

Bilimsel Keşifler ve Uygulamalar: İlaç Araştırmalarından Gıda Endüstrisine, Bitki Biyolojisi ve Kimyada Polimer Kimyasına Geniş Bir Bakış

Editör
BURAK TÜZÜN

BİDGE Yayınları

Bilimsel Keşifler ve Uygulamalar: İlaç Araştırmalarından Gıda Endüstrisine, Bitki Biyolojisi ve Kimyada Polimer Kimyasına Geniş Bir Bakış

Editör: Doç. Dr. Burak TÜZÜN

ISBN: 978-625-6707-70-2

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.12.2023

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya / Ankara



ÖNSÖZ

İnsan sağlığına yönelik yapılan her türlü hizmetler, toplumlar için en temel ve önemli önceliklerden biridir. Bilimsel ve teknolojik ilerlemeleri, çağımızda sağlık alanında, mühendislik alanında ve temel bilimlerde önemli katkılarda bulunmaktadır. Bu ilerlemeleri yakından takip etmek, meydana gelen gelişmeleri uygulamaya çalışmak ve yeniliