\Phi_B(eV)$
1:1 PCDTBT:PCBM	3,14	$9,91 \times 10^{-7}$	0,71	4,65	$2,02 \times 10^{-6}$	0,70
2:1 PCDTBT:PCBM	4,35	$6,80 \times 10^{-6}$	0,70	4,70	$1,56 \times 10^{-5}$	0,69

Çizelge 3.1'den görüldüğü üzere her iki SBD için de aydınlatma etkisiyle idealite faktörleri ve doyum akımlarında artış gözlemlenirken Φ_B değerlerinde çok az bir miktar azalma gözlenmektedir. Doyum akımlarının artmasının sebebi, ışık etkisiyle daha fazla yük taşıyıcısının üretilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu artışla birlikte kuantum tünelleme mekanizması kaynaklı olarak akıma daha fazla yük taşıyıcısının dahil olmasıyla diyotların ideallikten uzaklaşmasına ve dolayısıyla idealite faktörlerinde bir artışa sebep olacaktır. Bunun yanı sıra aydınlatma

etkisiyle yük taşıyıcılar daha fazla enerjiye sahip olacaklarından daha düşük bir potansiyel engel ile karşılaşacaklardır. Gözlemlenen bu durum ise yapı içinde aydınlatma etkisiyle yük taşıyıcıların yeniden yapılanması, arayüzey durum yoğunluğu ve bariyer yüksekliğinin homojen olmayan dağılımından kaynaklanmaktadır[1,18].

Şekil 3.3'te 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip olan SBD'lerin 300K sıcaklığında elde edilen akım gerilim eğrileri verilmiştir.



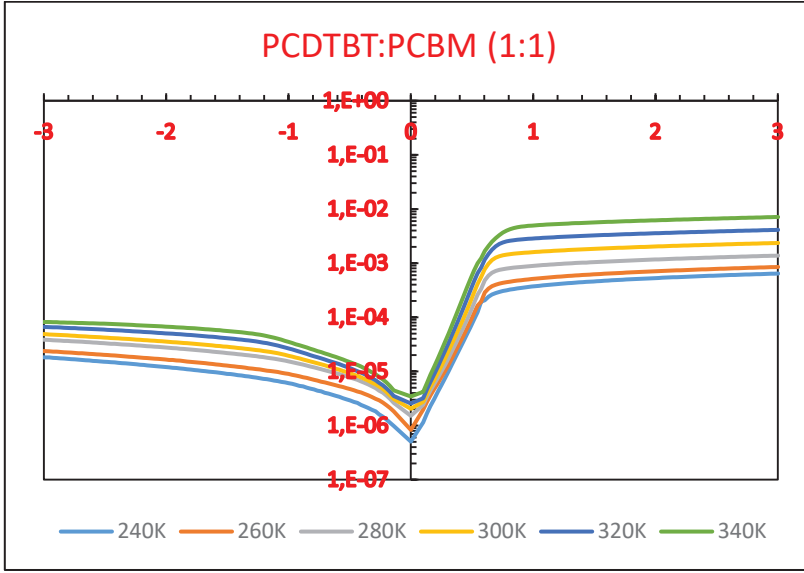
Şekil 3.3. 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip SBD'lerin 300K'deki karanlık $I-V$ eğrileri.

Yukarıda ifade edildiği üzere 1:1 katkı oranına sahip olan PCDTBT:PCBM SBD'nin idealite faktörü 3,14 ve 2:1 katkı oranına sahip SBD'nin idealite faktörü ise 4,34 olarak elde edilmiştir. Bu durumun sebebi olarak PCBM katkılanması ile birlikte yapı içinde bulunan çatlak ve kusurların azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. PCBM katkısının artmasıyla birlikte malzemede kusurların daha fazla pasivize olduğu ve dolayısıyla sızıntı akımında da kayda değer bir azalmanın olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, PCBM oranındaki azalış ile birlikte idealite faktöründeki artış ise homojen olmayan bariyer yüksekliği, rekombinasyon mekanizması, tünelleme mekanizması ve artan arayüzey durum yoğunluğu kaynaklıdır [18-19].

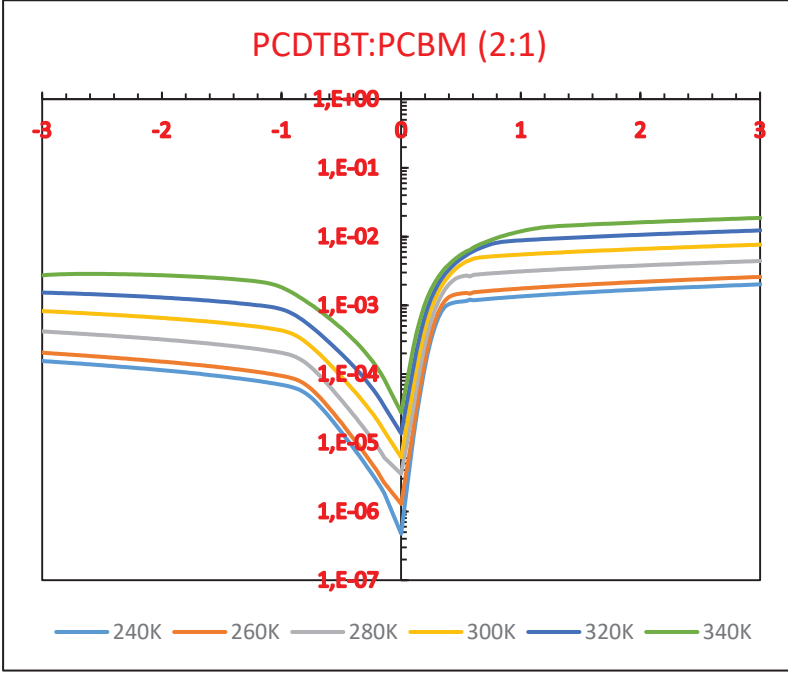
Her iki SBD için de ileri besleme akım değerinin ters besleme akım değerine oranı kullanılarak doğrultma oranları (RR) hesaplanmıştır. +3V ve -3V gerilimlerinde akım değerlerinin birbirlerine oranları kullanılarak 1:1 PCDTBT:PCBM katkılanmasına sahip SBD'nin

doğrultma oranı $4,51 \times 10^1$ ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkılmasına sahip SBD'nin doğrultma oranı $1,17 \times 10^1$ olarak elde edilmiştir. Yani PCBM katkısının artmasıyla birlikte doğrultma oranı yaklaşık olarak 4 kat artış göstermektedir.

Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te sırası ile 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranı kullanılarak üretilen SBD'lerin 240K-340K sıcaklık aralığındaki $I-V$ eğrileri verilmiştir.



Şekil 3.4. 1:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip heteroeklem SBD'nin sıcaklığa bağlı $I-V$ karakteristiği



Şekil 3.5. 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip heteroeklem SBD'nin sıcaklığa bağlı I - V karakteristiği

240K ile 340K sıcaklık aralığında her iki SBD için de 20K aralıklarla elde edilen I - V eğrileri kullanılarak idealite faktörleri, bariyer yükseklikleri ve doyum akımları elde edilmiştir. Elden edilen değerler çizelge 3.2 ve çizelge 3.3'de verilmiştir.

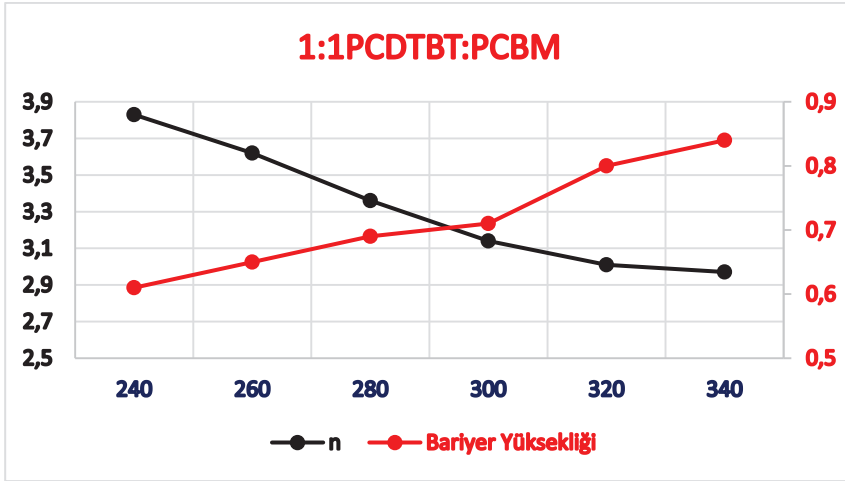
Çizelge 3.2. 1:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip diyotun sıcaklığa bağlı I - V eğrilerinden elde edilen değerler.

1:1 PCDTBT:PCBM	240K	260K	280K	300K	320K	340K
n	3,83	3,62	3,36	3,14	3,01	2,97
$I_0(A)$	$4,51 \times 10^{-7}$	$7,82 \times 10^{-7}$	$8,66 \times 10^{-7}$	$9,91 \times 10^{-7}$	$1,19 \times 10^{-6}$	$2,36 \times 10^{-6}$
$\phi_B(eV)$	0,61	0,65	0,69	0,71	0,80	0,84

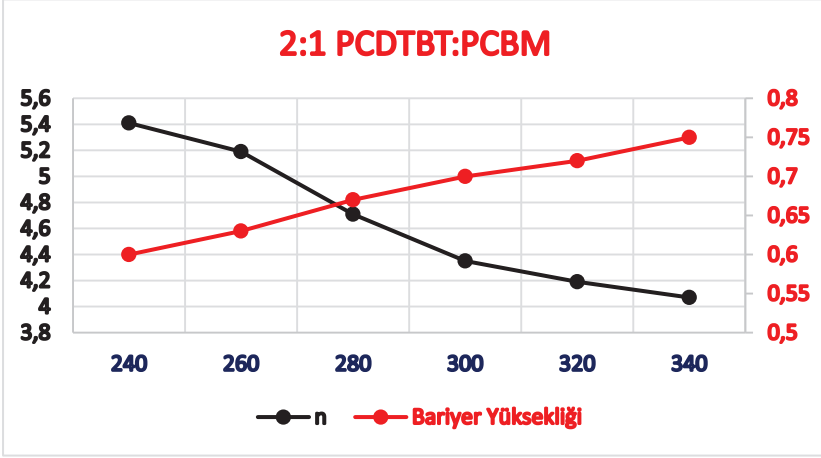
Çizelge 3.3. 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip diyotun sıcaklığa bağlı I - V eğrilerinden elde edilen değerler.

2:1 PCDTBT:PCBM	240K	260K	280K	300K	320K	340K
n	5,41	5,19	4,71	4,35	4,19	4,07
$I_0(A)$	$9,08 \times 10^{-7}$	$1,57 \times 10^{-6}$	$3,92 \times 10^{-6}$	$6,80 \times 10^{-6}$	$2,46 \times 10^{-5}$	$6,27 \times 10^{-5}$
$\phi_B(eV)$	0,60	0,63	0,67	0,70	0,72	0,75

Çizelge 3.2 ve 3.3'teki veriler incelendiğinde farklı PCBM katkı oranına sahip iki SBD için de geçerli olmak üzere sıcaklığın artmasıyla birlikte idealite faktörlerinde azalma gözlemlenirken bariyer yüksekliği ve doyma akımlarında bir artış görülmektedir. 1:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip SBD'nin idealite faktörü 3,83'den 2,97 değerine, bariyer yüksekliği 0,61eV'dan 0,84eV değerine ve doyma akımı $4,51 \times 10^{-7} \text{A}$ 'den $2,36 \times 10^{-6} \text{A}$ değerine değişim göstermektedir. 2:1 PCDTBT:PCBM katkılı SBD'de ise idealite faktörü 5,41'den 4,07 değerine, bariyer yüksekliği 0,60'dan 0,75 değerine ve doyma akımı ise $9,08 \times 10^{-7} \text{A}$ 'den $6,27 \times 10^{-5} \text{A}$ değerine değişmektedir. Şekil 3.6 ve Şekil 3.7'de sırasıyla 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip olan SBD'lerin sıcaklık değişimine bağlı idealite faktörü ve bariyer yükseklikleri değişim grafikleri verilmiştir.



Şekil 3.6. 1:1 PCDTBT:PCBM katkı oranı kullanılarak üretilen diyotun sıcaklığa bağlı idealite faktörü ve bariyer yüksekliği değişimi.



Şekil 3.7. 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranı kullanılarak üretilen diyotun sıcaklığa bağlı idealite faktörü ve bariyer yüksekliği değişimi.

Sıcaklık değerlerinin artmasıyla birlikte iki diyotunda idealite faktörlerinde azalma gözlemlenirken bariyer yükseklikleri artmakta olup literatür ile oldukça uyumlu bulunmuştur [19,20]. Sıcaklığa bağlı olarak SBD'lerin göstermiş olduğu bu davranış, akım iletim mekanizmasında tek etkenin termiyonik emisyon olmadığına bir göstergesidir. Düşük sıcaklık değerlerinde yük taşıyıcıların sahip olacakları enerji değerleri daha az olacağı için aşabilecekleri maksimum bariyer engeli de daha düşük olacaktır. Ortaya çıkan bu durumda akım, bariyer yüksekliklerinin lokal bölgelerinde baskın hale gelecektir ve idealite faktöründe artışa neden olacaktır. Ayrıca elektronların yeterli enerjiye sahip olamamalarından dolayı rekombinasyon azalacak ve akım değerleri de azalacaktır [19,20]. Sıcaklığın artmasıyla birlikte ise yük taşıyıcıları çok daha fazla enerjiye sahip olacaklar ve aşabilecekleri bariyer yüksekliği de bununla orantılı olarak artış gösterecektir.

4. Sonuçlar

Bu çalışma kapsamında 1:1 ve 2:1 PCDTBT:PCBM katkı oranına sahip Au/PCDTBT:PCBM/n-Si SBD'lerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen SBD'lerin önce kapalı devre kriostat içinde 1×10^{-4} mbar vakumda karanlık ve ışık altında (1000 W/m^2) -5V ile +5V gerilim aralığında akım-gerilim ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra yine vakum içinde 240K ile 340K sıcaklık ve yine -5V ile +5V gerilim aralığında sıcaklığa bağlı ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Karanlıkta ve ışık altında yapılan deneyler sonucunda her iki SBD için de ışık ile hem geri besleme hem de ileri besleme durumundaki

akım değerlerinde artış olduğu görülmüştür. Aydınlatma etkisi ile birlikte daha fazla elektron-hol çiftinin oluşması, yasak enerji aralığında bulunan yük taşıyıcılarının da ilettime katılması ve ışık ile birlikte diyotlardaki seri direncin azalması gibi sebeplerle akım artışı açıklanabilir. PCBM miktarı daha fazla olan SBD'nin idealite faktörünün daha düşük olduğu ve doğrultma oranının (RR) daha yüksek olduğu elde edilmiştir. Bu durum PCBM miktarının artması ile birlikte yapı içindeki kusurların pasive edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sıcaklığa bağlı gerçekleştirilen ölçümlerden elde edilen sonuçlara göre her iki SBD için de sıcaklığın artışıyla birlikte hem geri besleme hem de ileri besleme durumundaki akım değerlerinin arttığı görülmüştür. Bunun yanı sıra sıcaklığın artmasıyla birlikte her iki SBD'nin idealite faktörlerinde azalma gözlemlenirken bariyer yüksekliklerinde bir artış olduğu elde edilmiştir. Bu durumun sebebi ise düşük sıcaklıklarda yük taşıyıcılarının enerjileri daha az olacaklarından aşabilecekleri engel seviyesinin de daha az olmasıdır ve diyotların ideallikten sapmalarına sebep olacaktır.

Sonuç olarak SBD üretiminde aktif katman içinde yer alan PCBM miktarının artması ile birlikte daha ideal davranışlar elde edilmiştir.

5. Teşekkür

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: BAP 2018.05.02.721).

KAYNAKLAR

- [1] Sze S.M., Ng K.K., “Physics of Semiconductor Devices”, 3rd Ed., John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey (2007).
- [2] Gaojie Lu, “Organic semiconductor”, *University of Rochester* (2006).
- [3] Tüzün Özmen Ö., “Effects of PCBM concentration on the electrical properties of the Au/P3HT:PCBM/n-Si (MPS) Schottky barrier diodes”, *Microelectronics Reliability*, **54** (2014) 2766–2774.
- [4] So F., “Organic Electronics; Materials, Processing, Devices and Applications”, *CRC Press, Boca Raton*. (2010).
- [5] R. Hackam, P. Piarrop., “Electrical Properties of Nickel-LowDoped n-Type Gallium Arsenide Schottky-Barrier Diodes”, *IEEE Transactions On Electron Devices*, ED-19, No. 12 (1972) 1231-1238
- [6] S. Demirezen, Z. Sönmez, U. Aydemir, S. Altındal.,” Effect of series resistance and interface states on the IeV, CeV and G/ueV characteristics in Au/Bi-doped polyvinyl alcohol (PVA)/n-Si Schottky barrier diodes at room temperature”, *Current Applied Physics*, 12 (2012) 266-272.
- [7] Li S.S., “Semiconductor Physical Electronics”, 2nd Ed., Springer, (2006)
- [8] Rhoderick E.H., Williams R.H., “Surfaces, Interfaces and Schottky Barriers, Metal-Semiconductor Contacts”, 2nd Ed., *Clarendon Press, Oxford*, (1988).
- [9] Wilson A. H., *Proc. R. Soc. Lond. A*, 133 (1931) 458.
- [10] Sharma B.L., “Metal-Semiconductor Contacts Schottky Barrier Junctions and Their Applications”, *Plenum Press, New York and London*, (1984).
- [11] Özdemir A.F., Aldemir D.A., Kökçe A., Altındal S., *Synthetic Metals*, 159 (2009) 1427.
- [12] Demirezen S., Altındal Ş., *Current Applied Physics*, 10 (2010) 1188.
- [13] Rhoderick E.H., Williams R.H., “Metal-Semiconductor Contacts”, 2nd Ed., *Oxford University Press, Oxford*, (1988).
- [14] Liu J., Shao S., Fang G., Meng B., Xie Z., Wang L.,” High-Efficiency Inverted Polymer Solar Cells with Transparent and Work-Function Tunable MoO₃-Al Composite Film as Cathode Buffer Layer”, *Adv. Mater.* 24 (2012), 2774–2779.
- [15] Han X., Wu Z., Sun B., *Organic Electronics*, 14 (2013) 1116.
- [16] İ. Taşçıoğlu, U. Aydemir, Ş. Altındal ve T. Tunç, “Illumination dependent admittance characteristics of Au/Zinc Acetate doped Polyvinyl Alcohol (PVA: Zn)/n-Si Schottky Barrier Diodes (SBDs)”, *International Congress On Advances In Applied Physics and Materials Science*, c. 1400, ss. 307-311, 2011.
- [17] S. Alialy, H. Tecimer, H. Uslu ve Ş. Altındal, “A comparative study on electrical characteristics of Au/n-Si Schottky Diodes with and without Bi-doped PVA interfacial layer in dark and under illumination at room temperature”, *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, c. 4, sayı. 3, 1000167, 2013.
- [18] S. Altındal Yerişkin, H. Uslu, T. Tunç ve Ş. Altındal, “Illumination effect on admittance measurements of Polyvinyl Alcohol (Co, Zn - Doped)/n - Si Schottky Barrier Diodes in wide frequency and applied bias voltage range”,

International Advances in Applied Physics and Materials Science Congress & Exhibition, 2011, c.1400, ss. 541-545.

[19] H.C Card ve E.H. Rhoderick, “Studies of tunnel MOS diodes I. Interface effects in silicon Schottky diodes”, *Journal of Physics D: Applied Physics*, c. 4, ss.1589-1601, 1971.

[20] R.T. Tung, “Comment on Numerical study of electrical transport in homogeneous Schottky diodes” *Journal of Applied Physics*, c. 88, sayı 3, ss. 7366-7368, 2000.

[21] M. K. Hudait, P. Venkateswarlu ve S. B. Krupanidhi, “Electrical transport characteristics of Au/n-GaAs Schottky diodes on n-Ge at low temperatures”, *Solid-State Electron*, c. 45, sayı 1, ss. 133-141, 2001.

BÖLÜM 12

TARİHLENDİRME YÖNTEMLERİ

*Ülkü SAYIN¹, Mustafa TOPAKSU²,
Mehmet YÜKSEL³, Ayhan ÖZMEN⁴,
Hamide AVCI⁵, Emel ECE⁶*

1 Prof.Dr., Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü Atom ve Molekül Fiziği ABD, ulkusayin@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5098-1578>

2 Prof.Dr., Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü Nükleer Fizik ABD, mats@cu.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0231-6818>

3 Doç.Dr., Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü Nükleer Fizik ABD, myuksel@cu.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9921-3756>

4 Prof.Dr., Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü Atom ve Molekül Fiziği ABD, ayhanozmen61@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0370-9915>

5 Dr., Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü Nükleer Fizik ABD, himalavci@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2097-6054>

6 Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kâmil Özdağ Fen Fakültesi Genel Fizik ABD, benemeleceyim@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5954-3689>

Giriş

İnsanlar için geçmiş olayların gerçekleşme zamanı ve nesnelere yaşı her zaman merak konusu olmuştur. Yaşamı birçok yönden etkileyen olaylar ve nesnelere ait bu tarihler, milyar yılları bulabileceği gibi çok kısa da olabilir. Bu konuda yapılan çalışmalar ve elde edilen bilgiler, birçok olayın anlaşılmasına ve çözümlenmesine yardımcı olurken bilimin gelişmesine de önemli katkılar sağlamıştır. Geçmişini aydınlatan ve çok sayıda bilim dalının en önemli dayanağı olan çalışmalara “tarihlendirme” denir. Bu amaçla, farklı hassasiyet ve kabiliyetlere sahip çeşitli tarihlendirme yöntemleri kullanılmakta olup, daha hassas yaş değerleri elde etmek amacıyla da geliştirilmektedir. Tarihlendirme için materyalin bulunma ve elde edilebilme imkanının yanında, zaman aralığı, hata payı, ölçüm ve hesaplama süreleri ile maliyet gibi faktörler de oldukça önemlidir. Dolayısıyla en uygun tarihlendirme yöntemi, tüm bu faktörlerin bir değerlendirilmesi sonucunda seçilir. Tarihlendirme yöntemleri adli bilimlerde de birçok olayın aydınlatılması amacıyla kullanılmakta ve önemli bilgiler sağlamaktadır. Bu kitap bölümünde, yaygın olarak kullanılan bazı tarihlendirme yöntemlerinin fiziksel prensipleri ve uygulama alanları özetlenerek verilmiştir.

1. Radyoaktif Çekirdek Bozunumuna Dayalı Olarak Geliştirilen Tarihlendirme Yöntemleri

Radyoaktivite; kararsız bir atom çekirdeğinin alfa (α), beta (β) parçacıkları ve gama (γ) ışınları şeklinde radyasyon yayarak enerji kaybettiği süreç olarak tanımlanır. Radyoaktif bir çekirdeğin zamanla bozunma hızı (aktiflik) üstel kanuna uyar. Radyoaktivite rastgele bir süreçtir dolayısıyla kararsız bir çekirdeğin ne zaman bozunacağı tam olarak bilinemez, ancak birim zamandaki bozunma olasılığı yani bozunma sabiti, λ , belirlenebilir. Eğer bir numunede N tane radyoaktif çekirdek varsa, radyoaktif çekirdeğin bozunma hızı yani aktifliği, A , aşağıdaki denklemle verilir.

$$A = -\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (1)$$

Çekirdek birkaç farklı son duruma bozunuyorsa, yani farklı bozunma dallarına sahipse, λ tüm bozunma dallarının olasılıklarının toplamıdır. Denk. (1)'in integrali alınarak aşağıdaki üstel radyoaktif bozunma kanunu elde edilir.

$$N(t) = N_0 e^{-\lambda t} \quad (2)$$

Burada N_0 , $t=0$ anındaki bozunmamış ana çekirdeklerin sayısıdır. Ana çekirdeklerin yarısının bozunması için geçen süre yarı ömür, $T_{1/2}$, olarak tanımlanır ve Denk. (2)'de $N=N_0/2$ yazılarak, $T_{1/2}=\ln 2/\lambda$ elde edilebilir. Tarihlendirmede kullanılacak radyoaktif çekirdeğin yarı ömrü, tarihlendirilecek zaman aralığının sınırlarını belirleyen en önemli parametredir. Ana ve ürün çekirdeklerin şimdiki anda (t_1) gözlenen bağlı sayısı, başlangıç anında (t_0) sadece ana çekirdeklerin olduğu gerçeği ve ana çekirdeğin ürün çekirdeğe bozunum süreci dikkate alınarak aşağıdaki denklemler yardımı ile materyalin yaşı hakkında bilgi edinilebilir.

$$N_{\bar{U}}(t_1) + N_A(t_1) = N_A(t_0) \quad (3)$$

$$N_A(t_1) = N_A(t_0)e^{-\lambda(t_1-t_0)} \quad (4)$$

$$\Delta t \equiv t_1 - t_0 = \frac{1}{\lambda} \ln \frac{N_A(t_0)}{N_A(t_1)} \quad \text{ve} \quad \Delta t = \frac{1}{\lambda} \left(1 + \frac{N_{\bar{U}}(t_1)}{N_A(t_1)} \right) \quad (5)$$

Burada; N_A ana çekirdek sayısını, $N_{\bar{U}}$ ise ürün çekirdek sayısını temsil etmektedir. Denk. (5) ifadesinde λ ve ürün çekirdeklerin ana çekirdeklere şimdiki oranlarının verilmesiyle numunenin yaşı doğrudan bulunabilir. Elde edilen sonucun kesinliği λ ile ilgili bilgimize, N_A ve $N_{\bar{U}}$ 'nün sayma istatistiğine bağlıdır.

1.1. Radyokarbon (^{14}C) Yöntemi

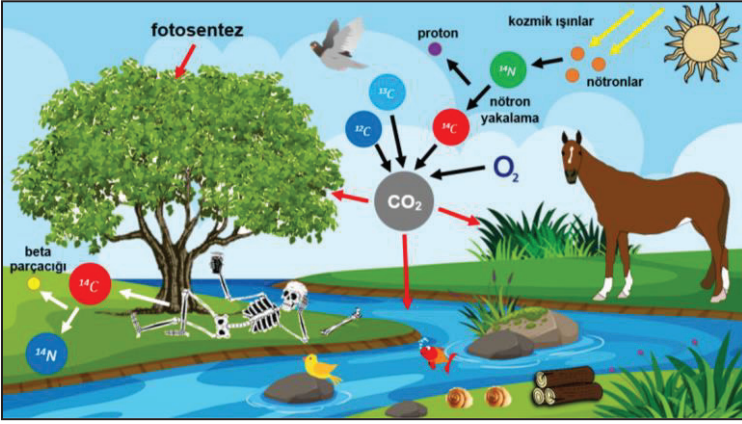
Karbon içeren malzemelerin yaşını belirlemek için kullanılan radyokarbon (^{14}C) yöntemi, 2. Dünya Savaşı'nı izleyen yıllarda W.F. Libby (1908-1980) ve çalışma arkadaşları tarafından bulunmuştur (Arnold ve Libby, 1949). Libby bu önemli buluşuyla 1960 yılı Nobel Kimya Ödülü'nü almıştır. Bu yöntem, tarihlendirme çalışmalarında 1950 yılından günümüze kadar arkeoloji, jeoloji ve antropoloji gibi bilim dallarında başarıyla kullanılmaktadır.

Doğada karbonun üç izotopu (^{12}C , ^{13}C ve ^{14}C) bulunmakta olup, tüm karbon atomlarının %98.9'u ^{12}C , %1.1'i ^{13}C ve bir trilyon karbon atomundan yalnızca biri ^{14}C 'tür. Bu izotoplardan ^{14}C kararsızdır ve β^- parçacıklarının yayınımlı yoluyla azot atomunun kararlı izotopu olan ^{14}N 'ye dönüşür. ^{14}C izotopuna "radyokarbon" denilmesinin sebebi de bu kararsızlık yani radyoaktivite durumudur (Walker, 2005).

Yöntemin temeli, uzaydan gelen termal nötronların atmosferdeki azot atomlarıyla nükleer reaksiyonu sonucunda karbonun radyoaktif izotopu olan ^{14}C oluşmasına dayanır. Bu radyoaktif karbon diğer karbon izotoplarıyla (^{12}C , ^{13}C) birlikte atmosferdeki oksijenle birleşerek CO_2 gazını oluşturur ve atmosfere dağılır. Bu gazın önemli bir kısmı karbonat çözeltilisi olarak deniz, göl ve nehirlerle de geçer. Havadaki CO_2 gazı fotosentez yoluyla bitkilere, karbonat çözeltileri vasıtasıyla sularda yaşayan canlıların kabuklarına geçer. Dolayısıyla, besin zinciri yoluyla az

miktarda da olsa bütün canlı organizmalarda ^{14}C mevcuttur. Şekil 1’de ^{14}C izotopunun bahsedilen bu döngüsü verilmiştir.

Bütün canlı organizmalar, karbondioksit biçiminde atmosferle sürekli olarak karbon değiş tokuşu yaptıkları için, yaşamları süresince ^{14}C ’nin ^{12}C ’ye oranı atmosferdeki değerle ($^{14}\text{C}/^{12}\text{C} \cong 1.3 \times 10^{-12}$) aynı kalır. Ancak canlılar öldüğünde bu geçiş durur ve ölümden sonra radyoaktif olan ^{14}C betalar yayarak bozunmaya başlar. Böylece organizmadaki ^{14}C yoğunluğu ve beta aktivitesi zamanla azalır. İşte bu aktivite ya da yoğunluk ölçülerek canlının ne kadar zaman önce öldüğü belirlenebilir (Taylor, 1987; Walker, 2005).



Şekil 1. ^{14}C izotopunun döngüsü.

^{14}C ’nin yarı ömrü ($T_{1/2}$), 5730 yıl değerindedir. Yani canlının ölümü sonrasında organizmada bulunan ^{14}C miktarı bu süre sonrasında yarıya düşecektir. ^{14}C ’deki bu azalma, başlangıç miktarının bilindiği varsayılarak geçen zamanı ölçmek için bir “saat” olarak kullanılabilir. ^{14}C ’nin bir beta (hızlı elektron) yayarak tekrar ^{14}N ’ye bozunması üstel bir fonksiyona uyar. Dolayısıyla, tarihlendirilmek istenen canlı fosilinin yapısındaki ^{14}C miktarının (veya aktivitesinin) başlangıçtaki (N_0) ve şu andaki değerleri ($N(t)$) Denk. (2) ifadesinde kullanılarak organizmanın yaşı aşağıdaki ifadede elde edilebilir (Aitken, 1990).

$$t = 8267 \ln \left(\frac{N_0}{N(t)} \right) \quad (6)$$

Organizmanın yaşı ($N_0/N(t)$)’nin doğal logaritması ile doğru orantılıdır. Dolayısıyla bu orantı ne kadar büyükse organizmanın yaşı da o kadar büyük olacaktır. Tarihlendirmede günümüzden önce (Before Present; BP) kısaltması kullanılmaktadır. Günümüz “1950” olarak alınmaktadır.

Tarihlendirilecek numunenin radyokarbon yaşının belirlenebilmesi için iki önemli husus vardır. İlk husus, canlının öldüğü zaman sahip

olduğu ^{14}C yoğunluğunun ya da aktivitesinin bilinmesi gereklidir ve bu doğrudan ölçülemez. ^{14}C aktivitesi, dolaylı yoldan canlının öldüğü zamandan bu yana atmosferde ve sulara ^{14}C yoğunluğunun değişmediği kabul edilerek günümüz canlılarından (*modern canlı*) ölçülebilir. Ancak her araştırmacının kendi seçtiği bir modern canlıdan N_0 kullanması yerine, laboratuvarlar arasında bir standart sağlamak amacıyla, Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (National Institute of Standards and Technology, NIST) tarafından 1955 yılında şeker pancarından standart “oksalik asit I” maddesi üretilmiş ve ilgili laboratuvarlara dağıtılmıştır. Daha sonra üretilen bu madde tükenince 1997 yılında yine pancar şirasından üretilen “oksalik asit II” maddesinin ^{14}C aktivitesi N_0 için standart olarak kabul edilmiş ve radyokarbon yöntemi kullanarak tarihlendirme çalışmaları yapan laboratuvarlara dağıtılmıştır. Günümüzde bu alanda çalışan tüm laboratuvarlar radyokarbon yaşlarını bu iki standarttan birine göre hesaplayarak vermektedirler. İkinci husus ise; tarihlendirilecek örnekteki ^{14}C izotopunun miktarı yani $N(t)$, betaları sayarak veya yoğunluğu ölçülerek belirlenmelidir. 1980’li yıllara kadar ^{14}C bozunması sonucunda çıkan beta parçacıklarını sayarak izotop miktarı belirlenmiştir. Bu teknikle çalışılabilmesi için hem çok miktarda (gram mertebesinde) örneğe ihtiyaç duyulmakta hem de sayma hassasiyeti nedeniyle 30 bin yıl yaşlarına kadar tarihlendirme yapılabilmektedir. 1980’lerden sonra hızlandırılmış kütle spektrometrelerinin (Accelerator Mass Spectrometry; AMS) gelişmesiyle miligram miktarındaki örneklerden ^{14}C izotopu doğrudan çok daha hassas bir şekilde ölçülmüş, böylece tarihlendirmenin üst sınırı 50 bin yıl değerlerine kadar çıkarılmıştır. AMS tekniğinin başka bir üstün tarafı da aynı anda radyoaktif olmayan ^{13}C izotopu ölçülerek yaşlarda düzeltmeler yapılmasını sağlamasıdır (Mahaney, 1984).

Sonuç olarak, bu yöntemde ^{14}C izotopunun radyoaktif olarak bozunması ve atmosferdeki izotop dengesi durumları göz önüne alınarak örneklerin yaş belirlemeleri yapılmaktadır. Ancak yanardağ patlaması ya da Güneş’teki patlamalar gibi bazı doğa olaylarının yanı sıra kömür, petrol, doğalgaz gibi yakıtların kullanımı ya da nükleer silah denemeleri gibi insan faaliyetleri neticesinde bu denge değişmektedir. Bu nedenle radyokarbon tarihlendirmede bazı kabuller ve düzeltmeler yapılmıştır. Bu kabuller ve düzeltmeler aşağıda verilmiştir (Mahaney, 1984; Walker, 2005; Bradley, 2015):

1) Libby yaptığı çalışmalarda ^{14}C yarı ömrünü, $T_{1/2}$, 5568 yıl ve ortalama ömrünü, $T_{1/2}/\ln 2$, 8033 yıl olarak ölçmüştür (Libby, 1955). Libby’nin hesapladığı yarı ömre göre hesaplanan yaşlara “*konvansiyonel radyokarbon yaşı*” denir. Daha sonra yapılan hassas deneylerde yarı ömür 5730 yıl ve ortalama ömür 8267 yıl olarak ölçülmüştür. Yeni yarı

ömre göre yaşı belirlemek istersek konvansiyonel yaşı $5730/5568=1.03$ ile çarpılmalıdır.

2) Aynı ortamda bulunan iki canlı bünyesine karbon elementinin üç izotopunu (^{12}C , ^{13}C , ^{14}C) aynı oranda almazlar yani izotop seçicilikleri aynı değildir. Bunun sonucunda her canlı başlangıçta bünyesine farklı yoğunlukta ^{14}C alacaktır. Bu nedenle radyoaktif olmayan ^{13}C miktarı ölçülerek değişmez olan $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ oranından hareketle ^{14}C yoğunluğunda gerekli düzeltmeler yapılmalıdır.

3) Radyokarbon tarihlendirme yönteminde en önemli konu kirlenmedir. Kirlenme, örneğe daha genç ya da daha yaşlı bir malzemenin karışması nedeniyle hesaplanan yaşlarda meydana gelen sapmalar olarak ifade edilir. Bitki kökleri, küf ve mantarlar veya paketleme malzemeleri gibi kirlenme durumları örneğin daha genç, yer altı sularının karışması gibi kirlenme durumları ise örneğin daha yaşlı görünmesine sebep olacaktır. Tarihlendirme çalışmalarında bu durumlar dikkate alınmalıdır.

Fosilin tarihi süresince atmosferde ve sulardaki ^{14}C miktarının değişmediği, yani canlı öldüğü zamanki N_0 değerinin günümüz canlılarındaki ile aynı olduğu kabul edilir. Bu kabul yaş belirlemelerinde hatalara sebep olmaktadır. Yerin manyetik alanının değişimi dolayısıyla kozmik ışınlar saptırılmakta ve atmosfere girememesinden dolayı yaklaşık 9-10 bin yıl periyotla atmosferde ve sulardaki ^{14}C miktarı harmonik olarak dalgalanmaktadır. Ayrıca, Güneş'teki manyetik fırtınalar ^{14}C miktarında değişimlere neden olmakta ve bunun sonucunda yaşlarda 0.5 bin yıl değerinden daha az olmak üzere sapmalara neden olmaktadır. ^{14}C üretimindeki bu değişkenlik *de Vries Etkisi* olarak bilinir. *Suess Etkisi* olarak tanımlanan bir başka etken ise 1900'lü yıllardan sonra endüstri devrimi ve fosil yakıtlar nedeniyle ortamdaki ^{14}C miktarının bağıl olarak azalmasıdır. 1950'lerden sonra atılan atom bombaları ve yapılan atom bombası denemeleri atmosferdeki ^{14}C miktarlarında önemli artışlara neden olmuştur, bu etki de literatürde *Bomba etkisi* olarak yer almaktadır. Araştırmacılar, yukarıda bahsedilen etkilere bağlı olarak son 11 bin yıl içinde atmosferde ve sulardaki ^{14}C yoğunluğunun değişimi hakkında ayrıntılı bilgiler elde etmiştir. Bir ağaç halkasının Dendrokronolojik yöntemlerle elde edilen yaşı ile radyokarbon yaşı arasındaki fark incelenmiş ve son 8 bin yıl için kıyaslamalar yapılarak bir karşılaştırma eğrisi oluşturulmuştur. Bu düzeltmeleri yapan programlar (CalPal, 2021; Oxcal, 2021) mevcut olup, bu programlar yardımıyla konvansiyonel radyokarbon yaşları girilerek düzeltilmiş yaşlar elde edilebilir.

Radyokarbon yöntemi esas olarak 300 yıl ile 50 bin yıl yaş aralığında olan ve yapısında karbon içeren; odun, odun kömürü, tohumlar, yapraklar, reçine, liken, turba, humus, bataklık gazı, kemik, fildişi, doku, saç, yumuşakça kabukları, yumurta kabukları, ikincil

karbonatlar (traverten ve mağara çökeli gibi), toprak ve tortu gibi jeolojik, arkeolojik ve antropolojik materyallerin yaşlarını belirlemek için en sık kullanılan standart metottur. Bununla birlikte, radyokarbon laboratuvarlarında günlük bazda tarihlendirilen örneklerin çoğu bitki makrofosilleri, odun kömürü, turba, organik göl çamuru, deniz mikrofaunası ve mikrofloradır, kabuk ve kemiklerin yaşlandırma çalışmaları ise oldukça seyreklerdir. Tarihlendirilecek numunenin boyutu; karbon içeriği, korunma derecesi, kontaminasyon derecesi ve seçilen ^{14}C analiz yöntemi dikkate alınarak belirlenmelidir (Gupta ve Polach 1985; Taylor, 1987, Geyh ve Schleicher, 1990; Walker, 2005).

Radyokarbon tarihlendirme yöntemi, rutin olarak arkeolojik ve çevresel örneklerle uygulanmakla birlikte, adli örnekler için de çok güçlü bir araç olarak kullanılmaktadır. Geleneksel antropolojik yöntemler, genç iskelet kalıntıları için nispeten doğru bir ölüm yaşı sağlayabilir, ancak yetişkin (40 yaşından büyük) bireyler için bu yöntemlerle elde edilen yaşlara güvenilmez. Birey ne kadar yaşlıysa, yöntemlerle verilen yaş aralığı da o kadar geniş olur. Bireyin ölümü ile kalıntıların keşfi arasında meydana gelen bir dizi ölüm sonrası faktör nedeniyle kalıntılar eksikse veya kötü korunmuşsa daha fazla belirsizlikle karşılaşılabilir. İnsan kalıntılarının radyokarbon yöntemiyle tarihlendirilmesi, geleneksel yaklaşımların sağlayamayacağı bilgileri sağlayabilir, örneğin, yumuşak dokuların yokluğunda ölüm yılını belirlemek için tırnakların en uygun doku olduğu bilinmektedir (Brock ve Cook, 2017). Adli bilimlerin önemli amaçlarından biri, suç eylemleriyle ilişkili materyalleri analiz ederek geçmiş olayları kronolojik olarak sıralamaktır. Bunun için; kemiklerden, saçtan, deriden ve adli öneme sahip diğer karbon içeren materyallerden ekstrakte edilen spesifik moleküler bileşikler radyokarbon yöntemiyle tarihlendirilebilir (Zoppi ve ark., 2004). Bu yöntemin kullanıldığı adli öneme sahip popüler tarihi uygulama örnekleri arasında; İnkâ Atahualpa'nın 1530'ların başlarında Francisco Pizarro tarafından öldürülmesi (Zoppi ve ark., 2000), Otzi olarak isimlendirilen Tyrolean Buzadamı'nın 5300 yıl önceki olası cinayeti (Prinooth-Fornwagner and Niklaus, 1994) ve İsa Peygamber'in çarımha gerilmesiyle ilişkili olduğu iddia edilen gömü bezlerinin analizi sayılabilir (Damon ve ark., 1989). Bu yöntem, geçmişte gerçekleşmiş savaş suçlarına da uygulanmıştır. En çarpıcı örneklerden birisi, Naziler tarafından II. Dünya Savaşı'nın sonunda Serniki'de (Ukrayna) gerçekleştirildiği iddia edilen toplu katliamlarla ilgili soruşturmalarda radyokarbon yönteminin kullanılmış olmasıdır. Bu olayda, adli arkeolojik kazılar 1990 yılında birkaç ceset içeren bir toplu mezar ortaya çıkarmış ve Nazi soykırım inkarcıları, toplu cinayetleri Stalin'e veya Rus Devlet Güvenlik Komitesi'ne bağlamışlardır. Bu nedenle olayı tarihlendirmek ve katilleri belirlemek hayati öneme sahip hale gelmiştir. Saç örneklerinin radyokarbon ile tarihlendirilmesiyle, tüm görgü tanıklarının ifadelerinin aksini belirtir

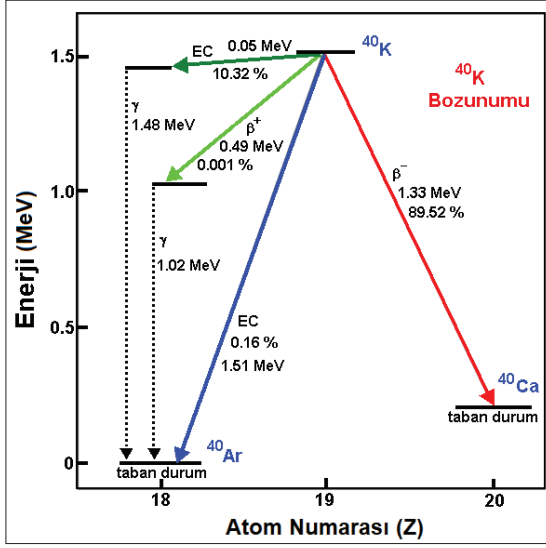
şekilde 1941 ile 1952 arasındaki cinayetleri sıralamak mümkün olmuştur. Toplanan tüm kanıtlara dayanarak, savaş suçlarından yargılanan tek Avustralyalı olan Ivan Polyukhovich tutuklanarak Yahudileri öldürmekle ve 1942 ile 1943'te Nazi işgali altındaki Ukrayna'da 850 kadar kişinin ölümüne karışmakla suçlanmıştır (Tuniz ve ark., 2004). Ayrıca biyoterorizm suçlarında da radyokarbon yöntemi kullanılabilir. 2001'de şarbon sporları içeren mektuplar, ABD'de posta yoluyla gönderilerek beş kişinin ölümüne neden olmuştur. O dönemde, şarbon sporlarının 1980'lerin başında hazırlanan ilk laboratuvar örneklerinden elde edildiği düşünülmüş, ancak ABD Federal Araştırma Bürosu radyokarbon yöntemini kullanarak şarbon sporlarını tarihlendirmiş ve son 2 yıl içinde dondurulduklarını belirlemiştir. Bu bulgu ışığında, araştırmacılar artık teröristlerin daha fazla şarbon sporu üretebilecekleri bir mikrobiyoloji laboratuvarına sahip olmasından endişe duymuştur (Tuniz ve ark., 2004). Radyokarbon yönteminin sahteliği ve sahtekarlıkları ortaya çıkarmak için kullanılması köklü bir uygulamadır ve günümüzde de popülerliğini korumaktadır. Tekniğin minimum hasar verme potansiyeli sayesinde, nadir bulunan eserler tarihlendirilebilir. Örneğin, değerli resimlerin yaşları ve seramik kalıntılarından elde edilen minik kömür parçaları kullanılarak doğrudan ilgilenilen nesnenin tarihi tayin edilebilir. Yöntem, sanat eserleri ve antikalar dışında da değerli ürünleri tarihlendirmek ve analiz etmek için kullanılmaktadır. Örneğin, Avustralya şaraplarının doğrulanması ve izinsiz katkı maddelerinin ve şarap "sahteciliğinin" tespiti, endüstri için büyük önem taşımaktadır. Bu sebeple ülkede gıda ve şaraplara doğal veya sentetik kökenli malzemelerin eklenip eklenmediğini ayırt etmede radyokarbon yöntemi kullanılmaktadır (Zoppi ve ark., 2004). ^{14}C analizleri hayvanların deri ve tüylerine de uygulanmaktadır. Hatta bir hayvanın ölüm tarihinin belirlenmesinde tüyün en güvenilir materyal olabileceği önerilmiştir. Günümüzde bu yöntem, Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği (International Union for Conservation of Nature, IUCN)'nin Tehdit Altındaki Türlerin Kırmızı Listesi'nde yasadışı olarak avlanan hayvanların kürklerinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Geyh, 2001). Radyokarbon yöntemi, son 50 bin yıl içinde gerçekleşmiş depremlerin ve oluşan jeolojik katmanların tarihlendirilmesinde de oldukça önemlidir. Bununla birlikte, kriminoloji konusu olan fildişi, gergedan boynuzu, kürk ve hayvana ait başka kısımların yasa dışı ticaretinin yapılması durumlarında da bu yönteme başvurulur. Ayrıca, ^{14}C izotopunun analizi yalnızca tarihlendirme amaçlı değil, karakterizasyon amaçlı da tercih edilmektedir. Örneğin bir malzemenin biyolojik mi yoksa sentetik mi olduğu, bir yakıtın biyodizel mi yoksa petrol bazlı mı olduğu, ya da sanayide farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılan etanolün tarımsal kökenli mi yoksa sentetik kökenli mi olduğu ^{14}C analizleriyle belirlenebilir (Doğan, 2018).

1.2. Potasyum-Argon (K-Ar) ve Argon-Argon (Ar-Ar) Yöntemleri

Potasyum, kayaçların yapısında yaygın olarak bulunmakta olup, doğada ^{39}K (%93.2581), ^{40}K (%0.0117) ve ^{41}K (%6.7302) olmak üzere üç izotopu olan bir elementtir. Bunlardan ^{40}K yarılanma ömrü 1.3×10^9 yıl olan radyoaktif bir izotoptur. ^{40}K , %89.1 oranında beta (β^-) yayarak ^{40}Ca 'ya ve %10.9 oranında elektron yakalama (electron capture, EC) yoluyla ^{40}Ar 'ye olmak üzere iki farklı yolla bozunmaktadır (Dalrymple ve Lanphere 1969). Ayrıca çok nadir de olsa pozitron (β^+) veya nötrino emisyonu ile meydana gelen ^{40}Ar 'ye bozunmanın küçük bir kısmı da vardır. **Şekil 2'**de ^{40}K için bozunum diyagramında (McDougall ve ark., 1999) gösterildiği gibi, her ne kadar ^{40}K radyoaktif bozunumunun birden fazla yolu olması durumu (üç yolla ^{40}Ar 'ye ve bir yolla ^{40}Ca 'ya) karmaşık gözükse de K-Ar tarihlendirme yönteminin 1950'lerin ortalarından beri önemli jeolojik problemleri çözmek için kullanılmıştır (Dalrymple ve Lanphere, 1969). Ardından Reynolds (1956) tarafından ultra yüksek vakumlu kütle spektrometrelerinin geliştirilmesi ile jeolojik olarak genç örnekler üzerinde hassas K-Ar ölçümleri yapılmasının yolu açılmıştır.

Kayaç içerisinde çok fazla miktarda ^{40}Ca elementi bulunmaktadır. Dolayısıyla, minerallerdeki ^{40}Ca miktarının ne kadarının doğal olarak bulunan ^{40}Ca olduğunu ve ne kadarının ^{40}K 'nin radyoaktif bozunumu sonucu oluştuğunu belirlemek zordur. Bu nedenle, ^{40}K 'nin ^{40}Ca 'ya bozunumunun bir tarihlendirme yöntemi olarak kullanımı çok tercih edilmez, ancak yararlı olduğu bazı özel durumlar da vardır (Geyh ve Schleicher, 1990; Walter, 1997).

Lavlar gibi volkanik kayaçlar veya volkanik küllerin kristal bileşenleri erimiş haldeyken, lavın içerisindeki ^{40}K izotopunun bozunumu sonucu ^{40}Ar gazı atmosfere salınmaktadır; ancak kayalar veya mineraller soğumaya başladığında ^{40}Ar artık kaçamaz, mineralin kristal örgülerinde hapsolür ve burada jeolojik zaman boyunca bolluğu artar. Yani, volkanik kayaçlar için lavın soğuması jeolojik anlamda saati sıfırlayan bir olaydır. Laboratuvarında kaya örneklerindeki ^{40}K ve ^{40}Ar konsantrasyonları belirlenerek; $^{40}\text{K}/^{40}\text{Ar}$ oranı hesaplanabilir ve böylece volkanik kayacın ne zaman soğuduğu, dolayısıyla da volkanik aktivitenin ne zaman gerçekleştiği belirlenebilir.



Şekil 2. ^{40}K için bozunum diyagramı (McDougall ve ark., 1999; düzeltilerek alınmıştır.)

K-Ar tarihlendirmesi yapılırken aşağıda verilen iki temel varsayım göz önüne alınır (Walker, 2005):

1) Volkanik olay sonrasında sistemin tümüyle kapalı kaldığı; yani lavın soğumasını takiben kristalleşme gerçekleştikten sonra sistemden argon çıkışı olmadığı kabul edilir. Mineral numunesi bozulmuş veya herhangi bir sebeple yeniden ısıtma olayı olmuş ise argon kaybı meydana gelebilir. Her iki durumda da numunenin yaşı, olması gerekenden daha genç hesaplanır. Kayaçta yeniden kristalleşme sonucu oluşan ve ayrışmanın kanıtı olan ikincil mineraller petrografik analizlerle belirlenebilir. Daha güvenilir bir yaş değeri için hem tüm kayada hem de onun mineral parçalarında tarihlendirme analizleri yapılarak yaşların uyumu kontrol edilebilir.

2) Örnek içerisindeki ^{40}Ar miktarının tümünün ^{40}K bozunumundan üretilmiş olduğu, yani kirlenmenin gerçekleşmemiş olduğu kabul edilir.

Tarihlendirilecek numune yapısına kirlenmenin kaynağı olarak atmosferik ^{40}Ar karıştığı durumda hesaplanan yaş değeri olması gerekenden daha büyük elde edilir. Numunede, atmosferik ^{40}Ar izotopuyla birlikte yalnızca atmosfer kaynaklı olan ^{36}Ar izotopu da mevcuttur ve atmosferdeki $^{40}\text{Ar}/^{36}\text{Ar}$ oranı (≈ 295.5) bilinmektedir (Nier, 1950). Bu oran kullanılarak, numuneye karışan atmosferik ^{40}Ar miktarı belirlenir ve böylece yalnızca radyojenik ^{40}Ar miktarı kullanılarak hesaplanan yaş değerinde düzeltme yapılır.

K-Ar yöntemi, genellikle alev fotometrisi veya başka kimyasal teknikler kullanılarak kayaç örneğinin bir bölüntüsünden (alikit) ^{40}K konsantrasyonunun ölçülmesini gerektirir. Kayacın başka bir bölüntüsünden ise radyojenik ^{40}Ar (veya $^{40}\text{Ar}^*$) konsantrasyonu, numuneyi ultra yüksek vakumlu bir sistemde eriterek ve Ar izotoplarını bir kütle spektrometresinde ölçerek belirlenir. Oluşumu sırasında $^{40}\text{Ar}^*$ 'nin tamamının kayaçtan uzaklaştırıldığı varsayılarak, numunenin yaşı aşağıdaki ifadeden elde edilir.

$$t = \frac{1}{\lambda} \ln \left\{ 1 + \frac{\lambda}{\lambda_e} \frac{^{40}\text{Ar}^*}{^{40}\text{K}} \right\} \quad (7)$$

Burada λ , ^{40}K için toplam bozunma sabitidir ve 5.543×10^{-10} yıl⁻¹ değerindedir. λ_e ise ^{40}K 'nin elektron yakalama yoluyla ^{40}Ar 'a bozunma sabitidir ve 0.581×10^{-10} yıl⁻¹ değerindedir (Steiger ve Jager, 1977). Yaklaşık 20 milyon yıldan daha az yaşlar için, Denk. (7) aşağıdaki gibi yazılarak kullanılır.

$$t = \frac{1}{\lambda_e} \frac{^{40}\text{Ar}^*}{^{40}\text{K}} \quad (8)$$

Yukarıda belirtildiği gibi tarihlendirilecek örnekler içerisindeki radyojenik ^{40}Ar , volkanik bir kayadaki tek ^{40}Ar değildir. Günümüz atmosferinde yaklaşık %1 oranında Ar elementi bulunur ve bunun %99.60 oranı ^{40}Ar , %0.063 oranı ^{38}Ar ve %0.337 oranı ^{36}Ar izotoplarından oluşur. Bazalt kayaçların bütünü ve K-feldispat mineralleri yapısında az da olsa tuzaklanmış veya çözülmüş atmosferik ^{40}Ar içerebilir (Dalrymple ve Lanphere, 1971). Bir numunedeki atmosferik ^{40}Ar miktarı, ^{36}Ar konsantrasyonu ölçülerek ve atmosferik ^{40}Ar 'nin ^{36}Ar 'ye oranının 295.5 olduğuna dikkat edilerek tahmin edilebilir. Böylece numunedeki radyojenik ^{40}Ar değeri aşağıdaki ifadeden belirlenebilir.

$$^{40}\text{Ar}^* = ^{40}\text{Ar}_{\text{ölçülen}} - 295.5 ^{36}\text{Ar} \quad (9)$$

Böylece Denk. (8) yeniden yazılırsa Denk. (10) elde edilir.

$$t = \frac{1}{\lambda_e} \frac{^{36}\text{Ar}}{^{40}\text{K}} \left\{ \left(^{40}\text{Ar} / ^{36}\text{Ar} \right)_{\text{ölçülen}} - 295.5 \right\} \quad (10)$$

Kuvaterner örnekler için, numunedeki $^{40}\text{Ar} / ^{36}\text{Ar}$ ile 295.5 arasındaki fark son derece küçük olabilir bu durum yöntemin kesinliğini sınırlayan temel faktördür. ^{36}Ar bolluğu her zaman çok küçük olduğundan, bunun ölçümündeki hata hesaplanan yaştaki baskın hata kaynağıdır (Hall ve York, 1984).

K-Ar yönteminde tarihlendirme için ölçülen potasyum miktarının çok az bir kısmının (%0.0117) radyoaktif ^{40}K olması, bu miktarın yine az bir kısmının (%10.9) ^{40}Ar 'ye dönüşmesi ve bu radyoaktif bozunmanın

yarı ömrünün çok uzun (1.3×10^9 yıl) olması durumları bu yöntemi yaşlı örnekleri (milyar yıllar) tarihlendirmek için kullanışlı kılmakla birlikte, genç örneklerin tarihlendirilmesinde sınırlamalar getirmektedir. Örneğin, numuneden elde edilebilecek 10 g (bu miktar bile abartılmıştır) potasyumdan 1.3 milyar yıl sonra bozunma ile yaklaşık olarak 10 mg ^{40}Ar oluşacaktır, dolayısıyla genç örnekler için çok hassas kütle spektrometreleri gerekmektedir. Bu nedenlerle 100 bin yıl altındaki yaşları K-Ar yöntemiyle tarihlendirmek oldukça zordur.

Geleneksel K-Ar tarihlendirme yönteminde K ve Ar ölçümlerinin farklı alikotlarda yapılmasından dolayı tarihlendirilecek numunenin heterojen olduğu (bazaltlar gibi) durumlarda hatalı yaşlara neden olabildiği için; örnekteki ^{39}Ar miktarının ^{39}K izotopuyla orantılı olması, ^{39}K izotopunun ise ^{40}K izotopuyla orantılı olmasından hareketle örnekteki $^{40}\text{Ar}/^{40}\text{K}$ oranı tek bir kütle spektrometresi ölçümüyle de belirlenebilir. Tek bir alikot üzerinden bu ölçümler yapılırken bulunan ^{40}Ar ve ^{39}Ar oranlarından hareketle aynı zamanda $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ olarak da bilinen Argon-Argon (Ar-Ar) tarihlendirme yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde, ^{40}Ar içeriği daha önce K-Ar yönteminde anlatıldığı gibi doğrudan ölçülür, ancak ^{40}K konsantrasyonu potasyum ve argon izotopları arasındaki bilinen oranlar kullanılarak dolaylı olarak ölçülmektedir. Kayacın tek bir parçasından alınan örnek bir nükleer reaktöre yerleştirilir ve hızlı nötronlarla ($E > 1\text{MeV}$) ışınlanır. Bu işlem, kararlı ^{39}K izotoplarının bir kısmını doğada oluşmayan ve yaklaşık 270 yıllık bir yarılanma ömrüne sahip radyoaktif bir argon izotopu olan $^{39}\text{Ar}^*$ 'a dönüştürür. Kütle spektrometresi ölçümüyle belirlenen ^{39}Ar bolluğu, ^{39}K 'nın ve dolayısıyla ^{40}K 'nın belirlenmesi için vekil olarak kullanılır (McDougall ve Harrison, 1999; Walker, 2005). Bu tarihlendirme yönteminde malzemenin yaşı aşağıdaki ifadeden elde edilmektedir.

$$t = \frac{1}{\lambda} \ln[J \cdot ^{40}\text{Ar}^* / ^{39}\text{Ar}_K + 1] \quad (11)$$

Burada λ ; ^{40}K için toplam bozunma sabiti, J ; nötron akı parametresi olarak adlandırılan orantılılık faktörü, $^{40}\text{Ar}^*$, ^{40}K 'nin bozunma sürecinde oluşan radyojenik ^{40}Ar , $^{39}\text{Ar}_K$ ise ^{39}K 'un nötron aktivasyonu ile oluşturulan argon izotopudur. Denklemdaki J değeri, yaşı bilinen bir kalibrasyon malzemesi kullanılarak elde edilmektedir.

Yakın zamanda yukarıda bahsedilen işlemlere alternatif olarak Ar-Ar yaş tahminlerinin hem doğruluğunda hem de kesinliğinde önemli bir iyileşme sağlayan Tek Kristal Lazer Füzyonu (Single Crystal Lazer Fusion) $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ tarihlendirme yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde 1 mg veya daha düşük mertebede tek kristal mineralleri hedef alınarak, süper hassas bir kütle spektrometresinde ölçülmesi için argonun uzaklaştırılmasını sağlayan yüksek güçlü bir lazer kullanılmaktadır (Lee, 2013).

Pratikte Ar-Ar yöntemi, K-Ar yöntemine göre bazı avantajlara sahip olmakla birlikte her iki yöntemle de kayaç için oldukça yakın yaşlar elde edilmektedir. Ar-Ar yöntemiyle özellikle 100 bin yıldan daha genç örnekler hassas bir şekilde tarihlendirilebilir. Tek bir numune kullanarak istatistiksel değerlendirme yapmaya olanak sağlayacak şekilde birkaç tarihlendirme sonucu elde edilebilir ve böylece daha hassas yaş değerine ulaşılması mümkün olabilmektedir. K-Ar tarihlendirme yönteminde yaş elde etmek için bir kayacın farklı noktalarından ölçüm alınırken Ar-Ar yönteminde kayaç örneğinin aynı noktasından ölçüm yapılmaktadır. Bu da kayacın heterojen olması durumunda oluşabilecek hataları engelleyen bir avantaj olarak görülmektedir. Ar-Ar yönteminde argon gazı ölçülürken, reaktördeki sıcaklık oda sıcaklığından kristalin erime sıcaklığına (>1500 °C) adım adım çıkarılır, bu esnada hem ^{40}Ar hem de ^{39}Ar izotopu her bir sıcaklık adımında ölçülerek yaş hesaplaması yapılır. Her bir sıcaklık adımında hesaplanan yaşların aynı çıkması, numunenin kapalı sistem olması kabulüyle örtüşür. Bu durum, her bir sıcaklıkta serbest kalan argon miktarı ve hesaplanan yaşlar kullanılarak oluşturulacak yaş eğrisinde “plato” gözlenmesiyle anlaşılabilir. Yani, Ar-Ar tarihlendirme yönteminde numunenin kapalı sistem davranışı gösterip göstermediği de belirlenebilir (Walter, 1997).

K-Ar ve Ar-Ar yöntemleriyle volkanik aktivite yaşları doğrudan belirlenebildiği gibi, volkanik olmayan jeolojik üniteler, faylar, tektonik havzalar gibi çeşitli jeolojik ve akarsu terasları, morenler, kıyı platformları gibi jeomorfolojik birimler de bağıl olarak tarihlendirilebilmektedir. Tarihlendirme amacıyla seçilen numunenin gözeneksiz ve bozulmamış yüzeye sahip olması ve volkanik kayacın iç kısmından alınmış olması gerekir (Bekaroglu, 2013). Prensipte olarak, potasyum içeren herhangi bir mineral veya kaya, K-Ar ve Ar-Ar tarihlendirme yöntemlerinde kullanılabilir. Pratikte ise, tarihlendirilebilen numune çeşitliliği oldukça sınırlıdır. Her iki teknik de esas olarak magmatik ve metamorfik kayalara uygulanır, ancak bazı durumlarda tortul kayaçlar üzerindeki ölçümler de yararlı olabilir. K-Ar yönteminin önemli bir uygulaması, bazaltlar ve doleritler gibi genç mafik volkanik kayaçların tarihlendirilmesidir. Ayrıca, çökeltilerin doğrudan tarihlendirilmesi için artan bir kullanım alanı bulmaktadır. Örneğin, kırıntılı mineraller kaynakları hakkında bilgi sağlayabilirken, sedimantasyon veya diyajenez yaşı, kil minerallerinin analizi ile elde edilebilir. Potasyum tuzlarının tarihlendirilmesi, K-Ar yönteminin ilk uygulaması olmasına rağmen bugün bu alanda fazla kullanılmamaktadır. Oluşumu açık bir şekilde epitermal olan kil mineralleri ve mikalar ise hidrotermal yatakların K-Ar yöntemi ile tarihlendirilmesi için iyi bir seçenektir. K-Ar yöntemi, ay örnekleri ve göktaşlarını tarihlendirmek için de kullanılmaktadır, ancak son yıllarda büyük ölçüde yerini Ar-Ar yöntemine bırakmıştır (Geyh ve Schleicher, 1990).

K-Ar ve Ar-Ar tarihlendirme yöntemleri yaygın kullanılan jeokronometrelerden ikisi olup jeolojik zaman ölçeğinin kalibrasyonunda önemli araçlardır. Bu yöntemler milyon yıl mertebesinde yaşa sahip kayalar ve mineraller için kullanışlı olmakla birlikte, günümüzde birkaç bin yıllık daha genç malzemeler de tarihlendirilebilir, ancak böyle çalışmalar argon miktarının tespitinde oldukça dikkatli olmayı gerektirir. Böylelikle, bu tarihlendirme yöntemleri, Kuvaterner jeolojisi ve arkeoloji çalışmalarında da faydalı araçlar haline gelmişlerdir (Geyh ve Schleicher, 1990). Bu yöntemlerinin Kuvaterner araştırmalarına en önemli katkıları; Afrika'da erken hominid (insansı) buluntularıyla ilişkili olduğu düşünülen lav ve diğer volkanik malzemelerin tarihlendirilmesinde, Yukon ve Patagonia çalışmalarında olduğu gibi buzul çökeltileri ile iç içe geçmiş tefraların tarihlendirilmesi yoluyla buzul kronolojilerinin geliştirilmesinde, Kuvaterner döneminde en büyük patlama olarak belgelenen Sumatra'daki Toba Yanardağı'nın yaşının yaklaşık 75 bin yıl olarak elde edilmesi gibi önemli volkanik olayların tarihlendirilmesinde ve paleomanyetik zaman ölçeği için bir kronoloji sağlanmasında olmuştur (Walker, 2005). K-Ar yönteminin genç volkanik kayaları tarihlendirmek için yapılan ilk uygulamaları, esas olarak hominid evriminin zaman ölçeğini kalibre etmek için gerçekleştirilmiştir (Leakey ve ark., 1961). Bu çalışmalardan sonra K-Ar jeokronolojisi, oldukça geniş bir zaman aralığında jeolojik ve biyolojik olayların kalibre edilmesinde giderek daha önemli bir rol oynamıştır (Walter, 1997). Bu uygulamalar göz önüne alındığında her iki yöntemin de adli bilimler açısından önemli olduğu görülmektedir.

1.3. Uranyum-Toryum ($^{230}\text{Th}/^{234}\text{U}$) Yöntemi

Uranyum-Toryum (U-Th) yöntemi Kuvaterner biliminde radyokarbondan sonra en yaygın kullanılan radyometrik tarihlendirme yöntemidir. İkinci Dünya Savaşı'nı izleyen yıllarda geliştirilen ve başlangıçta derin okyanus çökeltilerinin tarihlendirilmesine uygulanan bu yöntem, 1960'lardan sonra hem deniz hem de karasal karbonatlar için rutin olarak kullanılmıştır (Walker, 2005). Doğada aktinitler olan ^{238}U , ^{237}Np , ^{235}U , ^{232}Th ile başlayan dört doğal radyoaktif bozunma zinciri vardır ve bu zincirler sırasıyla kararlı çekirdekler olan ^{206}Pb , ^{209}Bi , ^{207}Pb , ^{208}Pb ile sonlanırlar. Ancak bunlardan Np serisinin en uzun ömürlü çekirdeğinin yarı ömrü (2.14×10^6 yıl) dünyanın yaşından çok küçük olduğundan bu zincir sonlanmıştır. Diğer zincirlerin en uzun ömürlü elemanının yarı ömrü dünyanın yaşı ile kıyaslandığında aynı veya daha büyük olmasından dolayı doğal olarak gözlenmektedir. Bu zincirlerdeki radyoizotoplarının yarı ömrüne bağlı olarak bozunma dengesizliğinden yararlanarak farklı tarihlendirme yöntemleri geliştirilmiştir. U-Th yöntemi bunlardan biridir. Bu yöntemde Şekil 3'te üst kısmı verilen ^{238}U

bozunma zincirindeki 2.4×10^5 yıl yarı ömürlü ^{234}U elementinin ^{230}Th elementine alfa yayarak bozunumu kullanılmaktadır. İzotopların ölçüm hassasiyetlerine bağlı olarak yarı ömrün birkaç katı yaşlı örnekler tarihlendirilebilir.

Ana çekirdek miktarı zamanla değişmiyorsa, yani yarı ömrü ürün çekirdeğe göre çok uzunsa, yarı ömrün birkaç katı zaman sonra ana çekirdekle ürün çekirdek radyoaktif dengeye gelecektir. Bu değer tarihlendirmenin üst sınırını belirleyecektir. Şekil 3'ten görülebileceği gibi ^{238}U izotopunun yarı ömrü ^{234}U 'nun yarı ömründen çok uzundur. Dolayısıyla tarihlendirilecek örneğe göre bir miktar değişse de hassas bir kütle spektrometresiyle ölçüm yapılması durumunda tarihlendirmenin üst sınırı ^{234}U 'nun yarı ömrünün birkaç katı olana kadar (600 bin yıl) çıkarılabilir.

Uranyumun yer kabuğundaki ortalama yoğunluğu 2-4 ppm arasındadır ve birçok mineralin yapısında doğal olarak bulunabilmektedir. U'nun en bol izotopu ^{238}U olup doğada %99.27 oranında bulunmaktadır. Th'nin en bol izotopu ise ^{232}Th (%100)'dir.



Şekil 3. ^{238}U bozunma zincirinin üst kısmı

U ve Th elementlerinin tarihlendirilecek örnekler ve ortamlar içerisinde bulunma oranlarının farklı olmasının sebebi farklı jeokimyasal davranışlarından kaynaklanır. U doğada ana olarak iki okside durumda, U^{+4} ve U^{+6} değerlikli olarak bulunur. Yer yüzeyinde bunlardan suda çözünebilir olan U^{+6} , uranül iyonu (UO_2)⁺² ve çeşitli uranül karbonatlar olarak, baskın biçimde bulunur. İndirgen ortamlarda ise U^{+4} durumu daha baskındır. Ancak bu formu suda çözünmediğinden U^{+6} 'dan daha az hareketli, dolayısıyla örneklerin yapılarına sızma şansı azdır. Bunların aksine Th karasal malzemeler içerisinde genel olarak Th^{+4} okside durumunda olup, doğal sulara çözünmediğinden doğal şartlarda mineraller olarak ya da parçacıkların yüzeyine yapışarak taşınırlar. Bunun sonucunda, yer altı sularında, ırmak sularında, deniz sularında çözülmüş U mevcut olup, hiç Th yoktur. Bu sebeple yumuşakçalar kavrıklarını oluştururken, ya da tufa, traverten, mağara sarkıt ve diktleri gibi ikincil karbonatlar oluşurken yapılarına U^{+6} girebilir ancak Th hiçbir zaman giremez ve böylece oluşumlarında Th/U dengesizliği kurulur (Scholz ve Hoffmann, 2008).

$^{234}\text{U}/^{238}\text{U}$ izotop oranı α -bozunması (çarpışması) sonucunda değişkenlik gösterir. Bu bozunmanın izotop oranları üzerine iki etkisi vardır: (1) Bir He çekirdeği olan α -parçacığı sınırlı bir kinetik enerjiye sahiptir. Bu nedenle ürün çekirdek ana çekirdekten az bir miktar

ayrılabilir, böylece ya komşu yapılara doğru yayılır ya da kolayca ortamı terk edebilir. (2) α -parçacığı gittiği yörüngesi boyunca örgüde hasarlar oluşturabilir. Bu sebeple ayrışma sürecinde ürün çekirdekler ana çekirdekten daha hareketli olur ve sonuçta yer altı ve ırmak sularında $^{234}\text{U}/^{238}\text{U}$ izotop oranı genellikle denge değerinden yüksek olur (Bourdon ve ark., 2003).

Radyoaktif çekirdek bozunumuna dayalı olarak geliştirilen tarihlendirme yöntemlerinde Denk. (1)'deki genel ifade kullanılarak ve radyoaktif çekirdeklerin aktiviteleri ve aktivite oranları parantez içerisinde gösterilerek, bir bozunma zinciri içinde tek tek izotopların aktivitelerinin zamansal değişimi, standart yöntemlerle çözülebilen bir diferansiyel denklem sistemi ile tanımlanır. Buna göre, ^{238}U zinciri içerisindeki izotopların aktivitelerinin zamanla değişimi çözümlerse, ^{234}U 'nun aktifliğinin ^{238}U 'nun aktifliğine oranının zamanla değişimi aşağıdaki gibi bulunur (Ivanovich ve Harmon, 1992).

$$\left(\frac{^{234}\text{U}}{^{238}\text{U}}\right)(t) = \left[\left(\frac{^{234}\text{U}}{^{238}\text{U}}\right)_{\text{baş}} - 1\right] e^{-\lambda_{234}t} + 1 \quad (12)$$

U-Th yönteminde iki önemli kabul yapılmaktadır:

1) Tarihlenecek numuneye hiçbir Th giriş çıkışı olmamıştır. Yani, Th başlangıçta suda çözünüp yapıya giremediğinden birikmesi ve aktivitesi sıfır alınmıştır.

2) Bozunma sürecinde sistemin kapalı olduğu varsayılmış, yani sistem oluştuktan sonra sisteme U ve Th giriş çıkışı olmamıştır. Ayrıca bu eşitlikte, ^{238}U ile ^{234}U arasındaki çok kısa yarı ömürlü izotoplar radyoaktif dengede olup göz ardı edilmiştir. Denk. (12) kullanılarak yaşın hesaplanabilmesi için ^{234}U 'nun başlangıçtaki aktivitesinin ^{238}U 'nun başlangıçtaki aktivitesine oranının, $(^{234}\text{U}/^{238}\text{U})_{\text{baş}}$ bilinmesi gerekir. Ancak, bu değeri bilemeyiz ve ayrıca bu değer örnekten örneğe değişecektir. Bu durumdan kurtulmak için ^{230}Th 'nin ve ^{238}U 'nun aktifliklerinin oranını yazarsak aşağıdaki ifadeyi elde ederiz.

$$\left(\frac{^{230}\text{Th}}{^{238}\text{U}}\right)(t) = (1 - e^{-\lambda_{230}t}) + \left[\left(\frac{^{234}\text{U}}{^{238}\text{U}}\right)(t) - 1\right] \frac{\lambda_{230}}{\lambda_{230} - \lambda_{234}} (1 - e^{-(\lambda_{230} - \lambda_{234})t}) \quad (13)$$

Burada λ 'lar ^{230}Th için; $\lambda_{230}=9.1577 \times 10^{-6}$ yıl⁻¹ ve ^{234}U için; $\lambda_{234}= 2.8263 \times 10^{-6}$ yıl⁻¹ değerindedir (Cheng ve ark. 2000). Yukarıda bahsedilen iki kabulden biri bozulursa örneğin yaşı doğru olmayacaktır. Bu iki kural sağlanıyorsa; $(^{230}\text{Th}/^{238}\text{U})$ ve $(^{234}\text{U}/^{238}\text{U})$ aktivite oranlarını bulmak için örnekteki ^{238}U , ^{234}U , ^{230}Th birikmeleri ölçülür ve aktivite oranları hesaplanarak Denk. (13)'den örneğin t yaşı sayısal veya grafiksel tekniklerle hesaplanabilir (Ivanovich ve Harmon, 1992).

Tarihlendirmede gerekli olan ^{238}U , ^{234}U ve ^{230}Th izotoplarını ölçmek için temelde iki teknik kullanılır. Bu izotoplar farklı kütleli olduğundan ve hepsi de α yayınımları ile bozunduğundan ya hassas alfa spektrometresi veya hassas kütle spektrometresi kullanılarak bu izotopların miktarları belirlenebilir. Ölçülmesi gereken tüm izotoplar farklı enerjili α parçacıkları yayarak bozdukları için, bir alfa spektrometresiyle izotopların bolluklarıyla orantılı olan bu farklı enerjili alfalar sayılarak aktivite oranları belirlenebilir. Bu teknik eski bir teknik olup çok miktarda örnek (1 μg 'den fazla U, bu onlarca gram örneğe karşılık gelebilir) ve izotop ölçümü için uzun süre (birkaç gün) gerektirir. Ayrıca hassasiyeti dolayısıyla bu teknikle en fazla 350 bin yıl değerine kadar tarihlendirme yapılabilmektedir. Bu tekniğin yanı sıra, saflaştırılmış ve ayrıştırılmış örnekteki ölçülmesi gerekli izotoplar bir kütle spektrometresiyle doğrudan ölçülebilir. 1980'lerden sonra Termal İyonizasyonlu Kütle Spektrometresi (Thermal Ionization Mass Spectrometry, TIMS), ve son 20-25 yıldır daha ileri bir teknik olan Çok Kollektörlü İndüktif Çiftlenimli Kütle Spektrometresi (Multicollector-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer, MC-ICPMS) kullanılmaktadır. Kütle spektrometrelerinin kullanılmasıyla çok az miktarda (5-10 ng) örnek ile kısa zamanda (birkaç saat) daha hassas ölçümler yapılabilmekte ve 500 bin yıla kadar yaşa sahip örnekleri tarihlendirmek mümkün olmaktadır. Hassas alfa spektrometresi ve hassas kütle spektrometresinin kullanıldığı her iki teknikte de ölçümden önce U ve Th izotopları kimyasal ayrıştırma ve saflaştırma yöntemleri ile örnekten ayrıştırılırlar. Bu iki izotopun ayrıştırma yöntemleri farklı olduğundan aynı oranda ayrıştırılıp ayrıştırılmadığını ölçmek için bu kimyasal işlemde önce örneğe oranları hassas bir şekilde bilinen ^{236}U ve ^{229}Th izotoplarının bulunduğu çözelti katılır. Bu bilinen oranlardan yola çıkarak tarihlendirmede kullanılan izotopların kimyasal ayrıştırma ile hangi oranda ayrıldığını tespit etmek için örneğe karıştırılan izotoplar da ölçülmelidir. Son olarak yapıya dışarıdan aşınma yoluyla Th girmiş ise düzeltme yapmak için ^{232}Th miktarı da ölçülmelidir (Walker, 2005; Scholz ve Hoffmann, 2008).

U-Th yöntemi genellikle kalsiyum karbonat (CaCO_3) yapıdaki karasal ve denizel depoların, tarihlendirilmesinde kullanılmaktadır. Son 2.6 milyon yılı kapsayan Kuvaterner döneminde meydana gelen paleoiklim ve paleoortam değişimlerinin araştırılmasında önemli malzemeler olan mercan resiflerine, traverten ve tufa gibi ikincil karbonat çökellerine ya da sarkıt, dikit, akartaş gibi mağara çökellerine uygulanmaktadır (Bekaroglu, 2013). Mağara çökelleri ve tufalar, paleoiklimsel verilerin elde edilmesinde ve değerlendirilmesinde çok önemlidir. Ancak bu malzemelerde kırıntılı Th kontaminasyonu ve açık sistem U kaybının söz konusu olması elde edilen yaşlardaki önemli hata kaynakları olarak dikkate alınmalıdır (Garnett ve ark., 2004). U-Th yönteminin uygulanmasında en başarılı malzemelerden biri fosil

mercanlardır. Bunun nedeni, ölümden sonra mercan iskeletlerinin, mercan çözünene veya kalsite dönüşene kadar etkin bir şekilde kapalı sistem olarak kalmasıdır (Walker, 2005). Bu yöntem, mercanların, yumuşakçaların ve denizaltı karbonat platformlarından gelen tortuların tarihlendirilmesi yoluyla, özellikle denizin buzullararası yüksek kısımlarıyla ilişkili deniz seviyesi değişiminin kronolojilerini türetmek için kullanılmaktadır (Jedoui ve ark., 2003; Henderson ve Slowey, 2000).

U-Th tarihlendirme yöntemi adli bilimlerde de oldukça önemlidir. Özellikle nükleer santrallerde yakıt olarak kullanılmak üzere üretilen nükleer malzemelerin uluslararası kaçakçılığı olaylarında bu malzemelerin üretim tarihi ve menşei belirlenmek amacıyla kullanılmaktadır (Stanley, 2012; Moody ve ark., 2005). Örneğin, Wallenius ve ark. (2006) çalışmalarında Almanya'da bulunan ve yüksek düzeyde radyoaktif materyallerin taşınması ve depolanmasıyla ilgili risklere karşı Avrupa vatandaşının korunması için bilimsel bir temel sağlamayı amaçlamış olan Transuranyum Elementler Enstitüsü (Institute for Transuranium Elements, ITU)'ne gelen nükleer madde kaçakçılığı şüphelisi iki vakayı incelemiştir. Bu vakaların ilki 2003 yılında Litvanya'dan gelen 4 farklı uranyum-dioksit pelet malzemesi, ikincisi ise Çek Cumhuriyeti'nden gelen 4 farklı uranyum toz malzemesidir. U-Th tekniğiyle tarihlendirilen pelet malzemelerin yaşı 12.6 ± 0.8 yıl ve toz malzemelerin yaşı 27 ± 1.2 yıl olarak hesaplanmıştır. Buna göre U-Th metodunun malzemenin U içeriğine bağlı olarak ve hassas teknolojik cihazların da kullanılmasıyla adli bilimlerde genç yaşta nükleer malzemelere uygulanabileceğini söylemek mümkündür.

2. Doğal Işınmın Biriktirdiği İzlerden Yararlanılarak Geliştirilen Tarihlendirme Yöntemleri

Doğal radyoaktif elementlerin yaydığı radyasyon mineral veya fosiller gibi katılarda atomik veya elektronik kusurlar üretmektedir. Doğal radyasyon etkisiyle oluşan bu kusurlar çeşitli fiziksel yöntemlerle ölçülerek incelenen numune için jeolojik/arkeolojik saat olarak kullanılmaktadır. Bu bölümde bu prensibe dayalı olarak çalışan Elektron Spin Rezonans (ESR), Termoluminesans (TL), Optik Uyarımlı Lüminesans (OSL) ve Fizyon İzleri tarihlendirme yöntemleri özetlenerek anlatılmıştır. Ayrıca kimyasal oksidasyonla oluşan radikallerin kullanıldığı Kimyasal ESR tarihlendirme yöntemine de kısaca değinilmiştir.

2.1. Elektron Spin Rezonans (ESR) Tarihlendirme Yöntemi

Elektron Spin Rezonans (ESR), bir diğer adıyla Elektron Paramanyetik Rezonans (EPR), kristal ve amorf malzemelerdeki

paramanyetik merkezleri yani manyetik kusurları inceleyen ve Manyetik Rezonans (MR) prensibine göre çalışan spektroskopik bir yöntemdir. Çiftlenimsiz elektrona sahip paramanyetik örnekler doğal olarak mevcut olabildiği gibi fiziksel ya da kimyasal etkilerle de oluşabilir. Radyasyon (UV, X-ışını, α - ve β -parçacıkları, γ -ışınları ve kozmik ışınlar), malzeme yapısında paramanyetik merkez ya da radikal oluşturabilen önemli fiziksel etkilerden birisidir. Radyasyon, enerjisine bağlı olarak moleküler yapıdan bir elektronu kopararak ve sürükleyerek örgüde tuzaklanmasına neden olabilir; elektronun sürüklenmesi sonucu arkada kalan elektron değiştiği tuzaklanabilir; moleküler bağı kopararak radikaller oluşturabilir ya da elektronları uyararak bir üst seviyeye geçirebilir. Paramanyetik merkeze ait ESR sinyal şiddeti, paramanyetik merkezin yoğunluğu ile orantılıdır. Elektron-deşik çifti, radikaller veya uyarılmış olan elektron bir etki ile ya da kendiliğinden geri birleşebilirler. Bu durum paramanyetik merkezin sönmesine sebep olabilir. Ancak bazı paramanyetik merkezler dışarıdan bir etki görmedikçe çok uzun zaman kararlı halde kalabilir. İşte böyle kararlı radikaller doğal radyasyona duyarlı ise örneğin yaşını bulmak için iyi bir ölçektir (Ikeya, 1993).

Jeolojik/Arkeolojik bir numunenin çevresinde ve içinde bulunan Uranyum (^{238}U , ^{235}U), Toryum (^{232}Th) ve Potasyum (^{40}K) gibi doğal radyoaktif maddeler ve onların ürün çekirdekleri radyasyon yayarak madde içinde paramanyetik merkezlerin oluşmasına neden olurlar. ESR ile algılanabilen ve yukarıda belirtilen süreçlerle yoğunluğu artan bu paramanyetik merkezlerin oda sıcaklığındaki yarı ömürlerine bağlı olarak milyon yıl mertebesinde günler mertebesinde yaşları tespit etmek mümkündür.

Numune içerisindeki paramanyetik tuzak sayısının azalmasına ve böylece paramanyetik merkezlerin sönmesine neden olan etkiler “sıfırlayıcı olay” ya da “saati sıfırlayan olay” olarak tanımlanır. Yeniden kristalleşme, ısınma, optik ağarma, mekanik ağarma ya da tavlama, asit ya da asidik su ile yıkanma en önemli sıfırlayıcı olaylar olarak tanımlanır ve paramanyetik merkezleri sıfırladıkları için “yaşın başlangıcı” olarak alınırlar. Örneğin, kristalleşme sıfırlayıcı olayı nedeniyle yumuşakça kabukları, mercanlar ve kemikler gibi biyolojik yapıların ve sarkıt, dikit, akmatas, traverten ve tufa gibi karasal karbonatların oluşum yaşları belirlenebilir. Bununla birlikte, jeolojik zaman içerisinde malzemenin kısmen yeniden kristalleşmesi de yanıltıcı genç yaşlar verebilir. Böyle durumları belirlemek için numunelerin XRD analizleri yapılarak mineral yapıları tayin edilmelidir. Bir başka örnek de çanak ve çömleğin fırınlanarak tavlama olmasıdır. Isıl etkiyle doğal kil minerallerinin (kuvars, feldispar) yapısındaki paramanyetik merkezler sıfırlanır ve bu etki kullanılarak arkeolojik seramikler tarihlendirilebilir. Benzer şekilde volkanik patlamalar ve jeotermal etkiyle ortaya çıkan ısının kayalık numunelerinin yapısındaki paramanyetik merkezleri sıfırlaması durumu

kullanılarak volkanik aktivite ve jeotermal oluşum yaşları belirlenebilir. Mekanik aşarma ya da tavlama ya en güzel örnekler ise fay ve buzul hareketleridir. Bu şiddetli jeolojik etkiler katı içerisinde atomların yer değiştirmesine ve dolayısıyla paramanyetik tuzakların boşalmasına neden olacağı için buradaki numunelerin yaşları, hareketlerin meydana geldiği tarihe karşılık gelecektir. Yani, sıfırlayıcı olaylar tarihlendirilmek istenen numune için başlangıç kabul edilir, ancak aynı zamanda doğru yaş tayini için dikkat edilmesi gereken olaylardır.

Numunenin yaşı; oluşumundan veya herhangi bir sıfırlayıcı olaydan günümüze kadar çevresel radyoaktif elementler nedeniyle soğurduğu toplam doz (TD) miktarı ile ortalama yıllık doz (D) arasındaki bağıntıdan elde edilir. Numunenin soğurduğu toplam doz, jeolojik doz (JD) veya arkeolojik doz (AD) olarak da tanımlanmaktadır. Tarihlendirilecek numunelerin laboratuvar ortamında yapay olarak ışınlanmasıyla soğurduğu dozdan hareketle hesaplanan eşdeğer doz değerine D_E ve bulunduğu çevrede bir yılda soğurduğu doza da D dersek, örneğin yaşı en genel anlamıyla aşağıdaki ifadelerden hesaplanabilir.

$$T_{ESR} = TD/D, T_{ESR} = D_E/D \quad (14)$$

Numunelerin ESR spektroskopisiyle tarihlendirilmesinde kullanılmak üzere çok sayıda metod geliştirilmiştir. Bunlar: “Eklemeli Doz Metodu”, “Bekle ve Gör Metodu”, “Kimyasal Tepkimelerle Yaşlandırma Metodu”, “ESR Dendrokronoloji”, “Plato Metodu”, “Teorik Büyüme Eğrisinden Direkt Yaş Tayini” şeklindedir. Bununla birlikte, eşdeğer doz hesabı için kullanılan farklı metotlar arasında en yaygın olanı Eklemeli Doz Metodu’dur. Oluşan paramanyetik merkezlerin yoğunluğu soğurulan radyasyon dozuna kalibre edilmedikçe ESR sinyal şiddeti örneğin yaşıyla ilişkili olmayabilir. Eğer belirli bir zaman diliminde radyasyonla veya diğer etkilerle oluşan kusur yoğunluğunun (paramanyetik merkez sayısı) zamanla değişimi biliniyorsa, şimdiki yoğunluğundan geçmiş zaman dilimini tespit etmek mümkün olur. Bu nedenle numuneleri suni olarak yaşlandırmak için, laboratuvar da yapay olarak γ radyasyonuna maruz bırakılır. Böylece numune içindeki kusur yoğunluğu radyasyon dozuna bağlı olarak arttırılır. Uygulanan bu işlem bir zaman makinesi gibi çalışır ve “Eklemeli Doz Metodu” olarak tanımlanır.

Kusur yoğunluğu ile orantılı olan ESR sinyal şiddeti, yapay ışınlanmanın soğurulan Q dozunun bir fonksiyonu olarak artar. D' , yapay ışınlanmanın doz hızı ve t' , yapay ışınlama zamanı olmak üzere soğurulan doz aşağıdaki gibi ifade edilir.

$$Q = D't' \quad (15)$$

Özellikle genç numunelerde soğurulan Q dozu ile ESR sinyal şiddeti arasında aşağıda verilen lineer bir bağıntı vardır.

$$I(Q) = I_0 (1 + Q)/D_E \quad (16)$$

Bu ifade kullanılarak çizdirilen doz-cevap eğrisi yardımıyla D_E belirlenebilir. Burada I_0 ve $I(Q)$ sırasıyla ışınlanmadan önce (doğal) ve Q dozunda ışınlanmış örneğin ESR sinyal şiddetleridir. Bazı durumlarda ise büyüme eğrisi aşağıdaki biçimde üstel olarak doyuma giden bir eğriye fit edilir.

$$I(Q) = I_s \{1 - \exp[(-Q + D_E)/SD]\} \quad (17)$$

Bu durum genellikle jeolojik olarak yaşlı örneklerde gözlenir. Burada I_s , doyum (satürasyon) durumunda ESR sinyal şiddeti, SD ise doyum dozudur (Ikeya, 1993).

Eklemeli Doz Metodu yardımıyla çizdirilen ve sırasıyla Denk. (16) ve Denk. (17)'de lineer ve üstel fonksiyonlara uyan doz-cevap eğrisinde en küçük kare fit yöntemi kullanılarak veri noktalarının sıfır ordinata ekstrapolasyonu ile eşdeğer dozu ifade eden D_E değeri belirlenir. Numunelerin yaş hesabı için ESR tekniği ile elde edilecek D_E değerine ek olarak bir yılda soğurduğu radyasyon dozuna karşılık gelen yıllık doz (D) değeri de hesaplanmalıdır. Bunun için kullanılan iki farklı yol vardır. İlki, numunenin alındığı yere dozimetre gömülmesi ve en az 6 ay kalması gereken bu dozimetrenin soğurduğu dozdan hareketle numunenin moleküler yapısı da dikkate alınarak yıllık dozun belirlenmesidir. İkincisi ise, numunenin içindeki ve 30 cm çevresindeki uranyum, toryum ve potasyum radyoaktif madde miktarlarının İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer, ICP-MS) yöntemi kullanılarak hassas bir şekilde (ppm, ppb düzeyinde) belirlenmesi ve literatürde sunulan 1 ppm ^{238}U , ^{232}Th ve %1 K_2O için nükleer veri tablosundaki değerler (Guerin ve ark., 2011) göz önüne alınarak ICP-MS ile elde edilen miktarların kullanılmasıyla yıllık dozun hesaplanmasıdır.

Numunelerin ESR yaşının hesabında, tarihlendirme sinyalini oluşturan radikalın ısıl ömrünün (τ) bilinmesi gerekli ve önemlidir. Radikalın ısıl ömrü, kusur merkezinde tuzaklanan çiftlenimsiz elektronun aktivasyon enerjisi (E) ile yani tuzak derinliği ile orantılıdır. Dolayısıyla, hem ilgili radikalın ESR yaş tayinine uygunluğu hem de bu radikalle elde edilebilecek ESR yaş üst limiti konusunda bilgi sağlar. Bu nedenle ESR tarihlendirme çalışmalarında, radikallerin ısıl davranışlarının incelenerek kararlılıklarının saptanması amacıyla eş-sürelili (isochronal) ve eş-ısıllı (isothermal) tavlama deneylerinin yapılması da önemlidir. Bu çalışmalar sonucu elde edilen verilerle τ ve E hesaplanır (Ikeya, 1993).

ESR yöntemi yaklaşık olarak bin yıllar ile birkaç milyon yıl arasındaki örnekleri tarihlendirmede oldukça başarılıdır. Tarihlendirme üst yaş limiti kullanılan radikalın yarı ömrünün 1-1.5 katı mertebesine kadar çıkabilir. Tarihlendirme yaş limitlerinin tüm Kuvaterner dönemi kapsamı nedeniyle jeolojik ve arkeolojik çok sayıda farklı örneğin tarihlendirilmesinde güvenilirlikle kullanılmaktadır. Diğer tarihlendirme yöntemlerine göre en önemli avantajı geniş tarihlendirme yaş aralığıdır. ESR yönteminin diğer önemli avantajları: (i) hem organik hem de inorganik örneklerin incelenebilmesi, (ii) ölçüm ve hesaplama süresinin makul oluşu, (iii) çevre dostu oluşu, (iv) maliyetinin ucuzluğu, (v) inceleyebildiği örnek çeşitliliğinin fazla olması, (vi) örnek hazırlamanın kolaylığı, (vii) kullanılan örnek miktarının azlığı (~1-2 g), (viii) tarihlendirmedeki hata oranının makul (~5 – 10 %) oluşu ve en önemlisi (ix) örneklerden istenildiği tekrarda ölçüm alınabilmesi yani ölçüm sırasında paramanyetik merkezler sönmeye izin vermesidir. Bir başka önemli avantajı ise, aynı numune için birden fazla paramanyetik merkez kullanarak yaş tayini yapabilesidir (Ikeya, 1988; Hennig ve Grün, 1983). Örneğin; kalsit ve aragonit minerallerinde izotropik SO_3^- , ortorombik CO_2^- ve izotropik CO_2^- sinyalleri, kuvars mineralinde ise Al, Ti, Ge ve E' merkezleri kullanılarak yaş hesaplamak mümkündür (Ikeya, 1993; Blackwell ve ark., 2016).

ESR tarihlendirme yönteminin ilk başarılı uygulaması, Japonya'da yer alan Akiyoshi Mağarası'ndaki Kuvaterner döneme ait $CaCO_3$ oluşumu sarkıt örnekleri için gerçekleştirilmiştir (Ikeya, 1975). Bu öncü çalışmanın ardından, bu alandaki çalışmalar hızlı bir gelişme sürecine girmiş ve antropolojik çalışmalarda kemiklere, sedimentlerdeki kabuklar ve mercanlara, derin deniz sedimentlerindeki planktonik deniz hayvanlarına ve yanmış çakmak taşlarına başarıyla uygulanmıştır. Günümüzde ise ESR, çok sayıda farklı jeolojik ve arkeolojik materyale güvenilirlikle uygulanmaktadır. Paleoklimsel ve/veya paleoortamsal değerlendirmeler yapmak üzere; mağara çökelleri (sarkıt, dikit, akmataş), karasal karbonat çökelleri (traverten, tufa), kaynak birikintileri, kalkrit mineralleri, fosil yumuşakça kavkıları, mercanlar, foraminiferler, anhidrit mineralleri, göl ve deniz birikintileri, fosil yumurta kabukları, zirkon, feldispar ve kuvars içeren kayalar ve çökeller, evaporitler, volkanik taşlar ve başkalaşmış taşlar tarihlendirilmektedir. Bununla birlikte, geçmiş depremlerin jeokronolojisinin tespiti ve olası yeni depremlerin tahmini için kuvars mineralleri kullanılarak fay hatları yaşlandırılmaktadır. Diş minesini ve kemik numuneleri arkeolojik alanların yaşını belirlemek için oldukça önemlidirler ve ESR yöntemiyle başarıyla tarihlendirilebilmektedir. Bu numuneler arkeolojik sahalarda yaygın olarak bulunabileceğinden örnekleme kolaydır ve ESR yönteminde uzun ömürlü radikaller kullanıldığından ^{14}C yönteminin üst yaş limitinin

de ilerisinde yaşların elde edilmesini mümkün kılmaktadır (Grün, 1989; Ikeya, 1993; Rink, 1997; Blackwell ve ark., 2016).

ESR tarihlendirmenin önemli bir özelliği, tuzaklanmış elektron/deşik merkezlerinin yoğunluğunu malzemeleri ısıtmaksızın oda veya düşük sıcaklıkta ölçebilmesidir. Yani, ESR ölçümlerinde yanma söz konusu olmadığı için, organik materyal içeren fosiller de ESR için tarihlendirme materyali olarak kullanılabilir. Hatta bu avantaj, organik materyallerin kendilerinin de ESR ile tarihlendirilebilmesini mümkün hale getirmektedir. Biyolojik malzemelerde organik radikaller, yukarıda ayrıntısıyla bahsedildiği gibi radyasyonla (Gordy ve ark., 1955) oluşabilmelerinin yanı sıra fotokimyasal süreçler, kimyasal ayrışma veya oksidasyon (Fritsch ve ark. 1974) yoluyla da üretilirler. Radyasyon, malzemede radikaller oluşturabilmekte ancak soğurulan doz genel olarak arkeolojik ve tarihi organik materyallerde oksidasyon yoluyla radikal oluşumunun kimyasal süreciyle rekabet etmek için çok düşük kalmaktadır. Çoğu organik radikal türünün ömrü nispeten kısadır. Bu nedenle, organik malzemeler genellikle jeolojik ESR tarihlendirmesinin nesnelere olamazlar, ancak limitler dahilinde tarihi ve adli materyaller için kullanılabilirler. Oksidasyon yoluyla radikal oluşumu ve değerlik değişimi gibi kimyasal reaksiyonlar ESR ile tespit edilebilir ve bu, bir tarihlendirme yöntemi olarak kullanılabilir. Eklemeli ışınlama yapmak yerine, doğal zamanın geçişinde oksidasyon sürecini inceleyen Kimyasal ESR Tarihlmesi (Chemical ESR Dating), ilk olarak patates cipsinin (Ikeya ve Miki, 1980), ardından lipid peroksi radikalleri vasıtasıyla tavşan derilerinin yaş hesabı için kullanılmıştır (Ikeya ve Miki, 1986). Daha sonra ölü hayvanlardan elde edilen deri ve kürk, kan damlası, tarihi kağıtlar ve selüloz, ipek, yün, kahve çekirdeği ve tahıl taneleri gibi organik malzemelerde geçen zamana bağlı olarak kimyasal oksidasyonla oluşan radikaller ESR yöntemiyle incelenmiştir (Ikeya, 1993). Patates cipsi tarihlendirmek için kullanılan sinyal yoğunluğundaki gündün güne artış ölçümleri, adli tıp biliminde kan lekelerinin tarihlendirilmesi için de uygulanabilir. Ayrıca, arkeolojik nesnelere ve tarihi malzemeler, sıcaklık değişimi sınırlaması dahilinde tarihlendirilebilir.

Adli bilim uygulamasında, bir suçun işlendiği zamanın doğru belirlenmesi en önemli ölçülerden biridir ve olay yerinde bulunan çeşitli izler bu amaçla incelenir. Kimyasal ESR tarihlendirme yöntemi organik bazı deliller için faydalı olabilir. Shankar ve ark. (2021) çalışmalarında suç mahallinde bulunabilecek dökülmüş saç tellerinin yaşını tahmin etmek amacıyla ESR yöntemini kullanmışlar ve farklı renklerdeki saçlarda melanin kaynaklı serbest radikallerin zamana bağlı değişimlerini inceleyerek, kontrollü koşullar (nem, sıcaklık, ışık) altında yaşlanan saç tellerinde bu radikallerin zamanla bozulma gösterdiğini belirlemişlerdir. Saçtaki eumelanin (koyu renkli saçların baskın pigmenti) türevi radikallerin kararlı (oda sıcaklığında yarı ömrü 22 ± 2 gün) olduğunu,

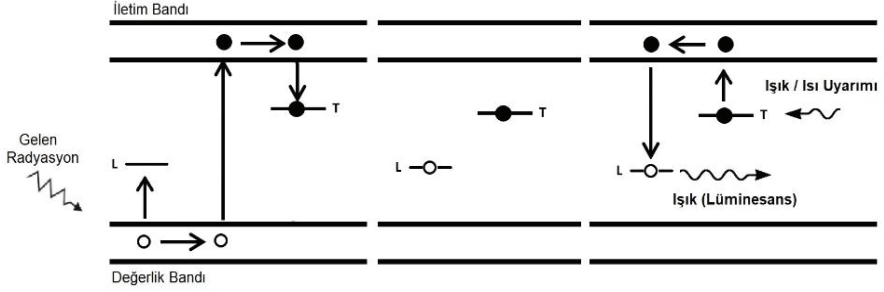
dolayısıyla adli vakalarda olay yerindeki saçların bozulmasını incelemek amacıyla bu radikalın ESR tekniği ile takip edilebileceğini ifade etmişlerdir.

Adli vakalarda oldukça önemli bir diğer iz de kan lekesidir. Fujita ve ark. (2005) çalışmalarında insan kan lekelerinin yaşını tahmin etmek için ESR tekniğinin uygunluğunu ve sınırlamalarını incelemişler, kurumuş kan lekelerinde hemoglobin denatürasyonunun demir iyonunun ESR ile ölçülebilen spin durum değişikliği ile yönetildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, kan lekelerinin 77 K sıcaklığında sırasıyla yüksek-spin heme Fe^{+3} (g6), yüksek-spin nonheme Fe^{+3} (g4), düşük-spin heme Fe^{+3} (H) ve lipid peroksi serbest radikal türleri (R)'ni temsil eden $g=6.2$ (g6), 4.3 (g4), 2.27 (H) ve 2.005 (R) bölgelerinde dört adet dikkat çekici ESR sinyali verdiğini ve kan lekesi yaşının H/g4 sinyal şiddet oranıyla ilişkili olabileceğini ifade ederek, ESR yöntemiyle kanamadan sonra geçen sürelerin 2 gün ile 2.5 yıl arasında olduğunu bildirmişlerdir. Kan lekeleriyle ilgili Miki ve ark. (1987) tarafından yapılan çalışmada da $g=4.3$ 'te sinyal veren yüksek-spin nonheme Fe^{+3} sinyalinin (g4), kanama veya yaralanmadan sonraki süreyi tahmin etmek amacıyla ($I_{4.3}/I_{6.0}$ veya $I_{4.3}/I_R$ ölçülerek) kullanılabilmesi belirtilmiştir. Ancak, çevresel faktörler (nem, ışığa maruz kalma, depolama sıcaklığındaki dalgalanmalar) kanamanın meydana gelmesinden bu yana geçen sürenin yanlış tahmin edilmesine neden olabileceği için bu faktörlerin dikkate alınması gereklidir. Ayrıca, ESR ölçümleri tahribatsız olsa da kan substratlarının 77 K sıcaklığına kadar soğutulması gerekir ve tüm substratlar bu koşullara dayanmak için uygun olmayabilir (Fujita ve ark., 2005; Bremmer ve ark., 2011, 2012).

2.2. Lüminesans Tarihlendirme Yöntemleri

Fosfor olarak adlandırılan yalıtkan ya da yarı iletken bir madde radyasyona maruz kaldığında, gelen radyasyon enerjisinin bir kısmını soğurur. Enerjinin soğurulmasından sonraki bir süreçte fosforun ısı ve ışık gibi bir kaynakla uyarılması durumunda ise soğurulan bu enerji ışık olarak yeniden yayılır. Bu türden ışığın yayılması olayında, yayılan ışığın dalga boyu ışımaya yapan fosforun karakteristiğini yansıtır ve bu olay "lüminesans" olarak adlandırılır. Lüminesans olayının fotolüminesans, termolüminesans, sonolüminesans, katodolüminesans, elektrolüminesans, optik uyarımlı lüminesans gibi birçok çeşidi bulunmaktadır. Örneğin lüminesans özellik gösteren fosforlar ısı ya da ışıkla uyarıldıklarında fiziksel olarak meydana gelen ışımaya olayları, ısıtma ile uyarım yapıldığında Termolüminesans (TL), ışıkla uyarım yapıldığında ise Optik Uyarımlı Lüminesans (OSL) olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde TL ve OSL yöntemleri, tıp alanında teşhis ve tedavide maruz kalınan radyasyon dozlarının belirlenmesi, dozimetrik malzemelerin incelenmesi, kişisel ve çevresel radyasyon dozlarının ölçülmesi gibi alanlarda

kullanıldığı gibi arkeolojik ve jeolojik eserlerin tarihlendirilmesi çalışmalarında da kullanılan önemli yöntemlerdendir. Lüminesans özellik gösteren bir fosforda radyasyon enerjisinin depolanması ve fosforun kontrollü olarak ısıtılması ya da ışıkla uyarılması sonucunda meydana gelen olaylar Şekil 4’te görülmektedir.



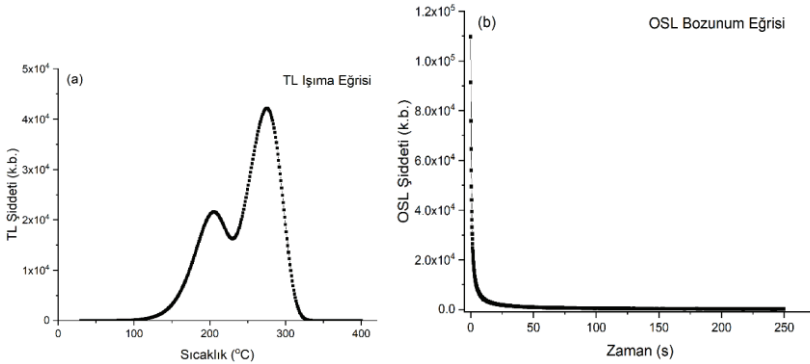
Şekil 4. Lüminesans mekanizmasının temel yapısı.

Şekilden görüldüğü gibi iyonlaştırıcı radyasyon fosforun içinden geçerken hem serbest elektronlar hem de boşluk oluşturur. Değerlik bandında yer alan serbest elektronlar yasak enerji aralığını aşır kısa bir süreliğine iletim bandına geçerler ve değerlik bandına geri dönüşleri sırasında fosforun kafes yapısında bulunan ve elektron tuzakları olarak görev yapan kristal kusurlarının oluşturduğu bu tuzaklara yakalanırlar. Gelen radyasyonun şiddeti ne kadar yüksekse ya da fosfor ne kadar uzun süre radyasyona maruz kalmışsa tuzaklara yakalanan elektron sayıları da o kadar fazla olacak ve kristal kusurları çevresinde tuzaklara yakalanan elektron yoğunlukları o kadar artacaktır. Kararlı ve derin tuzaklara yakalanan elektronlar iç ve dış etkilere maruz kalsalar dahi uzun yıllar boyunca tuzaklarda kalmaya devam ederler (Aitken, 1998; Furetta ve Weng, 1998; Munyikwa, 2014). Fosforun uygun bir sıcaklığa kadar ısıtılması ya da uygun dalga boyuna sahip bir ışıkla uyarılması sonucunda elektronlar tuzak derinliklerine bağlı olarak buldukları tuzaklardan yavaş yavaş kurtulurlar. Tuzaklardan (T) çıkan elektronlar, yeniden birleşme merkezi olarak adlandırılan lüminesans merkezlerinde (L) boşluklarla birleştiğinde sahip oldukları enerji ışık olarak yayılır. Yayılan ışığın şiddeti tuzaklardan çıkan elektronların yoğunluğuyla dolayısıyla da fosforun soğurduğu radyasyon enerjisi ile orantılıdır. Böylece yayılan ışık uygun bir dedektör ve cihazla kaydedilebilir. Kaydedilen lüminesans şiddetinin, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak çizilmesi sonucunda TL ışınma eğrileri (Şekil 5a), zamanın bir fonksiyonu olarak çizilmesi sonucunda da OSL bozunum eğrileri (Şekil 5b) elde edilir.

Jeolojik/arkeolojik materyallerin yaşlarının belirlenmesinde kullanılan önemli yöntemlerden biri de lüminesans tarihlendirme tekniğidir. Toprak, tuğla/kiremit, çanak, çömlek parçaları, sediment, kum

taşı, seramik, porselen, çökeltiler, volkanik tüf, kalsit (sarkıt-dikit), çakmaktaşı, göktaşları ve cam (Aitken, 1985; 1998) gibi materyallerin yaşları lüminesans (TL ya da OSL) tarihlendirme teknikleri kullanılarak tespit edilebilmektedir. Yapılan tarihlendirme çalışmalarında, bir takım kimyasal ayrıştırma teknikleri kullanılarak bu malzemelerden özellikle kuvars ve feldspat olmak üzere kalsit ve zirkon gibi mineraller ayrıştırılıp ayrıştırılan bu minerallerin en son ısı ya da ışık gördükleri zaman belirlenebilmektedir. Böylece kullanılan mineralin özelliğine ve tarihlendirme çalışmalarında başvurulan lüminesans tekniğine bağlı olarak 10 yıl gibi küçük zaman dilimlerinden bir milyon yıla (Munykıwa, 2014) kadar tarihlendirme yapılabilir.

Lüminesans mekanizmasının işleyişi kısaca özetlenecek olursa, tarihlendirme çalışmalarına konu olan materyallerin kristal yapılarında mevcut bulunan elektron tuzakları ısı ya da ışık gördüklerinde boşalır ve lüminesans saati sıfırlanır. Meydana gelen bu olaydan sonra bu materyallerin toprak altında kaldıkları süre boyunca çevrelerini saran ya da kendi yapılarında bulunan U, Th ve K gibi doğal radyoaktif elementlerden ve kozmik ışıklardan kaynaklı radyasyonların etkisi ile elektron tuzakları tekrar dolar. Lüminesans saatinin tekrar işlemeye başladığı bu süreçte söz konusu materyal, ısı ya da ışık görmeden geçirdiği süre boyunca radyasyonu soğurur. Materyalin son sıfırlanma olayından sonra soğurduğu ve “eşdeğer doz” (D_E) olarak adlandırılan niceliğin materyalin gömülü bulunduğu çevreye ait “yıllık doz”a oranı bu materyalin yaşını verir ve böylece son ısı ya da ışık gördüğü zaman belirlenmiş olur (Aitken, 1985). Bir materyalin yaşı, $t = \text{eşdeğer doz} / \text{yıllık doz}$ şeklinde basit bir matematiksel ifade kullanılarak hesaplanabilir. Bu yaş eşitliğinde verilen eşdeğer doz ya da diğer bir adıyla paleodoz, materyalin toprak altında kaldığı süre boyunca çevresinde ya da kendi yapısında bulunan radyoaktif kaynaklardan soğurduğu toplam radyasyon dozu, yıllık doz ise materyalin gömülü olduğu çevrede 1 yılda maruz kaldığı radyasyon dozudur.



Şekil 5. (a) TL ışımaya (Yüksel, 2018) ve (b) OSL bozunum eğrileri.

Yaş tayini yapılacak olan ve toprak altından alınan materyallerden, bir takım kimyasal ayrıştırma teknikleri kullanılarak kuvars, feldspat gibi minerallerin ayrıştırılması ve örneklerin ölçüme hazır hale getirilmesi süreci tarihlendirme çalışmalarının olmazsa olmazlarından. Örneğin kuvars minerali ile çalışılmak isteniyorsa toprak altından alınan materyalin içerisinde bulunabilecek olan kuvars dışındaki feldspat, florit, organik yapılar, karbonat ve demir gibi materyallerin mutlaka temizlenmesi gerekir. Bu temizleme ve ayrıştırma sürecinde ıslak eleme yapılması, hidroklorik asit, hidrojen peroksit, hidroflorik asit gibi kimyasallarla aşındırma sonrasında saf su ile yıkama etüvde kurutma gibi birtakım işlemlerin uygulanması ve gerektiğinde ağır sıvı ayrıştırıcılar ile çalışılmak istenen mineralin elde edilmesi gerekmektedir. Tarihlendirme işleminde kullanılacak olan mineralin türüne ve boyutuna göre bu süreç farklılıklar göstermekte olup yayımlanmış olan birçok çalışmada bu süreçler detaylı olarak anlatılmakta olduğundan ilgili kaynaklardan faydalanılabilir.

Herhangi bir materyalin yaş tayininin yapılması çalışmalarında D_E , doz yenileme veya doz ekleme yöntemleri kullanılarak belirlenmektedir. Doz yenileme yönteminde, mineral örneklerinden birine herhangi bir laboratuvar dozu ilavesi yapılmadan D_E belirleme protokolü uygulanarak TL ya da OSL ölçümü yapılır. Yapılan ölçüm sonucunda elde edilen doğal TL ya da OSL sinyali materyalin toprak altında kaldığı sürece maruz kaldığı toplam radyasyon dozuna (D_E) karşılık gelir. Ölçüm yapılan minerale ait sinyaller sıfırlandıktan sonra mineral her seferinde farklı ve artan miktarlarda dozlar verilerek her bir doz için uygulanan protokol tekrarlanır. Ölçüm sonuçlarının analiz edilmesi sonucunda **Şekil 6a**'da görülen doz-cevap grafiği çizilir. Grafik yardımıyla ölçüm noktalarına karşılık elde edilen doğru denklemi ($y=mx+n$) belirlenerek bu denklem yardımıyla ilk ölçümde elde edilen doğal lüminesans sinyaline karşılık gelen D_E belirlenebilir.

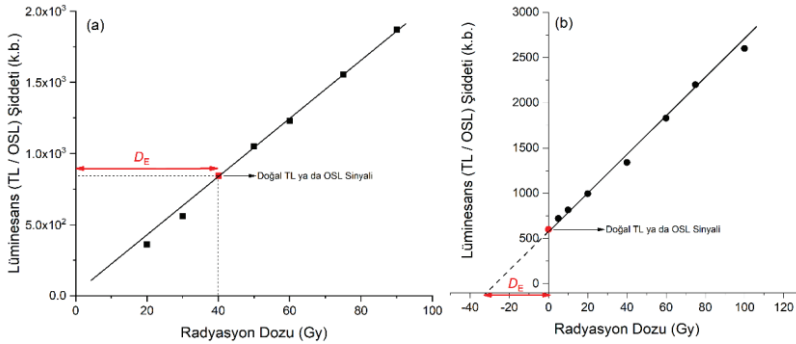
Doz ekleme yöntemi ile D_E 'nin belirlenmesi çalışmalarında ise mineral örneklerinden birkaç grup halinde birçok örnek hazırlanır. Hazırlanan örneklerden bir grup dışındaki diğer gruplara laboratuvar da farklı ve artan miktarlarda ilave dozlar verilir. Hazırlanan her gruba D_E belirleme protokolü uygulanarak TL ya da OSL ölçümü yapılır. Yapılan ölçüm sonucunda bilinen ilave laboratuvar dozları ile elde edilen sinyaller ölçeklendirilerek **Şekil 6b**'de görüldüğü gibi doz-cevap grafiği çizilir. İlave laboratuvar dozu verilmeyen gruptaki örneklerden elde edilen sinyaller yardımıyla D_E tespit edilir. Bu yöntemin uygulanması sırasında tüm örnekler için sinyaller mutlaka normalize edilmelidir.

Tarihlendirme çalışmalarına bazı temel varsayımlarla başlanmaktadır. Bu varsayımların ilki, materyalin en son ısı ya da ışık gördüğü anda lüminesans saatinin sıfırlanmış olduğunun ve bu an itibarı ile materyalin içinde tuzaklanmış hiçbir yükün olmadığı kabulüdür.

İkinci varsayım ise materyalin gömülü bulunduğu zaman dilimi içerisinde maruz kaldığı doz hızının zamanla değişmediğinin kabulüdür. Bu varsayımlar ışığında, yıllık dozun belirlenmesi için doğrudan ya da dolaylı birtakım yöntemler kullanılmaktadır (Hossain, 2003).

Yıllık dozun doğrudan belirlenmesi için kazı alanına termolüminesans dozimetreler (TLD) gömülerek gama ve kozmik radyasyon katkıları belirlenebilmektedir. Beta radyasyonunun yıllık doza katkısı ise laboratuvar ortamında yapılan çalışmalarla yine TLD'ler kullanılarak yapılmaktadır (Ege ve ark., 2009). Yıllık dozun TLD'ler kullanılarak hesaplanması sürecinde ölçüm hatalarını en aza indirmek için dozimetreler en az 1 yıl gömülü olarak tutulmalı ve toprağın nemlilik analizleri mutlaka yapılmalıdır.

Yıllık dozun dolaylı olarak belirlenmesi için kazı alanından alınan toprak örneklerinin doğal radyoaktivite değerlerinin ölçülmesi ve bu ölçümler sonucunda elde edilen aktivite değerlerinin radyasyon dozu karşılıklarının hesaplanması gerekmektedir. Bu ölçüm işlemleri, nötron aktivasyon analizi, alfa ve beta sayımı, gama spektrometresi ile aktivite analizi ve kütle analizi yapılabilen ICP-MS gibi yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir.



Şekil 6. (a) Doz yenileme yöntemi ve (b) doz ekleme yöntemi.

2.2.1. Termolüminesans (TL) Tarihlendirme

Termolüminesans (TL) olayına ait ilk gözlem 1663 yılında Boyle tarafından yapılmış olmasına rağmen TL ilk olarak 1885 yılında Becquerel tarafından tespit edilmiştir. TL yöntemi kullanılarak arkeolojik ve jeolojik eserlerin yaşlarının belirlenebileceğine dair ilk öneri, 1953 yılında Daniels ve arkadaşları (Daniels ve ark., 1953; Aitken, 1964) tarafından Wisconsin Üniversitesi'nde yapılmıştır. TL yöntemi kullanılarak yapılan ilk tarihlendirme çalışması Roma dönemine ait seramik ve yanmış tuğla örnekleri ile Bern Üniversitesi'nde çalışan Grögler ve arkadaşları tarafından yapılmış olup (Grögler ve ark., 1958)

bu çalışmayla birlikte TL yönteminin tarihlendirme çalışmalarında kullanılabileceği açıkça ortaya konmuştur.

Tarihlendirme çalışmalarında toprak altından alınan çanak, çömlek ve seramik gibi birçok kalıntının en son ısı gördüğü zamanın belirlenmesi için kullanılan teknik TL tarihlendirme tekniğidir. Bu teknikte, ayrıştırma işlemleri yapıp mineral ölçüme hazır hale getirildikten sonra hazırlanan mineral örnekleri oda sıcaklığından belirli bir sıcaklığa kadar sabit bir sıcaklık artışı uygulanarak ısıtılır. Isıtma sırasında, kristal yapıda farklı derinliklerde bulunan tuzak gruplarının sıcaklığı, kendilerine özgü olan boşalma sıcaklıklarına ulaştığında tuzaklar sırasıyla boşalır. Böylece lüminesans mekanizması işlemeye başlar ve TL ölçümü yapılan mineralden bir ışık çıkışı meydana gelir. Çıkan ışık TL cihazı içerisinde bulunan dedektörlerle kaydedilerek sıcaklığa karşılık ışımaya şiddetini gösteren **Şekil 5a**'da da görüldüğü gibi bir TL ışımaya eğrisi elde edilir ki bu ışımaya eğrisinin altında kalan alan ya da her bir TL ışımaya tepesine ait şiddet (TL sinyali), mineralin maruz kaldığı radyasyonla orantılıdır. Elde edilen sinyalin değeri **Şekil 6a** ve **Şekil 6b**'de de görüldüğü gibi "doğal TL sinyali" olup mineralin maruz kaldığı radyasyon dozuna (D_E) karşılık gelir. TL yöntemi ile belirlenen D_E yıllık doza bölünerek tarihlendirme işlemi tamamlanır.

2.2.2. Optik Uyarımlı Lüminesans (OSL) Tarihlendirme

TL yönteminin tarihlendirme çalışmalarında kullanılabilecek önemli bir yöntem olduğunun ortaya çıktığı dönemlerde yapılan çalışmalar sonucunda yalıtkan ya da yarı iletken materyallerin ışıkla uyarılması sonucunda da lüminesans gözlemlendiği tespit edilmiştir. Tuzaklanmış elektronların tuzaklardan kurtulması için mavi, yeşil ya da kızılötesi (infrared, IR) ışığın kullanılabileceğinin belirlenmiş olması (Munywka, 2014) OSL yöntemi ile de tarihlendirme çalışmalarının yapılabileceği gerçeğini gözler önüne sermiştir. Buna bağlı olarak 1985 yılında Huntley ve arkadaşları sediment örneklerinin yaşlarını OSL yöntemi ile belirlemişlerdir (Huntley ve ark., 1895). Sonraki yıllarda, kuvars mineralinin mavi ışıkla ve feldspat mineralinin kızılötesi ışıkla uyarılmasına dayalı birçok protokolün geliştirildiği ve bu protokollerin OSL tarihlendirme çalışmalarına kaynaklık ettiği yıllar olmuştur (Wintle, 2008). Yakın dönemde, IR uyarımla antropolojik açıdan kemik ve dişlerin (Meriç ve ark., 2008), kumlu çökeltilerin kullanılması ile tsunami yataklarının gömülme yaşlarının (Huntley ve Clague, 1996; Riedesel ve ark., 2018), yaşam alanlarının peyzaj evrimlerinin, yerleşim ve iklim değişikliklerinin (Bailiff ve ark., 2014) ve kültürel bir kronoloji oluşturmaya dönük olarak iskelet kalıntılarının ve kafatasına gömülü tortuların (Lail ve ark., 2013) tarihlendirme çalışmalarının OSL yöntemi kullanılarak yapıldığı görülmektedir.

OSL yönteminde, elektronların tuzaklardan doğrudan dışarı atılma hızı materyal üzerine gelen fotonlara bağlı olup bazı tuzakların gelen fotona duyarlılıklarının farklı olması elektron çıkışını etkilemektedir. Tarihlendirmede kullanılan minerallerinin ışıkla uyarılması sırasında ilk aşamada tuzaklardan kurtulan elektronların yoğunluğuna bağlı olarak dedektör tarafından kaydedilen ışık yoğunluğu da oldukça yüksek olmaktadır. Uyarım devam ettikçe ışık yoğunluğu kademeli olarak azaldığından elde edilen OSL sinyali **Şekil 5b**'de de görüldüğü gibi üstel bir azalış göstermektedir. Bu nedenle zamana karşılık OSL şiddetini gösteren bu eğriye OSL bozunum eğrisi adı verilmektedir.

Çalışma alanından alınan arkeolojik ya da jeolojik kalıntıların en son ışık gördüğü zamanın belirlenmesi için kullanılan teknik OSL tarihlendirme tekniğidir. OSL tarihlendirme tekniğinde, TL tekniğinde olduğu gibi mineraller ölçüme hazır hale getirilip örnekler hazırlanır. Hazırlanan örneklerdeki mineralin özelliğine göre seçilmiş olan OSL yaş tayini protokolü kullanılarak örnekler mavi, yeşil ve IR gibi farklı ışık kaynakları ile uyarılırlar. Bu uyarımlar yapılırken seçilmiş protokole uygun olacak şekilde ön ısıtma, kesme sıcaklığı gibi istenmeyen TL sinyallerinin silinmesi için bir takım ısısız uyarım yöntemleri de kullanılabilir. OSL ölçümlerinin tamamlanmasından sonra elde edilen bozunum eğrileri analiz edilerek mineralin maruz kaldığı radyasyon dozuna karşılık gelen sinyalin değeri **Şekil 6a** ve **Şekil 6b**'de de görüldüğü gibi “doğal OSL sinyali”dir. OSL yöntemi ile belirlenen D_E yıllık doza bölünerek tarihlendirme işlemi tamamlanır.

2.3. Nükleer İzler ve Fizyon İzleriyle Tarihlendirme Yöntemi

Elektrik yüklü atom çekirdekleri yalıtılan katı bir madde içinde hareket ederken hareket doğrultusu boyunca o madde içinde, aynı çamurda yürüyen bir insanın arkasında bıraktığı gibi iz bırakır. Oluşan bu hasar izine “yüklü parçacık izi” veya “nükleer iz” denir. Meydana gelen izleri kaydeden bu katiya da dedektör adı verilir. Örneğin bir alfa parçacığı helyum atomunun yüklü çekirdeğidir, önüne bir plastik yerleştirildiği zaman plastikte iz bırakır. Aynı şekilde bazı radyoaktif çekirdekler özellikle atom numarası büyük olanlar bazen kendiliğinden bazen de nötronlarla bombardıman edildiğinde çok yüksek enerjili ve iyonize edebilme özelliği olan yüklü çekirdeklere bölünürler. Atom çekirdeğinin bu şekilde bölünmesine fizyon (fizyon) denir. Fizyon olayı sonunda ortaya çıkan yüklü enerjik çekirdekler de buldukları ortamda hareket ederken arkalarında iz bırakırlar. Örneğin, camsı bir yapıya sahip olan obsidiyen içinde doğal olarak bulunan ^{238}U kendiliğinden fizyona uğrar ve obsidiyen içinde iz bırakır, burada dedektör obsidiyenin kendisidir. Kendiliğinden fizyon olayı sadece ağır çekirdeklerin atom numaralarının $Z > 90$ ve kütle numaralarının $A > 230$ olduğu durumlarda

meydana gelir. Fizyona uğrayan bu çekirdekler periyodik cetvelde aktinit serilerine ait olan elementlerin izotoplarıdır. Oluşan bu nükleer izinin uzunluğu, dedektörün yapısına yani katıya, parçacığın enerjisine ve yüke bağlı olarak değişir. İzlerin uzunluğu 1 μm ile birkaç mm arasında değişmektedir. İzlerin genişliği ise 6-10 nm mertebesindedir. Çok küçük olan bu nükleer izleri direkt olarak elektron mikroskopları ile gözlemek mümkün olsa da genellikle iz oluşan maddenin uygun kimyasallarla yıkanmasından sonra optik mikroskop altında gözlenmesi ve sayılmasıyla gerçekleştirilir (Bean ve ark., 1970). Kimyasal yıkama şartlarının önceden belirlenmesi gerekmektedir. Bu işlemde kullanılan kimyasalların konsantrasyonu, sıcaklık ve yıkama süreleri fizyon izlerinin görülmesi için önemli parametrelerdir. Fizyon izi tarihlendirmesinde kullanılan minerallerde izlerin ortaya çıkması için kullanılan kimyasalların konsantrasyonu ve bunların uygulanma süreleri ve sıcaklıkları Hamilton'un yaptığı çalışmalarda (Hamilton, 1965) ayrıntılı olarak verilmektedir.

Katılarda, özellikle dielektrik ve yalıtkan maddelerde fizyon iz oluşumunu anlayabilmek için katıya çarpan yüklü parçacıkların davranışlarına bakmak gerekmektedir. Yüklü parçacık, katı madde içerisinde yüksek bir hızla ilerlerken bu madde ile etkileşimde bulunur. İz oluşmasını sağlayan yüklü parçacık katı madde ile iki türlü etkileşime girer: (1) Gelen parçacıklar, katı maddenin atomlarıyla esnek veya esnek olmayan çarpışmalar sonucunda yer değiştirebilirler. (2) Katı madde içerisinde hareket eden yüklü parçacık, içinden geçtiği maddedeki atomların elektronlarını kopartır ve oluşan aynı yüklü iyonlar da birbirini iteceği için madde içinde boşluklar oluşur. Bu etkileşim parçacık durana kadar devam eder ve bu sırada parçacığın kinetik enerjisinde azalma meydana gelir. Burada parçacığın yer değiştirme uzunluğuna "menzil", bu menzil boyunca parçacığın kaybettiği enerjinin uzunlukla değişim hızına, $-dE/dx$, ise "durdurucu güç" denir (Fleischer ve ark., 1965).

Fizyon izi tarihlendirmesi, kıtasal kabuğun ısıl tarihini, volkanik olayların zamanlamasını, farklı arkeolojik eserlerin kaynağını ve yaşını anlamada önemli bir etkiye sahip olan radyometrik tarihlendirme yöntemlerinden biridir. Fizyon izleriyle tarihlendirme yöntemi örnek içerisindeki ^{238}U miktarının ölçülmesine ve kendiliğinden fizyona uğradığında bıraktığı izlerin sayılmasına dayanır. Doğada $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ oranı bilindiğinden, ^{238}U miktarı, ^{235}U miktarının ölçülmesiyle belirlenir. Çünkü ^{235}U 'nun fizyona uğrama tesir kesiti ^{238}U 'dan yüksektir. Tarihlendirilecek örneğin bir parçası üzerinde izler direkt ölçülerek ^{238}U 'nun kendiliğinden (ρ_s) izleri saptanırken, diğer parça nötronlarla ışınlanarak ^{235}U 'nun fizyonu sonunda oluşan izlerin (ρ_i) sayımı yapılır.

Doğru ve kesin tarihlendirme yapılabilmesi için çok sayıda fizyon izi sayılabilir olmalıdır. Birim alana, cm^2 , düşen fizyon izi yoğunluğu 10'dan az ise bu örneklerde yaş hesaplamalarında güçlükler yaşanmaktadır.

Fakat, birçok mineral ve camda birkaç yüz ya da birkaç bin fizyon izi mevcuttur. Doğal ve yapay olarak elde edilen fizyon izleri optik mikroskop ile sayımı yapıldıktan sonra aşağıda verilen yaş eşitliği ile örneğin fizyon izi yaşı (t) elde edilir (Price ve Walker, 1963).

$$t = 1/\lambda_d \left\{ \ln \left[1 + (\lambda_d/\lambda_f) \left(\frac{\rho_s}{\rho_i} \right) g I \sigma \phi \right] \right\} \quad (18)$$

Burada; $\lambda_d=^{238}\text{U}$ için toplam bozunma sabiti (1.551×10^{-10} yıl⁻¹; Jaffey ve ark., 1971), $\lambda_f=^{238}\text{U}$ (7.03×10^{-17} yıl⁻¹; Roberts ve ark., 1968) atomunun kendiliğinden fizyonu için bozunma sabiti; $\sigma=^{235}\text{U}$ (580×10^{-24} cm²; Hanna ve ark., 1969) atomunun termal nötron kaynaklı fizyonu için tesir kesiti, $I=^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ izotopik oranı (7.252×10^{-3}), Φ =termal nötron akısı (nötronlar/cm²), g =geometrik faktör (cam için 1'e eşittir-IPTFT metodu; Zirkon dış dedektör yöntemi için 0.5), $\rho_s=^{238}\text{U}$ atomundan doğal oluşan alansal iz yoğunluğu (izler/cm²), $\rho_i=^{235}\text{U}$ atomundan yapay alansal iz yoğunluğu (izler/cm²) olarak verilir. Denk. (18)'de verilen parametrelerin değerleri yerine yazılarak aşağıdaki yaş denklemi elde edilir.

$$t = 6.45 \times 10^9 \left\{ \ln \left[1 + 9.28 \times 10^{-18} \left(\frac{\rho_s}{\rho_i} \right) \Phi \right] \right\} \quad (19)$$

İzlerin büyüklüğü malzemenin içinde bulunduğu ortamın sıcaklığına ve süresine bağlı olduğu için nükleer iz yönteminin en önemli kullanım alanlarından biri de yer üst kabuğunun ısıl tarihinin incelenmesi olmuştur. Fizyon izleriyle tarihlendirme çoğunlukla volkanik camlarda kullanılır. Bu camlar; süngertaşı (Fleischer ve ark., 1965f), obsidiyen (Fleischer ve ark., 1965g, Miller ve Wagner, 1981) ve basaltik derin su camlarıdır (Storzer ve Selo, 1978). Ayrıca, yüksek uranyum içeren apatit, zirkon, sfen, epidot, allanit, titanit ve monazit mineralleri fizyon izi tarihlendirmesi için uygun materyallerdir. Bu mineralleri ay taşı, tektit, meteorit, volkanik ve yapay cam gibi materyaller içerisinde ihtiva edebilirler. Fizyon izleri, materyallerin ısınması veya iyonların doğal difüzyonu ile silinebilmektedir. Bu durum fizyon izlerinin tarihlendirmesinde problem oluşturmaktadır. Zirkon ve titanit gibi mineraller ısıya karşı dayanıklı oldukları ve izler silinmeye uğramadıkları için fizyon izi tarihlendirmesinde tercih edilen minerallerdir. Fizyon izi tarihlendirme yöntemi, volkanik cam ve zirkonlara başarılı bir şekilde uygulanabildiği için Kuvaterner silisik volkanizmadan etkilenen bölgelerde Kuvaterner olayların açıklanmasında faydalı bir yöntemdir (Walker, 2005). Fizyon izi tarihlendirmesi arkeoloji yönünden de önemli bir yere sahiptir. Bu yöntemin arkeolojiye uygulanması ile tarihsel değeri olan birçok eser zirkon minerali kullanılarak yaşlandırılmıştır (Wagner, 1978, 1981).

Arkeolojik olarak obsidiyenlerin tarihlendirilebilmesi için kullanıldığı tarihte yanmış veya ısıtılmış olmaları gerekmektedir. **Şekil 7a**'da kullanıma hazırlanmış obsidiyen malzemeler ve **Şekil 7b**'de ise tarihlendirme için kimyasal yıkama işleminden sonra optik mikroskopta görüntülenen fizyon izleri gösterilmiştir. Yangın geçirmiş tabakalardan toplanan obsidiyenlerle, tabakanın yanma tarihi, yanmamış obsidiyenlerle de onların oluşum yaşı yani volkanik patlamaların yaşını saptayarak onlara ait kaynak belirleme çalışmaları yapılmıştır (Yeğingil ve Göksu, 1981; Yeğingil 1991; Bigazzi ve ark., 1990).

Her tarihlendirme yönteminde olduğu gibi fizyon izleri ile tarihlendirmenin de sorunları ve hata kaynakları vardır. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz: (1) Her şeyden önce kendiliğinden fizyon olayının yarılanma süresi tam olarak bilinmemektedir. Bundan dolayı beklenen hata %5'den az olamaz. (2) Kimyasal yıkama işlemi sırasında bazı izler, özellikle yüzeye yatay olan fizyon izleri, kaybolabilir. (3) İzlerin zamanla solup kaybolması (fading) söz konusu olabilir. (4) Yaş tayini yapılan madde içinde bulunan uranyum o madde içinde düzgün dağılmamış olabilir. (5) Radyoaktif parçalanmanın doğasından kaynaklanan istatistiksel hatalar söz konusu olabilir. Belirtilen sorunlar ve hatalar göz önüne alındığında fizyon izi tarihlendirmesi ile elde edilen yaştaki hata %10'dan az değildir.



Şekil 7. (a) Kullanım için hazırlanmış obsidiyen malzemeler, (b) fizyon izleri (Göksu ve ark., 1991).

Fizyon izleri yöntemi adli bilimlerde, yüklü parçacıklar plastik üzerinde iz bıraktıkları için, illegal radyoaktif madde kaçakçılığının saptanmasında kullanılabilir. Yasadışı radyoaktif madde kaçakçılığının radyoaktivitenin ortaya çıktığı ilk günlerinden beri var olduğu bilinmektedir. Nükleer adli tıp, radyoaktif endüstrinin materyallerini ve süreçlerini tanımakla ilgilenir. Malzemelerin özellikleri, malzemenin kaynağı ve orijinal kullanımı hakkında ipucu verebilir. Yasadışı kaçakçılığın en yaygın radyoaktif malzemesi uranyumdur. Uranyum, her yerde bulunabilen yaygın doğal bir elementtir. Uranyumun doğal zenginleşmesi, %0.72 civarında küçük bir aralıkta değişmektedir ve bu da uranyum kaynağının bir göstergesidir. Antropojenik uranyumun zenginleştirilmesi, malzemenin amacına ve kullanımına bağlı olarak

değişebilir. Nükleer enerji santralleri, araştırma reaktörleri ve askeri kullanımlar için farklı zenginleştirmeler mevcuttur. Uranyumun özelliklerinin ölçülmesi, zenginleşmesini, diğer elementlerin yani safsızlıkların varlığını ve niteliğini gösterebilir, bu da kökenini bulmaya yardımcı olabilir. Bulunan malzemenin geçmişi hakkında daha fazla bilgi edinmek için doğru izotopik ölçümlere ihtiyaç vardır. ^{230}Th ve ^{234}U arasındaki oran, malzemenin son kimyasal temizliğinden ne kadar zaman geçtiğine dair iyi bir tahmin verebilir. Bu işlem geliştirilen Lexan dedektörleri üzerinde oluşan fizyon izinin sayılması ile gerçekleştirilmektedir (Halevy ve ark., 2018).

KAYNAKLAR

- Aitken, M.J.: Thermoluminescence Dating, London: Academic Press (1985)
- Aitken, M.J.: Science-based dating in archaeology, Taylor&Francis Group, London (1990)
- Aitken, M.J.: An Introduction to Optical Dating, Oxford: Oxford University Press (1998)
- Aitken, M.J., Tite, M.S. and Reid, J.: Thermoluminescent dating of ancient ceramics, *Nature* 202, 1032-1033 (1964)
- Arnold, J.R.; Libby, W.F.: Age Determinations by Radiocarbon Content: Checks with Samples of Known Age, *Science*. 110 (2869): 678–80 (1949)
- Bailiff, I.K., French, C.A., Scarre, C.J.: Application of luminescence dating and geomorphological analysis to the study of landscape evolution, settlement and climate change on the Channel Island of Herm, *Journal of Archaeological Science*, 41, 890-903 (2014)
- Bean, C.P., Doyle, M.V. and Entine, G.: Etching of submicron pores in irradiated mica, *J. Appl. Phys.* 141, 1454-1459 (1970)
- Bekaroglu, E.: Radyometrik Tarihleme Metodları, Kitap: Coğrafya Araştırma Yöntemleri, Arı Y. ve Kaya İ. (ed.) Coğrafyacılar Derneği, Balıkesir (2013)
- Blackwell, B.A.B., Skinner, A.R., Blickstein, J.I.B., Montoya, A.C., Florentin, J.A, Baboumian, S.M., Ahmed, I.J., Deely, A.E.: ESR in the 21st century: From buried valleys and deserts to deep ocean and tectonic uplift, *Earth Science Reviews*, 158, 125-159, (2016)
- Bigazzi, G., Marton, P., and Rozloznik, L.: Fission Track Dating of Carpathian obsidian and Provenance identification, *Radiation Measurements*, 17, 391-396 (1990)
- Bourdon, B., Henderson, G.M., Lundstrom, C.C. and Turner, S.P. (Eds.): Uranium-series Geochemistry, Washington, DC (Mineralogical Society of America) (2003)
- Bradley, R.S.: Paleoclimatology: Reconstructing Climates of the Quaternary, Elsevier, China, pp55-101 (2015)
- Bremmer, R.H., Nadort, A., Van Leeuwen, T.G., Van Gemert, M.J. ve Aalders, M. C.: Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using reflectance spectroscopy, *Forensic Science International*, 206 (1-3), 166-171 (2011)
- Bremmer, R.H., de Bruin, K. G., van Gemert, M.J., van Leeuwen, T.G. ve Aalders, M.C.: Forensic quest for age determination of bloodstains, *Forensic Science International*, 216 (1-3), 1-11. (2012)
- Brock F., and Cook G.T.: Forensic Radiocarbon Dating of Human Remains: The Past, the Present, and the Future, *Archaeological and Environmental Forensic Science*, 3-16 (2017)

CalPal: <http://www.calpal-online.de/>, Erişim tarihi: 06.04.2021

Cheng, H., Edwards, R.L., Hoff, J., Gallup, C.D., Richards, D.A. and Asmerom, Y.: The half lives of uranium-234 and thorium-230, *Chemical Geology*, 169: 17-33 (2000)

Dalrymple, G.B. and Lanphere, M.A.: *Potassium-Argon Dating: Principles, Techniques, and Applications to Geochronology*, Freeman and Company, San Francisco (1969)

Dalrymple, G.B. and Lanphere, M.A.: 40Ar/39Ar technique of K/Ar dating: a comparison with the conventional techniques: *Earth and Planetary Science Letters*, 12(3), 300-308 (1971)

Damon, P.E., Donahue, D.J., Gore, B., Hatheway, A., Jull, A.T., Linick, T., Sercel, P., Toolin, L., Bronk, C. and Hall, E.: Radiocarbon dating of the Shroud of Turin, *Nature*, 337 (6208), 611-615 (1989)

Daniels, F., Boyd, C.A. and Saunders, D.F.: Thermoluminescence as a research tool, *Science* 117, 343-349, (1953)

Doğan, T.: Karbon 14'ün Hikayesi, *Bilim ve Teknik Dergisi*, Mart Sayısı (2018)

Ege, A., Ekdal Tekin, E., Karalı, T., Can, N.: Lüminesans tarihlendirmede yıllık dozun belirlenmesinde karşılaşılan problemler. X. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi; 2009 Ekim 6-9; Muğla, Türkiye, pp.80-88.

Fleischer, R.L., Price P.B. and Walker, R.M.: Charged Particle Tracks: Tools for Geochronology and Meteorite Studies, *J. Appl. Phys.*, 417-435 (1965)

Fleischer, R.L., Price P.B. and Walker, R.M. and Leakey L.S.B.: Fission track dating of bed I, Olduvai Gorge, *Science* 148, 72-74 (1965f)

Fleischer, R.L., Price P.B., Walker, R.M. and Leakey L.S.B., Fission track dating of a mesolithic knife, *Nature* 205, 1138 (1965g)

Fritsch, G., Lopez, C. and Rodriguez, L.: Generation and recombination of free radicals in organic materials studied by electron spin resonance. *J. Magn. Reson.* 16, 48-55 (1974)

Fujita, Y., Tsuchiya, K., Abe, S., Takiguchi Y., Kubo S., Sakurai H.: Estimation of the age of human bloodstains by electron paramagnetic resonance spectroscopy: long-term controlled experiment on the effects of environmental factors, *Forensic Sci. Int.* 152, 39-43 (2005)

Furetta, C., Weng, P. S.: *Operational Thermoluminescence Dosimetry*. World Scientific. Singapore (1998)

Garnett, E.R., Gilmour, M.A., Rowe, P.J., Andrews, J.E. and Preece, R.C., 230Th/234U dating of Holocene tufas: possibilities and problems, *Quaternary Science Reviews*, 23, 947-958 (2004)

Geyh, M.A. and Schleicher, H.: *Absolute Age Determination Physical and Chemical Dating Methods and Their Application*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg (1990)

- Geyh, M.A.: Bomb radiocarbon dating of animal tissues and hair, *Radiocarbon*, 43 (2B), 723-730 (2001)
- Gordy, W., Ard, W.B. and Shields, H.: Microwave spectroscopy of biological substances: I paramagnetic resonance in X-irradiated amino acids and proteins. *Proc. Nat Acad. Sci* 41, 983-996 (1955)
- Göksu, H.Y., Oberhofer, M., Regulla, D., *Scientific Dating Methods*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1991)
- Grögler, N., Houtermans, F.G., and Stauffer, H.: Radiation damage as a research tool for geology and prehistory. *Convegno sulle dotazioni con metodi nucleari*. In 5a Rass Internazion Elett Nucl, Sezione Nucl, Roma, pp.5-15 (1958)
- Grün, R.: Electron Spin Resonance (ESR) Dating, *Quaternary International*, 1, 65-109 (1989)
- Guérin, G., Mercier, N., Adamiec, G.: Dose-Rate Conversion Factors: Update, *Ancient TL*, 29 (1), 5 (2011)
- Gupta S.K., Polach H.A.: Radiocarbon dating practices at ANV. *Handbook*. ANV, Canberra, 173pp (1985)
- Halevy, I., Admon, U., Chinea-Cano, E., Weiss A.M., Dzigal N., Boblil E., Dagan M., Orion I. and Radus R. *Advances in fission-track detection and analysis for nuclear forensics and safeguards investigations*, *Progress in Nuclear Science and Technology*, 5, 175-178 (2018)
- Hall C.M. and York D., *The Applicability of $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ Dating to Young Volcanics*. In: Mahaney W.C. (ed) *Quaternary Dating Methods*, Vol 7, Elsevier Science, New York (1984)
- Hamilton, E.Ĭ.: *Applied Geochronology; Radiation Damage Methods* 8-156, University of Capetown (1965)
- Hanna, G.C., Wescott, C.H., Lemmel, H.D., Leonard, B.R., Story, J.S., Attree P.M.: Revision of values for the 220 m/s neutron constants for four fissile nuclides, *Atomic Energy Review* 7(4): 3-92 (1969)
- Henderson, G.M. and Slowey, N.C.: Evidence from U-Th dating against northern Hemisphere forcing of the penultimate deglaciation, *Nature*, 404, 61-66 (2000)
- Hennig, G.J. and Grün, R.: ESR Dating in Quaternary Geology, *Quaternary Science Reviews*, 2, 157-238 (1983)
- Hossain, S.M.: A critical comparison and evaluation of methods for the annual radiation dose determination in the luminescence dating of sediments, PhD Thesis, Ghent University (2003)
- Huntley, D.J., Godfrey-Smith, D.I, and Thevalt, M.L.W.: Optical dating of sediments, *Nature* 313, 105-107 (1985)
- Huntley, D.J., Clague, J.J.: Optical dating of tsunami-laid sands. *Quaternary Research* 46, 127-140 (1996)

Ikeya, M.: Dating a Stalactite by Electron Paramagnetic Resonance, *Nature*, 255, 48-50 (1975)

Ikeya, M.: Dating and Radiation Dosimetry with Electron Spin Resonance, *Magnetic Resonance Review*, 13, 91-134 (1988)

Ikeya, M.: *New Applications of Electron Spin Resonance, Dating Dosimetry and Microscopy*, World Scientific Pub. Co. Pte. Ltd. (1993)

Ikeya, M. and Miki, T.: A new dating method with a digital ESR. *Naturwissenschaften* 67, 191-192 (1980)

Ikeya, M. and Miki, T.: Organic ESR dating in archaeology. *J. Archaeol. Chem.* 4, 1-10 (1986)

Ivanovich, M. and Harmon, R.S.: *Uranium-series Disequilibrium: Applications to Earth, Marine, and Environmental Sciences*, Oxford University Press 911pp (1992)

Jaffey, A.H., Flynn, K.F., Glendenin L.E., Bentley W.C., Essling A.M.: Precision measurement of half-lives and specific activities of ²³⁵U and ²³⁸U, *Physical Review C* 4:1889-1906 (1971)

Jedoui, Y., Reyss, J.-L., Kallel, N., Montacer, M., Ismail, H.B., Davaud, E.: U-series evidence for two high Late Interglacial sea levels in southeastern Tunisia, *Quaternary Science Reviews*, 22, 343-351 (2003)

Lail, W.K., Sammeth, D., Mahan, S. and Nevins, J.: A non-destructive method for dating human remains, *Advances in Archaeological Practice: A Journal of the Society for American Archaeology*, 91-103 (2013)

Lee, J.K.W.: Single crystal laser fusion, *Encyclopedia of scientific dating methods*, 1-5 (2013)

Leakey, L.S.B., Evernden, J.F. and Curtis, G.H.: Age of Bed I, Olduvai Gorge, Tanganyika. *Nature* 191: 478-479 (1961)

Libby, W.F.: *Radiocarbon Dating*, University of Chicago Press, Chicago (1955)

Mahaney W.C.: *Quaternary Dating Methods: Developments in Palaeontology and Stratigraphy*, Elsevier, Netherlands, pp1-15 (1984)

McDougall, I. and Harrison, T.M.: *Geochronology and Thermochronology by the ⁴⁰Ar/³⁹Ar Method*, 2nd Ed., Oxford (1999)

Meriç, N., Koşal, M., Atlıhan, M.A., Yüce, Ü.R.: OSL properties of anthropological bone and tooth, *Radiation Physics and Chemistry*, 77(6), 685-689 (2008).

Miki, T., Kai, A. and Ikeya, M.: Electron spin resonance of bloodstain and its application to the estimation of the time after bleeding. *Forensic Sci. Intern.* 35, 149-158 (1987)

Miller, D.S. and Wagner, G.A.: Fission track ages applied to obsidian artifacts from South America using the plateau-annealing and the track-size age-correction techniques, *Nucl. Tracks* 5, 147-155 (1981)

Moody, K.J., Hutcheon, I.D. and Grant, P.M.: Nuclear Forensic Analysis, CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL (2005)

Munyikwa, K.: Luminescence chronology. In: Morner, N.A. (ed.) Geochronology-Methods and Case Studies, pp.31-71, IntechOpen, DOI: 10.5772/58554 (2014)

Nier, A.O.: A redetermination of the relative abundances of the isotopes of carbon, nitrogen, oxygen, argon and potassium, *Physical Review* 77: 789-793 (1950)

Oxcal: <http://www.rlaha.ox.ac.uk/>, Erişim tarihi: 06.04.2021

Price, P.B. and Walker, R.M., Fossil tracks of charged particles in mica and other minerals, *Journal of Geophysical Research* 68: 4847-4862 (1963)

Prinnoth-Fornwagner R. and Niklaus Th.R.: The man in the ice: results from radiocarbon dating, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 92, 282-290 (1994)

Reynolds, J.: High sensitivity mass spectrometer for noble gas analysis. *Review of Scientific Instruments* 27: 928-934 (1956)

Riedesel, S., Brill, D., Roberts, H.M., Duller, G.A.T., Garrett, E., Zander, A.M., King, G.M., Tamura, T., Burow, C., Cunningham, A., Seeliger, M., Batist, M.D., Heyvaert, V.M.A., Fujiwara, O., Brückner, H.: Single-grain feldspar luminescence chronology of historical extreme wave event deposits recorded in a coastal lowland, Pacific coast of central Japan. *Quaternary Geochronology* 45, 37-49 (2018)

Rink, W.J.: Electron Spin Resonance (ESR) Dating and ESR Applications in Quaternary Science and Archeometry, *Radiation Measurements*, 27, 975-1025 (1997)

Roberts, J.H., Gold, R., Armani, R.J.: Spontaneous fission decay constant of ^{238}U , *Physical Review* 174:1482-1484 (1968)

Scholz, D. and Hoffmann, D.: $^{230}\text{Th}/\text{U}$ -dating of fossil corals and speleothems, *Eiszeitalter und Gegenwart Quaternary Science Journal*, 57(1-2), 52-76 (2008)

Shankar, N., Guimarães, A.O., Napoli, E. and Giulivi, C.: Forensic determination of hair deposition time in crime scenes using electron paramagnetic resonance, *Journal of Forensic Sciences*, 66(1), 72-82 (2021)

Stanley, F.E.: A beginner's guide to uranium chronometry in nuclear forensics and safeguards, *J. Anal. At. Spectrom.*, 27, 1821-1830 (2012)

Steiger, R.H. and Jager, E.: Subcommittee on geochronology: Convention on the use of decay constants in geo- and cosmochronology, *Earth and Planetary Science Letters*, 36, 359-362 (1977)

Storzer, D. and Selo, M.: Fission track ages of magnetic anomaly M-Zero and some aspects of sea-water weathering, in T. Donnelly et.al (eds), *Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project*, Vols.51-53, Washington, 1129-1133 (1978)

Taylor R.E.: Radiocarbon Dating: An Archaeological Perspective. Academic Press, New York (1987)

Tuniz, C., Zoppi, U. and Hotchkis, M.: Sherlock Holmes counts the atoms, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: beam interactions with materials and atoms, 213, 469-475 (2004)

Wagner, G.A.: Archeological Applications of Fission Track Dating, Nuclear Track Detection 2, 51-62 (1978)

Wagner, G.A.: Fission Tracks Ages and Their Geological Interpretation, Nuclear Tracks, 5, 15-25 (1981)

Walker M.: Quaternary Dating Methods, John Wiley&Sons, Ltd, England (2005)

Wallenius, M., Mayer, K., Ray, I.: Nuclear forensic investigations: Two case studies, Forensic Science International 156, 55-62 (2006)

Walter, R.C.: Potassium-Argon/Argon-Argon Dating Methods. In: Taylor R.E., Aitken M.J. (eds) Chronometric Dating in Archaeology. Advances in Archaeological and Museum Science, vol 2. Springer, Boston, MA (1997)

Wintle, A.G.: Fifty years of luminescence dating. Archaeometry, 50: 276-312 (2008)

Yeğingil, Z., and Göksu, H.Y.: Fission Track Dating of Obsidians, Nuclear Tracks, 6, 43-48 (1981)

Yeğingil, Z.: Fission Track Dating and its Application in Advance Scientific Techniques Vol 1, Scientific Dating Methods, Göksu H.Y., Oberhofer M., Regulla D. (Eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 317 (1991)

Yüksel, M.: Termolüminesans Yöntemi ve Dozimetrik Çalışmalar, In: Yakar, A. Topaklı, H. (eds.) Fen Bilimleri ve Matematik Temel Alanı Örnek Araştırmaları Kitabı, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, pp.171-192 (2018)

Zoppi, U., Hua, Q., Jacobsen, G., Sarkissian, G., Lawson, E., Tuniz, C. and Minelli, L.L.: AMS and controversies in history: The Spanish conquest of Peru, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: beam interactions with materials and atoms, 172 (1-4), 756-760 (2000)

Zoppi, U., Skopec, Z., Skopec, J., Jones, G., Fink, D., Hua, Q., Jacobsen, G., Tuniz, C. and Williams, A.: Forensic applications of ¹⁴C bomb-pulse dating, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: beam interactions with materials and atoms, 223, 770-775 (2004)

BÖLÜM 13

ÇOKLU TERCİH MODELLERİ: MULTİNOMİAL LOGİT VE MULTİNOMİAL PROBİT

Öznur İŞÇİ GÜNERİ¹

Burcu DURMUŞ²

Aynur İNCEKIRIK³

1 Öznur İŞÇİ GÜNERİ (Prof.Dr.), İstatistik Bölümü, Fen Fakültesi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, Türkiye, oznur.isci@mu.edu.tr (<https://orcid.org/0000-0003-3677-7121>)

2 Burcu DURMUŞ (Öğr.Gör.), İstatistik Bölümü, Fen Fakültesi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, Türkiye, burcudrmz@windowslive.com (<https://orcid.org/0000-0002-0298-0802>)

3 Aynur İNCEKIRIK (Dr.Öğr.Üyesi), Ekonometri Bölümü, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, Türkiye, aynur.incekirik@bayar.edu.tr (<https://orcid.org/0000-0002-5029-6036>)

1. GİRİŞ

Bağımlı değişkenin iki veya daha fazla nitel tercih içerdiği durumlarda model tahmininde doğrusal regresyon modellerinde kullanılan klasik EKKY (En Küçük Kareler Yöntemi) uygun bir yöntem olmamaktadır. Bu yöntemlerin yetersiz kalmasından dolayı nitel tercih modellerinin tahminlenmesi için farklı yöntemlerin kullanılması gerekmektedir (Koop, 2003:209). Çoklu tercih modelleri binary logit ve probit modellerinin uzantıları olarak görülebilir. Bu modellerde bağımlı değişken en az üç veya üçten fazla kategoriye sahiptir ve nominal veya sıralıdır. Çoklu tercih modellerini genel olarak sıralı ve sıralı olmayan tercihlerle ilgili olmak üzere iki gruba ayırmak mümkündür.

Sıralı tercih modellerinde bağımlı değişken doğal bir sıraya sahip ise sıralı (ordinal) değişkendir. Bu tür değişkenler özellikle sağlık alanında ya da likert tipi ölçeklerde karşımıza çıkar. Örneğin; değişken “kesinlikle katılıyorum, katılmıyorum, kesinlikle katılıyorum” şeklinde belirlenmiş olabilir. Burada doğal yolla sıralanabilen üç mümkün alternatif mevcuttur. Bu tür değişkenlerin analizi sıralı logit(OLM) veya sıralı probit model(OPM) ile yapılabilmektedir (Davidson ve MacKinnon, 1999:458). Sıralı olmayan tercih modellerinde bağımlı değişken doğal bir sıralaması olmayan nominal ya da sınıflayıcı değişkendir. Bu duruma uygun bir örnek olarak ulaşım aracı tercihleri verilebilir. İnsanlar şehirlerarası yolculuklarında uçak, araba, tren ve otobüsten oluşan dört ulaşım aracı arasından birini tercih ederler. Bu tercihler arasında doğal bir sıralama söz konusu değildir. Sıralı olmayan modeller içinde de Multinomial logit(MNL) ve multinomial probit (MPM) modeller en yaygın modellerden ikisidir. Bu modellerde bağımsız değişkenler nicel veya nitel olabilmektedir.

MNL modelde EKKY varsayımlarındaki normallik, doğrusallık ve sabit varyans varsayımlarını aramadığından bağımlı değişkenin nominal kategorik olduğu durumlarda sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bu modelde test edilmesi gereken en önemli varsayımı ilgisiz alternatiflerin bağımsızlığıdır (the assumption of the independence of irrelevant alternatives - IIA). MNP model ise IIA varsayımı gerektirmez. Fakat bu modelde hataların standart normal dağılıma uyması gerekir. Bağımlı değişkenin çok kategorili nitel olması durumunda multinomial modelin mi yoksa sıralı modelin mi veri yapısı için daha uygun olduğunun belirlenmesi önemlidir. Çünkü bazı durumlarda bağımlı değişkenin tam olarak tercihe dayalı mı yoksa duruma dayalı mı olduğuna karar vermek zor olabilir. Örneğin bağımlı değişken risk yok, düşük risk, yüksek risk olarak kategorize edildiğinde hangi modelin kullanılması gerektiğine

karar vermek zor olabilir. Böyle durumlarda varsayımların sağlanıp sağlanmadığı durumlarına göre tercih yapılabilir.

Multinomial modeller için bireye özel, seçime özel ve hem bireye hem seçime özel tercihler olmak üzere 3 tip model söz konusudur. Bu modeller için bireye özel olanlar için Koşullu Logit Model (CLM), seçime özel olanlar için MLM ve MNP model, hem seçime hem de bireye özel tercihler için Karma Logit Model (MXLM) kullanılır. Tablo 1’de yaygın kullanılan çoklu tercih modelleri ve bunlara ilişkin varsayımlar verilmektedir.

Tablo 1: Çoklu Tercih Modellerinin Varsayımları

Çoklu Tercih Modelleri	Bağımlı Değişken	Model Varsayımları
Ordinal Logit (OLM)	Sıralı	Paralel eğimler varsayımı gerekir
Ordinal Probit (OPM)	Sıralı	Paralel eğimler varsayımı gerekir
Multinomial Logit(MNL)	Nominal	Paralel eğimler varsayımı gerektirmez
Multinomial Probit(MNP)	Nominal	IIA varsayımı gereklidir Hiçbir varsayım gerektirmez
Genelleştirilmiş Sıralı Logit(GOLM)	Nominal	Paralel Eğimler varsayımına karşı esneklik. IIA varsayımı gereklidir
Karma Logit Modeli (MXLM)	Nominal	MNL ve CLM’nin özelliklerini taşımaktadır
Koşullu Logit Model(CLM)	Nominal	Paralel eğimler varsayımı gereklidir. IIA varsayımı gereklidir
Nested logit Model(NLM)	Nominal	Benzersizlik parametresi/kapsayan değer (Inclusive Value =IV) pozitif olmalıdır. IIA varsayımı yuvalar içinde sağlanır fakat yuvalar arasında sağlanmaz.

Çoklu tercih modelleri arasında yer alan OLM ve OPM modellerinde bağımlı değişkenin sıralı yapıda olduğu durumda kullanılan yöntemlerdir. Ancak bu yöntemlerin kullanılabilmesi için öncelikle paralel eğimler varsayımının sağlanması gereklidir. Bu nedenle analizlerde önce paralel eğimler varsayımının sağlanıp sağlanmadığı olabilirlik oran testi veya Brant testi ile test edilir. Bu varsayım sağlanmadığı durumlarda bu yöntemlerin alternatifi olan MNL, MPM, koşullu logit model(CLM) ve nested model(NLM) olmak üzere alternatif modeller tercih edilebilir. Bu varsayımda sıralı yapıyı dikkate alarak esneklik sağlayan diğer bir yöntem genelleştirilmiş sıralı logit model (GOLM)’dir. Paralel eğimler

varsayımı aşırı derece de kısıtlayıcıdır. Bu varsayım ihlal edildiğinde (Brown, 2022);

- Modelde bir veya daha fazla β 'nin j değerleri arasında farklılık göstermesi yaygındır. Fakat bu varsayımı ihlal etmenin pratik sonuçları minimum olduğundan, OLM kullanılabilir.
- Sonucu ikiye ayırıp ve binary logit model kullanılabilir. Bu da yaygındır, ancak bilgi kaybedersiniz ve bu, önemli sonuçlarınızı değiştirebilir.
- Bağımlı değişken sıralı olmayan kategorik değişkenlerden oluştuğunda MLM kullanabilirsiniz. Bu, sizi paralel eğimler varsayımından kurtarır. Ancak esasa dayalı olarak çoğu zaman şüphelidir.
- Paralellik varsayımı gerektirmeyen bir model kullanabilirsiniz. Giderek, bu daha yaygındır. MPM, GOLM, heterojen seçim modelleri gibi.

Sonuç olarak paralellik varsayımı için yukarıdakilerin hepsini deneyerek sonuçlarınıza göre ne yapacağımıza karar verebilirsiniz.

Çoklu tercih modellerinde bağımlı değişken nominal kategorilere sahip olduğunda halen çok yaygın biçimde kullanılan MNL model ilk olarak önerilen yöntemlerden biridir. “Eksikliklerine rağmen, hesaplaması kolay olan MNL model ile birçok uygulamada karşılaşılmaktadır” (Alvarez ve Nagler, 1994:1). MNL uygulamalarında gerekli koşul IIA varsayımıdır. Bu koşul; bağımlı değişken kategorilere ait modellerin olasılıklarının bağımsız ortaya çıkmasını gerektirmektedir. MNL modelin yaygın olarak kullanılmasında, kolay uygulanabilmesinin etkisi büyüktür. Bunun yanı sıra, aslında IIA olgusu bu modelin birçok durumda kullanımını zorlaştırır ve geçersiz kılar. Modeller arası bağımlı yapının ortaya çıktığı durumlarda; MNL model ile uygun kestirimler elde edilemeyecektir (Altınışık, 2007:1).

IIA varsayımı kısıtlamasından kurtulmak için yeni yöntemlerin geliştirilmesine gereksinim doğmuştur. Bu varsayımı sağlanmadığında CLM ve NLM bir başka çoklu seçim modeli olarak karşımıza çıkmaktadır. Her ne kadar alternatif bu iki yöntem IIA varsayımının kısıtlayıcı yapısını biraz rahatlatmış olsa da yeteri kadar tatmin edici yöntemler değildir. Bağımlı değişken kategorilere ait modellerin bağımlılık yapısının olduğu durumlarda logit modelleme yöntemleri gerçek model yapısını ortaya koymakta yeterli olmamaktadır. CLM

seçime-özel değişkenleri modele katma olanağı sunar. NLM ise aynı küme içerisinde yer alan seçimler için IIA varsayımı gereklidir. Çoğu uygulamalarda bireyler, farklı tercih kümeleri ile karşılaşmaktadır. Kararların ardışık alındığı NLM’de, IIA varsayımını yumuşatmakta ayrıca ilave bilgi verdiği için de tercih edilmektedir. Bağımsızlık sınırlaması ile kısıtlanmamış bir model olarak MNP ve NLM, kesikli tercih modelleri içinde alternatif yöntemlerdir.

IIA koşulunu gerektirmeyen ve hataların normal dağıldığı varsayımı altında kullanılan MLP ise multinomial yapı altında bağımlılık olgusunu göz önüne alan ve inceleme olanağı sağlayabilen alternatif bir yöntem olarak geliştirilmiştir. MNP model, eğer bağımlılık söz konusu ise bu yapının incelenmesini sağlayabilmektedir. Eğer bağımsızlık koşulu sağlanır ise model, Bağımsız Probit (Independence-Probit, IP) olarak incelenir. Bu model seçime özel değişkenleri de modelde inceleme olanağı tanıyan, alternatifler arasındaki ilişkilerin incelebildiği, esnek yapıda bir modeldir.

Bu çalışmada örnek bir veri setin için çoklu tercih modelleri arasında hangisinin kullanılacağına karar verirken dikkat edilmesi gereken varsayımlar araştırılmıştır. Ayrıca multinomial logit ve multinomial probit modeller üzerinde ağırlıklı olarak durulmuştur.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Multinomial Logit Model (MNL)

Multinomial logit model sonuçları doğal bir sıralamaya sahip olmayan kategorik bir bağımlı değişken için nitel tercih modelidir. Bağımlı değişken nominal sıralı olmayan bir yapıya sahip olduğunda en yaygın kullanılan ve en bilinen yöntemdir. MNL modeli aynı zamanda çok eşli lojistik regresyon modeli (the polytomous logistic regression model) olarak da bilinir. Multinomial Logit model, binary Logit modelin J kategori için genişlemiş bir durumudur (Barak, 2005). Bu modelde J tane bağımlı değişken kategorisi birbirinden bağımsız, nominal, doğal sıralama içermeyen bir yapıdadır.

Multinomial Logit model ile bağımsız değişkenlerin sıralama içermeyen bağımlı değişken kategorisine etkisi bir bütün olarak aynı araştırılmaktadır. Genel olarak bağımlı değişkenin j 'inci kategoriye düşme olasılığı $\pi_j = P(y = j)$ ile aşağıdaki şekilde tanımlanmaktadır (Liao, 1994):

$$\pi_j = P(y = j) = \frac{\exp(\sum_{k=1}^K \beta_{jk} x_k)}{1 + \sum_{j=1}^{J-1} \exp(\sum_{k=1}^K \beta_{jk} x_k)} \quad j = 1, 2, \dots, J - 1 \quad (1)$$

Yukarıdaki eşitlikte β_{jk} katsayısının j indisi bağımlı değişken kategorisini, k indisi bağımsız değişkenleri belirtir.

Bağımlı değişken kategorilerinden bir tanesi temel kategori (baseline category) olarak belirlenir. Genellikle ilk ya da son kategori J , referans kategorisi olarak seçilir ve bağımlı değişkenin referans kategoriye düşme olasılığı $\pi_j = P(y = J)$ aşağıdaki şekilde tanımlanır:

$$\pi_j = P(y = J) = \frac{1}{1 + \sum_{j=1}^{J-1} \exp(\sum_{k=1}^K \beta_{jk} x_k)} \quad j = 1, 2, \dots, J - 1 \quad (2)$$

MNL modelde referans kategorisine düşme olasılığı diğer olasılıklar yardımıyla aşağıdaki şekilde de hesaplanabilmektedir:

$$P(y = J) = 1 - [P(y = 1) + P(y = 2) + \dots + P(y = J - 1)] \quad (3)$$

Eşitlik (1) ve (2) Multinomial Logit bağ fonksiyonunda yerine konulup gerekli düzeltmeler yapıldığında, Multinomial Logit model için aşağıdaki eşitliğe ulaşılır:

$$\log\left(\frac{\pi_j}{\pi_J}\right) = \log\left[\frac{P(y = j)}{P(y = J)}\right] = \sum_{k=1}^K \beta_{jk} x_k \quad j = 1, 2, \dots, J - 1 \quad (4)$$

Eşitlik 4'te verilen MNL model $J=2$ için binary Logit modele dönüşmektedir. Modelde katsayı kestirimleri, binary Logit modelde olduğu gibi En Çok Benzerlik (ML) yöntemi ile yapılmaktadır. Ancak binary Logit model için yapılan çözümlerden farklı olarak; bağımlı değişken için tek bir Logit ($\log[\frac{\pi}{1-\pi}]$) oluşturmak yerine, $J - 1$ tane j 'inci kategoriye referans kategori ile karşılaştıran Logit oluşturulur ve eşanlı olarak çözüme gidilir (Liao, 1994). Sabit terimi de içeren k tane bağımsız değişken olduğu düşünülürse toplam tahmin edilen parametre sayısı $k(J-1)$ olacaktır.

Bazı çalışmalarda koşullu lojistik regresyon multinomial lojistik regresyon olarak adlandırılır. Multinomial logit modelde tesadüfi fayda modelinde yer alan hata terimi Gumbel dağılımına ve σ^2 varyansına

sahiptir (Alexander, 2004). MNL'in avantajlarından biri, modele sürekli değişkenleri ve çoklu kategorik değişkenleri dahil edebilmemizdir. Fakat dayandığı kısıtlayıcı hipotezler nedeniyle esnek değildir (Suarez vd., 2004:120). MNL'nin iki önemli dezavantajından birincisi hata terimlerinin Gumbell dağılımına sahip olduklarının tespit edilmesinin zorluğudur, ikincisi ise hata terimlerinin bağımsız olduğu varsayımdır.

MLM, bağımlı değişken nominal olduğunda (yani, kategoriler sırasız olduğunda) veya bağımlı değişken kategorik olarak sıralandığında (ancak orantısız olasılık varsayımının ihlal edildiğine inanmak için nedenler bulunduğu) kullanılır. Bu modelin çözümü yapılmadan önce orantılı olasılıklar yani paralel eğimler varsayımının geçerli olup olmadığını test etmek gereklidir. Ayrıca değişkenlerin bağımsızlığı için Wald testi veya LR testi kullanılabilir (Brant, 1990:1173). Multinomial Logit modeli, kısaca IIA olarak bilinen İlgisiz Alternatiflerin Bağımsızlığı varsayımına dayanmaktadır. Bu varsayım kısaca; bağımlı değişken kategorisinde yer alan iki alternatif kategorinin seçim olasılıklarının oranının, diğer alternatifler tarafından sistematik olarak etkilenmediği varsayımı olarak belirtilebilmektedir (Liao, 1994). Dolayısı ile Multinomial Logit çözümü yapılmadan önce bu varsayımın sağlanıp sağlanmadığının kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla IIA varsayım testleri arasında bilinen Hausman testi ve Small-Hsiao Testi kullanılabilir.

MLM'de katsayıların yorumlanması binary modeline göre biraz daha karmaşıktır. Bu model için temel kategori belirlendikten sonra diğer kategoriler için katsayı tahminleri elde edilir. Yine binary modeldeki gibi Odds oranlarına göre (Odds Ratio, OR) yorum yapılır. $OR > 1$ ise bağımsız değişkendeki bir birimlik artışın, temel kategorisi yerine j 'inci bağımlı değişken kategorisinde olma şansını arttırdığına $OR < 1$ ise bu şans azalttığına işaret etmektedir (Liao, 1994).

2.2. Multinomial Probit Model (MPM)

Multinomial logit modele alternatif geliştirilen yöntemlerden biride MPM'dir. MNP model iki düzeyli probit modelinin uzantıdır. MNL'de hata terimleri kümülatif lojistik dağılım göstermekte ve hata terimleri arasında korelasyonun olmadığı varsayımı söz konusu iken, MNP'de hata terimleri normal dağılırken aralarında korelasyon olabilmektedir (Sigeze, 2017:446; Alkan ve Yarbaşı, 2020:141).

Multinomial Probit model ilk olarak 1927'de Thurstone tarafından önerilmiştir. Ardından 1980'de Daganzo tarafından açık biçimde formüle edilmiştir. Modelin yaygınlaşmasında büyük rolü olan McFadden'ın 1984'te ortaya attığı olabilirlik fonksiyonunun doğrudan

değerlendirilmesinden kaçınan Benzetilmiş Momentler Yönteminin (Method of Simulated Moments) önerilmesiyle birlikte bilgisayar uygulamalarında kullanımı geliştirilmiştir. Model olasılıklarının kestirimleri, çok değişkenli yığılımlı dağılım fonksiyon hesaplamalarını gerektirmektedir. Kapalı formu olmayan çok katlı integralleri içeren fonksiyon yapısının, hesaplanmasındaki matematiksel zorluktan dolayı, benzetim yöntemleri kullanılmaktadır (Altınışık, 2007:2).

MNP model hem IIA varsayımının sağlandığı hem de sağlanmadığı durumlarda uygulanabilmektedir. MNP modeli IIA varsayımının sağlanması durumunda bağımsız multinomial probit model (independence multinomial probit, IMNP) adını alır. IIA varsayımının gerçekleşmediği durumda MNP model, MNL modellere göre parametre kestirimlerinde üstün olmaktadır. MNP’ de gerekli olan tek varsayım hataların normal dağılım göstermesidir.

i birey sayısı ve j kategori sayısı ve olmak üzere MNP için fayda fonksiyonu aşağıda verilmiştir:

$$U_{ij} = \beta X_{ij} + \alpha_j z_i + \varepsilon_{ij} \quad (5)$$

Yukarıda verilen eşitlikte $\varepsilon_{i1}, \dots, \varepsilon_{ij-1}$ hata terimi ortalaması sıfır, kovaryans matrisinin Σ olduğu normal dağılıma sahiptir. Fayda fonksiyonu deterministik kısım ve hatalar olacak şekilde iki bölüme ayrılırsa eşitlik, iki bileşenli toplama dönüşür.

$$V_{ij} = \beta X_{ij} + \alpha_j z_i, \quad j = 2, \dots, J \quad (6)$$

$$U_{ij} = V_{ij} + \varepsilon_{ij}, \quad j = 2, \dots, J \quad (7)$$

MNP modelde de MNL modelde olduğu gibi seçim sayısının “1” eksiği kadar ($J-1$) model kestirilir. Modelin genel formu şu şekildedir:

$$\begin{aligned} P(Y = j / V_U, \Sigma_U) &= P[U_{nj} > U_{ni}, \forall i \neq j] \\ &= P(U_{nj} - U_{ni} < 0, i \neq j) \\ &= P(Z_{ni}^{nj} < 0, i \neq j) \\ &= \int_{u_j=-\infty}^{\infty} \int_{u_1=-\infty}^{u_j} \dots \int_{u_{j-1}=-\infty}^{u_j} \int_{u_{j+1}=-\infty}^{u_j} \dots \int_{j=-\infty}^{u_j} \varphi(u) \\ &\quad / V_U \Sigma_U d_{u_1} \dots d_{u_j} \\ &= \varphi(0 / V_Z, \Sigma_Z) \end{aligned} \quad (8)$$

Yukarıda verilen eşitlikte $\varphi(f): J - 1$ boyutlu çok değişkenli olasılık yoğunluk fonksiyonu Z , $V_Z \in \mathcal{R}^{J-1}$, $\Sigma_Z \in \mathcal{R}^{(J-1)(J-1)}$ dir. Üç tercihli probit model (the trinomial probit) şu şekildedir (Keane, 1992:194);

$$\begin{aligned} U_{1i} &= \alpha_1 + \beta_1 X_i + \varepsilon_{1i} \\ U_{2i} &= \alpha_2 + \beta_2 X_i + \varepsilon_{2i} \\ U_{3i} &= \alpha_3 + \beta_3 X_i + \varepsilon_{3i} \end{aligned} \quad (9)$$

Bu modeli diğer seçim modellerinden (yani logit veya koşullu logit) ayıran temel özellik, stokastik terimlerin $(\varepsilon_{1i}, \varepsilon_{2i}, \varepsilon_{3i})$ kovaryans matrisi ile çok değişkenli bir normal dağılıma sahip olduğu varsayımdır.

$$\text{Cov} \begin{pmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sigma_1^2 & & \\ \sigma_{12} & \sigma_2^2 & \\ \sigma_{13} & \sigma_{23} & \sigma_3^2 \end{pmatrix} \quad (10)$$

Uygulamalarda, Σ 'nin ölçeğini belirlemek için geleneksel bir yaklaşımla Σ 'nin birinci diagonal elemanını bire eşitleriz. Ölçek bir kere sabitlendiği durumda Σ ile ilgili diğer kısıtlama, Σ 'nin simetrik ve pozitif tanımlı olması gerekliliğidir. Burada özellikle, köşegen dışındaki elemanların sıfırdan farklı olması tercih edilir. Bu durum MNP'e, MNL'de olmayan bir esneklik kazandırmaktadır. Özet olarak MNPM'de IIA özelliği bulunmamaktadır (Davidson ve MacKinnon, 1999:466).

Üç tercihli modelde üçüncü tercihin seçilme olasılığı şu şekildedir:

$$P(y_i = 3) = P(u_{i3} > +u_{i2}, u_{i3} > u_{i1}) \quad (11)$$

$$= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{u_2} \int_{-\infty}^{u_3} f(u_1, u_2, u_3) d_{u1} d_{u2} d_{u3} \quad (12)$$

Yukarıdaki eşitlikte $f(\cdot, \cdot, \cdot)$ üç değişkenli normal yoğunluk fonksiyonunu gösterilmektedir. Bu yaklaşımın ilgi çekici yanı, alternatifler karşısında hatalardaki kovaryansları $(\sigma_{12}, \sigma_{13}, \sigma_{23})$ tahminleme yeteneğinin olmasıdır (Powers ve Xie, 1999:248).

3. KULLANILAN TESTLER

3.1. Brant Testi

Brant testi paralel eğimler varsayımı ya da orantısal risk varsayımının geçerliliğinin testi için kullanılan testlerden biridir. Bu test hem genel olarak paralel eğimleri test etmekte, hem de paralel eğimlerin hangi değişken veya değişkenler nedeniyle bozulduğu hakkında bilgi

vermektedir. İlk olarak Brant tarafından geliştirilen bu test Wald testi olarak da bilinir (Brant, 1990:1173). Bu test ile J adet kategorisi bulunan bağımlı değişkenden elde edilen, $J-1$ adet ikili logit modelinin tahmin edilen β_{j-1} katsayılarının eşitliği ve her bir değişken için tahmin edilen katsayıların eşitliği test edilmektedir. $J-1$ adet ikili logit modelinin tahmin sonuçları birleştirilerek $\hat{\beta}^* = (\hat{\beta}'_1, \hat{\beta}'_2, \dots, \hat{\beta}'_{j-1})'$ ve $\hat{\beta}^*$ 'nin varyans-kovaryans matrisi oluşturulur. Test için oluşturulan sıfır hipotezi aşağıdaki gibidir (Brant, 1990:1172),

$$H_0: \beta_j = \beta \text{ veya } H_0: D \beta^* = 0 \quad (13)$$

$$H_1: \beta_j = \phi_j \beta \text{ veya } H_1: D \beta^* \neq 0 \quad j=1, 2, \dots, k-1$$

Burada $(j-2)p \times (j-1)p$ boyutlu kontrast matrisi D şu şekildedir:

$$D = \begin{bmatrix} I & -I & 0 & \dots & 0 \\ I & 0 & -I & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ I & 0 & 0 & \dots & -I \end{bmatrix} \quad (14)$$

Wald test istatistiği;

$$W = (D \hat{\beta}^*)^T [D \hat{V} \hat{\beta}^* (\hat{\beta}^*) D^T]^{-1} (D \hat{\beta}^*) \quad (15)$$

Bu istatistik $(j-2)p$ serbestlik derecesi ile asimtotik olarak χ^2 dağılımı gösterir. Bireysel değişkenler için hipotez, $H_0: \beta_{k1} = \dots = \beta_{k,j-1}$ şeklindedir. Test edilecek katsayılar karşılık gelen satır ve sütunlar D , $\hat{\beta}^*$ ve $\hat{V} \hat{\beta}^*$ matrislerinden seçilir ve $j-2$ serbestlik derecesiyle test edilir (Long, 1997:144). Brant testi, birçok uyum iyiliği testlerinde ortak olan iki kusurdan muzdariptir. Birincisi, j veya p 'den biri büyükse, testin çok güçlü olması beklenemez. İkinci olarak, test orantılılıktan sapmaları tespit etmek için yeterince güçlü olsa bile, test istatistiğinin bireysel bileşenlerinin incelenmesi, tespit edilen tutarsızlığın doğası hakkında net bir gösterge sağlamayabilir (Brant, 1990: 1173). Brant testi,

$$\delta_1 = 0; E(\tilde{\beta}_j) \approx \beta_1 + \delta_j \beta_1 \quad j=1, 2, \dots, k-1 \quad (16)$$

olarak kurulmaktadır. Burada $\tilde{\beta}$, doğrusal olmayan regresyon eşitliğinin bir formudur. $\delta_j = 0$ 'ın testi, $\hat{\beta}$ 'nin ters ağırlıklandırılmış varyans-kovaryans matrisinde $\tilde{\beta}$ 'nin ağırlıklandırılmış regresyonunun tahmini ile yapılmaktadır. Buradan test istatistiği;

$$\chi^2 = + \hat{\delta}^T \hat{V}(\hat{\delta})^{-1} \hat{\delta} \quad (17)$$

olarak verilir. Burada $\hat{V}(\hat{\delta})$, $\hat{\delta}$ 'nin varyans-kovaryans matrisi, $k-2$ serbestlik dereceli χ^2 dağılımı göstermektedir (Brant,1990:1174). LR testi, eş zamanlı olarak tüm değişkenlerin katsayılarının eşitliğinin testini gerçekleştirmektedir. Buna göre, bazı değişkenlerin katsayılarının, diğer değişkenler farklı iken ikili denklemlere karşı özdeş olup olmadığı tespit edilemez. Bu nedenden dolayı, her bir değişken için paralel regresyon varsayımını ayrı ayrı test eden Brant'ın Wald testi daha kullanışlı bir testtir. (Long ve Freese, 2001: 151).

3.2. Olabilirlik Oran Test (LR test)

Orantısal risk modeli, orantısal olmayan risk modelinin kısıtlanmış bir durumudur. Orantısal risk modelinden elde edilen Log- Olabilirlik L_1 , orantısal olmayan risk modelinden elde edilen Log- Olabilirlik L_2 ile gösterildiğinde bu iki Log- Olabilirlik arasındaki fark bize bu kısıtın kaldırılması durumunda Log- Olabilirlikteki değişimi verir (Long, 1997:146).

LR testi kısıtlı ve kısıtsız modellerin tahmin edilen katsayılarının karşılaştırıldığı log olabilirlik fonksiyonunu temel alan, $k(J-2)$ serbestlik dereceli χ^2 dağılımı gösteren bir testtir. k ; bağımsız değişken sayısını, J ; bağımlı değişkenin kategori sayısını vermektedir. Bu test, ki-kare testi olarak da adlandırılmaktadır (Fullerton ve Xu, 2012: 187).

$$LR = -2\ln L_1 - (-2\ln L_2) = -2\ln\left(\frac{L_1}{L_2}\right) \quad (18)$$

Yukarıdaki eşitlikte L_1 paralellik varsayımını sağlayan(kısıtlanmış) modeli, L_2 paralellik varsayımını sağlamayan (kısıtlanmamış) modeli belirtmektedir. Testin hipotezleri aşağıdaki gibidir. Burada temel hipotez, katsayıların birbirine eşit olduğunu yani paralellik varsayımının sağlandığını ifade etmektedir.

$$\begin{aligned} H_0: \beta_{1k} &= \beta_{2k} = \dots = \beta_{(j-1)k} \\ H_1: \beta_{1k} &\neq \beta_{2k} \neq \dots \neq \beta_{(j-1)k} \end{aligned} \quad j=1, 2, \dots, J-1 \quad (19)$$

LR test istatistiğinde $p < 0.05$ ise H_0 reddedilir. Küçük örneklem olduğunda olabilirlik oran testi sonuçları ile Wald testi sonuçları birbirlerinden farklı çıksa da de asimptotik olarak sonuçlar birbirine eşittir (Fullerton ve Xu, 2012: 187; Kleinbaum ve Klein, 2010: 134). Eger H_0 red edilirse, en az bir katsayı diğerlerinden farklı olduğundan paralel eğimler varsayımı sağlanmamaktadır. Ancak bu testin yaklaşık bir test olduğu unutulmamalıdır. Ayrıca bu test ile modeldeki hangi bağımsız

değişken veya değişkenlerin orantısallığı bozduğu hakkında bilgi edinilememektedir (Long, 1997:148).

3.3. Hausman Testi

IIA varsayımının sağlanıp sağlanmadığını belirlemek için kullanılan bir testtir. Bağımlı değişken seçimlerinin tümünü kapsayan model ile seçimlerden en az birinin çıkartılmasıyla elde edilen model arasında fark olup olmadığı Hausman test istatistiği ile araştırılır. Başka bir ifade ile kısıtlanmış model ile kısıtlanmamış model için elde edilen parametreler karşılaştırılır. Eğer elde edilen parametreler benzerlik gösterirse IIA varsayımı sağlanmış demektir. β_s ve β_f sırasıyla kısıtlanmış ve kısıtlanmamış olan parametre tahminleri olmak üzere, IIA varsayımının geçerliğini test etmek için sıfır ve alternatif hipotez aşağıdaki gibidir,

$$\begin{aligned} H_0: \beta_s &= \beta_f \text{ (IIA varsayımı geçerlidir)} \\ H_1: \beta_s &\neq \beta_f \text{ (IIA varsayımı geçerli değildir)} \end{aligned} \quad (20)$$

Bu hipotezler Hausman-McFadden test istatistiği kullanılarak test edilir. Hausman testi k serbestlik dereceli ki-kare dağılımı gösterir. Test istatistiği aşağıda verilmiştir:

$$\chi^2 = (\hat{\beta}_s - \hat{\beta}_f)' [\hat{V}_s - \hat{V}_f]^{-1} (\hat{\beta}_s - \hat{\beta}_f) \quad (21)$$

Yukarıdaki eşitlikte s ; kısıtlanmış kümeyle dayalı tahminleri, f ; tüm tercihler kümesine dayalı tahminleri, V_s ve V_f varyans kovaryans matrislerini ifade etmektedir. Bu istatistik $\hat{\beta}_s$ ve $\hat{\beta}_f$ parametrelerinin birbirine eşit olup olmadığını test eder. $p < 0.05$ anlamlı ise IIA varsayımı bozulmuş olur. (Hardin ve Hilbe, 2001). Bu durumda MNL'ye alternatif modeller kullanılması gerekmektedir (McFadden, 1984:1417-1418). IIA varsayımı için kullanılan başka bir test Hausmann ve McFadden tarafından geliştirilen görünürde ilişkisiz tahmin (seemingly unrelated estimation - suest) suest testidir (Hausmann ve McFadden, 1984:1221). Genellikle panel veri analizlerinde kullanılan standart Hausman testi, IIA varsayımında bazen tanımsız test istatistiği değeri (ki-kare değerinin negatif çıkması durumu) hesaplayabildiğinden bu test tercih edilebilir.

3.4. Small-Hsiao Testi

IIA varsayımının testinde kullanılan diğer bir test ise Small-Hsiao testidir (Small ve Hsiao, 1985:619). Bu testin uygulanması için örneklem eşit iki alt örnekleme bölünür. Kısıtlanmamış MNL, her bir alt örnek için tahmin edilir. $\hat{\beta}_u^S$, birinci alt örneğe uygulanan MNL ile elde edilen tahminleri,

$\hat{\beta}_u^{S_2}$, ikinci alt örnekten elde edilen tahminleri göstermektedir. Parametrelerin ağırlıklı ortalaması aşağıdaki gibidir:

$$\hat{\beta}_u^{S_1 S_2} = \left(\frac{1}{\sqrt{2}}\right)\hat{\beta}_u^{S_1} + \left[1 - \left(\frac{1}{\sqrt{2}}\right)\right]\hat{\beta}_u^{S_2} \quad (22)$$

Daha sonra, ikinci alt örneklem kullanılarak bağımlı değişkenin seçilen bir değeri ile kısıtlanmamış örneklem elde edilir. Bu sınırlanmamış örneklem ile MNL tahmin edilerek $\hat{\beta}_u^{S_2}$ tahminleri elde edilir. Small-Hsiao test istatistiği aşağıdaki denklemden elde edilir. (Long ve Freese, 2001:152).

$$SH = -2[L(\hat{\beta}_u^{S_1 S_2}) - L + (\hat{\beta}_u^{S_2})] \quad (23)$$

Bu istatistik K bağımsız değişken sayısı olmak üzere $(K+1)$ serbestlik dereceli χ^2 dağılımı gösterir.

4. UYGULAMA

Çalışmada kullanılan veriler, Pew Araştırma Merkezi'nden <https://www.pewresearch.org/> alınan verilere dayanmaktadır. Crowson, H.M. (2020) çalışması kullanılarak geliştirilmiştir. Bu çalışmada Covid-19'un kişisel sağlık açısından tehdit oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır. Orijinal vakaların 8914'ünden rastgele örnekleme yöntemi ile 1071 vaka(yaklaşık %12) ile yapılmıştır. Bu uygulamada örnekleme ağırlıkları kullanılmamıştır. Bağımlı değişken Covid tehditi (0=tehdit değildir, 1=küçük tehdit, 2=büyük tehdit) olarak alınmıştır. Bağımsız değişkenler ise; cinsiyet (0=erkek, 1=kadın), yaş (0=18-29, 1= 30-49, 2=50-64, 3=65+), eğitim düzeyi (0=lise altı mezunu ile 5=lisansüstü) ve Covid-19 ile ilgili ne kadar haber ve bilginin uydurulmuş görüldüğü "Covid uydurma", (0=tam olarak değil ile 3=çok fazla) değişkenlerinden oluşmaktadır.

Analizler için STATA 16 paket programı kullanılmıştır. Veri kümesindeki değişkenlerin frekans dağılımı ve tanımlayıcı istatistikler Tablo 2'de verilmiştir. Bağımsız değişkenlerin tümü kategorik olarak verilmiştir.

Tablo 2: Değişkenlerin Frekansları ve Yüzde Değerleri

	Frekans	%
Covid tehditi		
Tehdit değil	215	20.13
Küçük tehdit	593	55.52

	Büyük tehdit	260	24.34
Cinsiyet	Erkek	479	44.89
	Kadın	588	55.11
Yaş	18-29	107	10.04
	30-49	338	31.71
	50-64	324	30.39
	65+	297	27.86
Eğitim Düzeyi	Lise altı	24	2.24
	Lise mezunu	107	10.00
	Üniversite Terk/Kolej	224	20.93
	Ön lisans	91	8.50
	Üniversite	302	28.22
	Lisansüstü	322	30.09
Covid Uydurma	Tam Olarak Değil	221	20.75
	Fazla Değil	348	32.68
	Biraz	384	36.06
	Çok Fazla	112	10.52

Paralel eğimler varsayımının sağlanıp sağlanmadığını araştırmak için önce multinomial modellerden önce OLM ve OPM yapılmıştır.

4.1 Sıralı Logit Model Sonuçları

Çoklu tercih modellerinde bağımlı değişken olarak kullanılan covid tehditi nominal ve üç kategoriden oluşan bir tercihtir. Bu nedenle ilk aklı gelen modeller OLM ve OPM modelleridir. Bu modeller paralel eğimler varsayımı gerektir. OLM ile elde edilen sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3: Sıralı Logit Model Sonuçları

Covid tehdit	Coef.	Std. Err.	z	P>z	[95% Conf.	Interval]
Cinsiyet	.3802843	.1231997	3.09	0.002	.1388173	.6217512
Yaş						
30-49	.1039138	.2207828	0.47	0.638	-.3288126	.5366402
50-64	.3179641	.2207787	1.44	0.150	-.1147542	.7506823

65+	.9111929	.2259951	4.03	0.000	.4682506	1.354.135
Eğitim düzeyi	-.1372646	.0427945	-3.21	0.001	-.2211403	-.0533889
Covit Uydurma						
Fazla değil	-.2526455	.1686265	-1.50	0.134	-.5831473	.0778564
Biraz	-.3902059	.1676047	-2.33	0.020	-.718705	-.0617068
Çok fazla	-.710216	.2454641	-2.89	0.004	-1.191.317	-.2291152
/cut1	-1.768399	.3156939			-2.387147	-1.14965
/cut2	.8955482	.3116139			.2847961	1.5063
N = 1053 LR chi2(8) = 64.34 Prob > chi2 = 0.0000 Pseudo R2 = 0.0309						

Tablo 3'e göre cinsiyet, +65 yaş, eğitim düzeyi ve covit uydurma değişkeninin 2. ve 3. kategorileri anlamlı bulunmuş ($p < 0.05$) diğer değişkenler ise anlamsız bulunmuştur. Covid tehdit seviyeleri arasında ayırım yapmak için kullanılan kesme noktaları veya eşikler en altta (cut 1, cut 2) olarak görülmektedir. 3 düzeyli bağımlı değişken için tahmin edilen eşik parametresi 2'dir. Sıralı logit (probit) modeli, sonucun her kategorisi arasındaki mesafenin orantılı olduğunu varsayar. Bu model tahmininden sonra paralel eğimler varsayımı Brant testi ile yapılmıştır. Test sonuçları Tablo 4'deki gibidir.

Tablo 4: Brant Testi

	chi2	p>chi2	df
All	109.41	0.000	8
Cinsiyet	0.38	0.540	1
30-49	0.08	0.774	1
50-64	1.53	0.216	1
65+	2.08	0.149	1
Eğitim düzeyi	41.29	0.000	1
Fazla değil	4.77	0.029	1
Biraz	2.60	0.107	1
Çok Fazla	11.98	0.001	1

A significant test statistic provides evidence that the parallel regression assumption has been violated.

Paralel eğimler yani orantılı oranların genel testi anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Bu test bu veriler için OLM'in uygun olmadığını gösterir. Brant testi "eğitim düzeyi" ve "covid uydurma" değişkenleri paralel eğimler varsayımını açısından sorunlu olduğunu yani varsayımı ihmal ettiğini, diğer değişkenlerin ise varsayımı ihmal etmediğini gösteriyor.

4.2. Sıralı Probit Model Sonuçları

Paralel eğimler varsayımı OPM içinde geçerlidir. Bu model elde edilen sonuçlar açısından karşılaştırma amacıyla verilmiştir. OPM ile elde edilen sonuçlar Tablo 5’de yer almaktadır.

Tablo 5: Sıralı Probit Model Sonuçları

Covid tehdit	Coef.	Std. Err.	z	P>z	[95% Conf. Interval]
Cinsiyet	.2258293	.0713035	3.17	0.002	.0860771 .3655816
Yaş					
30-49	.0579243	.1258606	0.46	0.645	-.1887579 .3046065
50-64	.1792697	.1261872	1.42	0.155	-.0680526 .4265921
65+	.536427	.1291892	1.15	0.000	.2832209 .7896331
Eğitim düzeyi	-.0752762	.0243704	-3.09	0.002	-.1230414 -.0275111
Covid uydurma					
Fazla değil	-.1373983	.0982748	-1.40	0.162	-.3300135 .0552168
Biraz	-.2210767	.0972912	-2.27	0.023	-.4117639 -.0303894
Çok fazla	-.3853349	.1342142	-2.87	0.004	-.64839 -.1222798
/cut1	-1.025.819	.1777754			-1.374.253 -.6773861
/cut2	.5804532	.1766918			.2341436 .9267628
N= 1053 LR chi2(8) = 64.16 Prob > chi2 = 0.0000 Pseudo R2 = 0.0308					

Katsayılar anlamlılıkları incelendiğinde OLM benzer sonuçlar bulunmuştur. Tablo 6’ya göre göre cinsiyet, +65 yaş, eğitim düzeyi ve covid uydurma değişkenin 1. kategorisi anlamlı bulunmuş ($p < 0.05$) diğer değişkenler ise anlamsız bulunmuştur. Fakat elde edilen parametre değerleri farklıdır.

4.3. Multinomial Logit Model Sonuçları

Çoklu tercihler için en çok kullanılan model MNL’dir. MNL model için temel kategori “tehdit değil” değişkeni olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 6’daki gibidir.

Tablo 6: Multinomial Logit Model Sonuçları

Covid tehdit	Coef.	Std. Err.	z	P>z	[95% Conf.	Interval]
Tehdit değil (base outcome)						
Küçük tehdit						
Cinsiyet	.3967836	.1697785	2.34	0.019	.0640239	.7295433
Yaş						
30-49	.1223457	.271967	0.45	0.653	-.4106999	.6553913
50-64	.5186019	.2789624	1.86	0.063	-.0281544	1.065.358
65+	1.053787	.3099478	3.40	0.001	.4463009	1.661.274
Eğitim düzeyi	.2119027	.0591778	3.58	0.000	.0959163	.327889
Covid uydurma						
Fazla değil	.2687333	.2497332	1.9	0.282	-.2207347	.7582014
Biraz	.0249606	.2398452	0.10	0.917	-.4451273	.4950486
Çok fazla	-1.281263	.3091972	-4.14	0.000	-1.887.278	-.6752474
Sabit	-.4944169	.4092987	-1.21	0.227	-1.296.628	.3077939
Büyük Tehdit						
Cinsiyet	.6468398	.1982311	3.26	0.001	.258314	1.035.366
Yaş						
30-49	.1115759	.3280001	0.34	0.734	-.5312925	.7544442
50-64	.4586666	.3330906	1.38	0.169	-.194179	1.111.512
65+	1.502443	.3538229	4.25	0.000	.8089631	2.195.924
Eğitim düzeyi	-.152339	.0657143	-2.32	0.020	-.2811366	-.0235414
Covid uydurma						
Fazla değil	-.2916847	.2800257	-1.04	0.298	-.8405251	.2571556
Biraz	-.5616132	.2718696	-2.07	0.039	-1.094.468	-.0287585
Çok fazla	-.8174252	.3196978	-2.56	0.011	-1.444.021	-.190829
Sabit	.3064076	.4559918	0.67	0.502	-.5873199	1.200.135
N = 1053 LR chi2(16) = 150.82 Prob > chi2 = 0.0000 Pseudo R ² = 0.0724						

Temel kategorimiz olarak “tehdit değil” kategorisini atadığımız için, bu seviye için herhangi bir katsayı veya test sağlanmamıştır. Tablo 6 incelendiğinde LR testi ile en az bir popülasyon regresyon eğiminin sıfırdan önemli ölçüde farklı olup olmadığı test edilir. Likelihood ratio chi-square test [LR $\chi^2(16) = 150.82$ $p < .05$] anlamlı bulunmuştur. Bu nedenle, en az bir popülasyon regresyon eğiminin sıfırdan önemli ölçüde farklı olduğu sonucuna varılabilir. McFadden'ın Pseudo R^2 değeri EKKY'ndeki R^2 ile aynı şekilde hesaplanmaz. Bu nedenle, yorumları da farklıdır. Buradaki R^2 değeri, boş modele göre model uyumundaki orantılı gelişimin bir indeksi olarak düşünülebilir (Pitch and Stevens, 2016). R^2 'ye göre, tahmin edicileri içeren tam modelin, boş modele göre uyumda %7,24'lük bir iyileşmeyi temsil ettiğini söyleyebiliriz.

Elde edilen test sonuçlarına göre 30-49 ve 50-64 yaş ve covid uydurma “fazla değil” değişkenleri dışındaki tüm değişkenlere ilişkin katsayıların %0.05 anlamlılık düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. “küçük tehdit” kategorisi için “cinsiyet” değişkeni pozitif ve anlamlıdır ($b = .3967836$, $s.e. = .1697785$, $p = .05$). Kadınlar için “küçük tehdit” kategorisinde (“tehdit değil” kategorisine göre) olma log-oranının erkeklerden .3967836 puan daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Pozitif eğim kadınların, erkeklere kıyasla hastalığa “küçük tehdit” olarak inanma riskinin daha yüksek ve “tehdit olmadığına” inanma riskinin daha düşük olduğunu göstermektedir. “Eğitim düzeyi” değişkeni pozitif ve anlamlıdır ($b = .2119027$, $s.e. = .0591778$, $p < .05$). Bu sonuç, daha fazla eğitime sahip kişilerin, daha az eğitilmiş kişilere göre Covid-19'un kişisel sağlık için “küçük bir tehdit” (“tehdit değil” temel kategorisine göre) olduğuna inanma riskinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. “Covid uydurma” değişkeni negatif ve anlamlıdır ($b = -1.281263$, $s.e. = .3091972$, $p < .05$). Covid-19 ile ilgili haberlerin “uydurma” olduğuna daha fazla inanan kişilerin, hastalığın “küçük bir tehdit” olduğuna inanma riskinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. “büyük tehdit” içinde “tehdit değil” kategorisine göre benzer yorumlar yapılabilir.

Parametrelerin bağımsızlığı testi LR veya Wald testi ile yapılmıştır. Tablo 7'de MNL modelinde yer alan tüm değişkenlere ilişkin katsayıların sıfıra eşit olduğu belirten H_0 hipotezinin test edilmesinde LR ve Wald testleri kullanılmıştır.

Tablo 7: Bağımsız değişkenler için LR ve Wald Testi

	LR testleri			Wald testleri		
	chi2	df	P>chi2	chi2	df	P>chi2
Cinsiyet	10.916	2	0.004	10.816	2	0.004
Yaş						
30-49	0.216	2	0.898	0.218	2	0.897

50-64	3.544	2	0.170	3.646	2	0.162
65+	19.072	2	0.000	19.014	2	0.000
Eğitim düzeyi	49.810	2	0.000	47.938	2	0.000
Covid Tehdit						
Fazla değil	7.222	2	0.027	7.215	2	0.027
Biraz	8.152	2	0.017	8.196	2	0.017
Çok fazla	17.823	2	0.000	17.297	2	0.000

Tablo 7'ye göre LR ve Wald testi sonuçları incelendiğinde, 30-49 ve 50-64 yaş grubu dışındaki değişkenlerin etkilerinin ($p < .05$) anlamlı olduğunu görebiliriz. Çok büyük bir veri kümeniz veya çok karmaşık bir modeliniz varsa, LR testleri uzun zaman alabilir. Bu gibi durumlarda sadece Wald testlerini kullanmak yeterli olabilir. Çünkü Wald testi yalnızca kısıtlı modelin tahminini gerektirir. Son olarak, LR ve Wald testleri ile bağımlı değişken alternatiflerinin birleştirilebilirliğini test edilmiştir. Bu sonuçlar alternatiflerin birleştirilemeyeceğini göstermiştir (Tablo 8). Modeldeki değişkenlere göre iki sonuç ayırt edilemez ise, bunları birleştirerek daha verimli tahminler elde edilip edilmeyeceğini araştırmak için kullanılır.

Table 8: Alternatifleri birleştirmek için LR ve Wald testleri

	LR combine			Wald Combine		
	chi2	df	P>chi2	chi2	df	P>chi2
Tehdit değil & küçük tehdit	75.215	8	0.000	68.604	8	0.000
Tehdit değil & büyük tehdit	60.550	8	0.000	53.756	8	0.000
Küçük tehdit & büyük tehdit	85.720	8	0.000	78.912	8	0.000

MNL modelin en önemli varsayım IIA varsayıdır. Bundan dolayı elde edilen MNL sonuçlarına göre IIA varsayımı test edilmiştir. Bu varsayımın için Hausmann Test sonuçları Tablo 9 ve Tablo 10' da verilmektedir.

Table 9: IIA varsayımı Hausman testleri (1)

	chi2	df	P>chi2
Tehdit değil	11.966	9	0.215
Küçük tehdit	-1.324	9	.
Büyük tehdit	1.164	9	0.999

Ho: Odds(Outcome-J vs Outcome-K) are independent of other alternatives

Note: A significant test is evidence against Ho.

Note: If $\chi^2 < 0$, the estimated model does not meet asymptotic assumptions.

MNL modelde temel kategori seçimi önemlidir. Buna göre elde edilen sonuçlar değişmektedir. Hausman testi, sıfır hipotezi alternatiflerin birbirinden bağımsız olduğunu ifade etmektedir. Bu durum Tablo 8'de de

görülmektedir. Temel kategori seçiminde şu stratejiler izlenebilir (Brown, 2022):

- Olması gereken kategoriye kullanılır. Çoğu durumda, en mantıklı veya önemli karşılaştırmalar en olması gereken grupta yapılır.
- En yüksek frekansa sahip kategoriye kullanılır. Genellikle paket programlarda default olarak en yüksek kategoriye seçer.
- Ortalaması ortada veya bunun tersi olarak uçlardan birinde olan kategoriye kullanılır.

Table 10: IIA varsayımı Hausman testleri (2)

	(b)	(B)	(b-B)	$\sqrt{\text{diag}(V_{b-V} - V_B)}$
	partial	all	Difference	S.E.
Cinsiyet	.2452579	.2500562	-.0047983	.0255204
Yaş				
30-49	-.0205984	-.0107698	-.0098286	.0500316
50-64	-.0368929	-.0599353	.0230424	.046602
65+	.4680019	.4486559	.0193459	.0482332
Eğitim düzeyi	-.3679652	-.3642417	-.0037235	.007317
Covid uydurma				
Fazla değil	-.5841046	-.5604181	-.0236865	.0267235
Biraz	-.6028459	-.5865738	-.0162721	.0258957
Çok fazla	.4736555	.4638377	.0098178	.0539822
_cons	.8222299	.8008245	.0214054	.0783423
b = consistent under Ho and Ha; obtained from mlogit B = inconsistent under Ha, efficient under Ho; obtained from mlogit Test: Ho: difference in coefficients not systematic $\chi^2(9) = (b-B)'[(V_{b-V} - V_B)^{-1}](b-B)$ $= 11.97$ Prob>chi2 = 0.2152 (V _{b-V} - V _B is not positive definite)				

Hausman-McFadden test istatistik değeri pozitif olarak bulunursa IIA varsayımı sağlanır. Ki-kare değerinin negatif bulunması ise sıfır hipotezinin reddedilmesi için güçlü bir kanıttır. Bu durumda suest testi yapılabilir. IIA varsayımı için suest testi sonuçları Tablo 11'de verilmiştir.

Table 11: IIA varsayımı suest-based Hausman testleri

	chi2	df	P>chi2
Tehdit değil	2.587	9	0.978
Küçük tehdit	3.761	9	0.926
Büyük tehdit	3.319	9	0.950

Suest tabanlı teste göre, bağımsız alternatiflerin sıfır hipotezinin reddedilemeyeceği sonucuna varabiliriz. IIA varsayımının sağlanması konusunda Hausman testi ile karar verilemediğinde alternatif bir test olan Small-Hsiao testi kullanılabilir (Long ve Freese, 2001: 189).

Table 12: IIA varsayımı Small-Hsiao testleri

	lnL(full)	lnL(omit)	chi2	df	
Tehdit değil	-265.802	-262.668	2.17	9	0.713
Küçük tehdit	-146.244	-142.812	6.865	9	0.651
Büyük tehdit	-206.882	-202.505	8.754	9	0.460

Note: A significant test is evidence against Ho.

Small ve Hsiao test sonuçları Tablo 12’de verilmektedir. Hausman testine göre IIA varsayımı “küçük tehdit” için sağlanamaz iken Small ve Hsiao testine göre IIA varsayımı sağlanmaktadır. Alternatiflerin birbirinden bağımsız oldukları söylenebilir.

4.4. Multinomial Probit Sonuçları

MNP model varsayım gerektirmeyen bir modeldir. Çoklu tercihler için en sık kullanılan model MNL iken IIA varsayımının sağlanmaması durumunda MNP modeli tercih edilmektedir. Bu model için elde edilen sonuçlar Tablo 13’te verilmiştir. Bu model içinde de temel kategori “tehdit değil” alınmıştır.

Tablo 13: Multinomial Probit Model Sonuçları

Covid Tehdit	Coef.	Std. Err.	z	P>z	[95% Conf.	Interval]
Tehdit değil	(base outcome)					
Küçük tehdit						
Cinsiyet	.2828016	.1298872	2.18	0.029	.0282273	.5373758
Yaş						
30-49	.0813514	.2159587	0.38	0.706	-.3419199	.5046227
50-64	.3923051	.2196639	1.79	0.074	-.0382281	.8228384
65+	.7471642	.2337602	3.20	0.001	.2890026	1.205.326

Eğitim düzeyi	.1777203	.0450118	3.95	0.000	.0894987	.2659419
Covid uydurma						
Fazla değil	.2242327	.1859222	1.21	0.228	-.1401681	.5886335
Biraz	.0435434	.1807786	0.24	0.810	-.3107761	.3978629
Çok fazla	-1.00559	.238348	-4.22	0.000	-1.472.744	-.5384366
_cons	-.4069095	.31442	-1.29	0.196	-1.023.161	.2093424
<hr/>						
Büyük tehdit						
Cinsiyet	.471551	.1435896	3.28	0.001	.1901205	.7529815
Yaş						
30-49	.0769097	.2421451	0.32	0.751	-.3976861	.5515055
50-64	.3267317	.2450833	1.33	0.182	-.1536227	.8070861
65+	1.084633	.2547886	4.26	0.000	.5852568	158.401
Eğitim düzeyi	-.1173278	.0479033	-2.45	0.014	-.2112167	-.023439
Covid uydurma						
Fazla değil	-.2227381	.2002047	-1.11	0.266	-.6151322	.1696559
Biraz	-.4142187	.1958234	-2.12	0.034	-.7980255	-.0304118
Çok Fazla	-.6234023	.2426905	-2.57	0.010	-1.099.067	-.1477377
Sabit	.2593817	.3353571	0.77	0.439	-.3979061	.9166696
<hr/>						
N = 1053 Wald chi2(16) = 141.59 Prob > chi2 = 0.0000						

MNP model sonuçlarına göre 30-49 ve 50-64 yaş ve Covid uydurma 1. kategorisi dışındaki değişkenler %0.05 anlamlılık düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 6 ve Tablo 13'te elde edilen katsayılar istatistiksel anlamlılık konusunda bilgi vermekte fakat etkilerin büyüklüğünü açıklamamaktadır. Etkilerin büyüklüklerini anlaşılabilir bir şekilde açıklayan farklı olasılık tahminleri kullanılmaktadır. Bu olasılık tahminleri içinde yaygın olarak kullanılanlardan biri marjinal etkilerdir. Marjinal etki, açıklayıcı değişkende meydana gelen bir değişimin bağımlı değişkenin gerçekleşme olasılığında yarattığı marjinal değişimi ölçmektedir (Güneş vd, 2017:138). Bu değişim, açıklayıcı değişkenlerin ortalamalarında sabit

tutularak hesaplanan kümülatif yoğunluk fonksiyonunun ilgili açıklayıcı değişken ile çarpılması sonucu elde edilmektedir.

5. SONUÇ

Bağımlı değişken nitel yani nominal ya da ordinal bir değişken olduğunda değişkenler arasındaki ilişkilerin araştırılmasında kesikli seçim modelleri kullanılmaktadır. Bağımlı değişken nitel fakat sıralı yapıda ise sıralı logit ve sıralı probit modelleri tercih edilir. Fakat bu iki model paralel eğimler varsayımı gerektirir. Sıralı logit (probit) modeli, sonucun her kategorisi arasındaki mesafenin orantılı olduğunu varsayar. Bu paralel eğimler varsayımı olarak bilinir. Uygulamada, bu varsayımı ihlal etmek, önemli sonuçlarınızı değiştirebilir veya değiştirmeyebilir. Durumun böyle olup olmadığını test etmek gerekir. Orantılı olasılıklar yani paralel eğimler varsayımının geçerli olup olmadığını test etmek için bir Brant tarafından geliştirilen Wald testi ya da LR testi yaygın kullanılan testlerdir.

Literatürde bağımlı değişken ikiden fazla kategoriye sahip olduğunda doğal sıralamaya sahip değilse genel olarak MNL ve MNP regresyon modellerinin uygulanması önerilmektedir. MNL'de kategorilere ait odds oranlarının diğer kategorilerden bağımsız olmasını gerektiren varsayım mevcut iken, MNP'de böyle bir varsayım olmadığından kesikli seçim modellerinde bu yöntem kullanılabilir. MNL model uygulaması ve yorumlaması kolay olduğu için en çok tercih edilen modellerden biridir. Fakat bu modelin kullanılabilmesi için IIA varsayımını sağlaması gerekir. Bu varsayım sağlanmadığında farklı modeller tercih edilmelidir. Bunlar arasında artık yaygın olarak kullanılan MPM de vardır., Çoklu normal integrallerin hesaplama güçlüğü MNP'nin temel dezavantajıdır ve araştırmacılar için modeli uygulanamaz yapmaktadır. Günümüzde hızla artan hesaplama gücü, bilgisayar algoritmalarındaki gelişmeler ve SSPS; STATA vb. standart istatistiksel paket programlarda bu modellerin yer alması MNP modelini uygulanabilir hale getirmiştir.

Bu çalışmada bağımlı değişken nominal bir ölçekle üç kategorili nitel bir değişken ile ölçüldüğünden dolayı çoklu tercih modelleri ile analiz edilerek karşılaştırmalar yapılmıştır. Tablo 14'te özet olarak bu modeller için bulunan sonuçlar verilmiştir.

Tablo 14: Model Karşılaştırma Sonuçları

		ologit	oprobit	mlogit	mprobit
Log-likelihood					
	Model	-1009.994	-1010.084	-966.753	-966.125
	Intercept-only	-1042.164	-1042.164	-1042.164	
Chi-square					
	Deviance(df=1043)	2019.988	2020.168	1933.505	1932.250
	LR(df=8)	64.340	64.160	150.823	141.590
	p-value	0.000	0.000	0.000	0.000
R2					
	McFadden	0.031	0.031	0.072	
	McFadden(adjusted)	0.021	0.021	0.055	
	McKelvey & Zavoina	0.068	0.074	0.133	
	Cox-Snell/ML	0.059	0.059	0.155	
	Cragg-Uhler/Nagelkerke	0.069	0.069	0.581	
	Count	0.561	0.561	0.050	0.581
	Count(adjusted)	0.004	0.004		0.050
IC					
	AIC	2039.988	2040.168	1969.505	1968.250
	AIC divided by N	1.937	1.937	1.870	1.869
	BIC(df=10)	2089.582	2089.762	2058.774	2057.519
Variance of					
	e	3.290	1.000		
	y-star	3.529	1.080		

Tablo 14 incelendiğinde bilgi kriterleri açısından da MNL ve MNP modellerin birbirine çok yakın sonuçlar verdiği, Log likelihood en düşük değerini yine bu modeller için bulunduğu görülmektedir. Sonuç olarak hangi modelin kullanılacağına karar vermeden önce değişkenlerin sıralı yapıda olup olmadığı ve varsayımların sağlanıp sağlanmadığı da test edilmelidir. Aksi takdirde elde edilen sonuçlar hatalı kestirimlere neden olabilir.

KAYNAKLAR

- Alexander, R.K. (2004). *A Tractable Cross-Nested Logit Model for Evaluating Two-Way Interconnection Competition With Multiple Network Subscription*. The George Washington University.
- Alkan, Ö., ve Yarbaşı, İ.Y. (2020). Investigation of Alcohol Consumption Determinants in Turkey With Multinomial Probit Model. *In Global Developments in Healthcare and Medical Tourism* (pp. 134-161). IGI Global.
- Altınışık, Z. (2007). *Multinomial Probit Modeller*, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoistatistik Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Alvarez, R. M. and Nagler, J. (1994). *Correlated Disturbances in Discrete Choice Models: a Comparison of Multinomial Probit Models and Logit Models. Working Papers 914*, California Institute of Technology, Division of the Humanities and Social Sciences.
- Barak, N.A (2005). *Sıralı (Ordinal) ve Multinomial Logit Modeller Üzerine Bir Uygulama*, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoistatistik Programı, Yüksek Lisans Tezi.
- Brant, R. (1990). Assessing Proportionality in The Proportional Odds Model for Ordinal Logistic Regression. *Biometrics*, 46(4): 1171-1178.
- Brown, D.C. (2022). *Models for Ordered and Unordered Categorical Variables*. Population Research Center. 16 Mart 2022 tarihinde adresinden alındı. https://liberalarts.utexas.edu/prc/_files/cs/Multinomial_Ordinal_Models.pdf
- Crowson, H. M. (2020). *Multinomial Logistic Regression using Stata: Covid-19 threat perceptions from Pew Data*. [Powerpoint slides]. Retrieved September 08, 2020, from <https://drive.google.com/open?id=15kGpOdKZeIxpkkgZokevv8AZasoMOByq>
- Davidson, R. and MacKinnon, J. G. (1999). *Econometric Theory and Methods*. New York: Oxford University Press.
- Fulerton, A.S. and Xu, J. (2012). The Proportional Odds With Partial Proportionality Constraints Model For Ordinal Response Variables. *Social Science Research*, 41(2012): 182-198.
- Güneş C., Üçdoğruk B.Ş., Yıldırım, Z. (2017). Childcare Choices of Working Women: Comparison of Discrete Choice Models with Pooled Data, *Journal Of Social Security*, 7(1): 123-144.

- Hardin, J., Hilbe, J. (2001). *Generalized Linear Models and Extensions*, Stata Corporation Press, USA.
- Hausman, J. and McFadden, D. (1984). Specification Tests for the Multinomial Logit Model. *Econometrica*, 52:1219-40.
- Kleinbaum, D.G. and Klein, M. (2010). *Ordinal Logistic Regression*. In: *Kleinbaum, D.G. and Klein, M., Eds., Logistic Regression*, Springer, New York, 463-488.
- Keane, P.M. (1992). A Note on Identification in the Multinomial Probit Model, *Journal of Business & Economic Statistics*, 10(2): 193-200.
- Koop, G. (2003). *Bayesian Econometrics*, England: John Wiley&Sons, Inc.
- Liao, T. F. (1994). *Interpreting Probability Models: Logit, Probit, and Other Generalized Linear Models*, Sage Publications, Thousand Oaks, CA.
- Long, J. S. (1997). *Regression Models for Categorical and Limited Dependent Variables*. Sage Publication, California.
- Long, J. S., Freese, J. (2001). *Regression Models For Categorical Dependent Variables Using Stata*. Stata Press, Texas.
- McFadden, D. (1984). *Econometric Analysis of Qualitative Response Models. Handbook of Econometrics* (ss. 1395-1446). North Holland, Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Powers, D. A. and Xie, Y. (1999). *Statistical Methods for Categorical Data Analysis*. Burlington: Academic Pres, Inc.
- Pitch, K.A. and Stevens, J.A. (2016). *Applied Multivariate Statistics for The Social Sciences (6th ed)*. New York: Routledge.
- Sigeze, Ç. (2017). Multinomial Probit Modelinde Bayes Yaklaşımı: Türkiye'de Yağ Tüketim Tercihinin İncelenmesi. *Trakya University Journal of Social Science*, 19(2). 441-459.
- Small, K.A. and Hsiao, C. (1985). "Multinomial Logit Specification Tests", *International Economic Review*, 26(3): 619-627.
- Suarez, A., Del Bosque, I.R.G, Rodríguez-Poo, J.M, Moral, I. (2004). Accounting for Heterogeneity in Shopping Centre Choice Models. *Journal of Retailing and Consumer Services*, 11, 119-129.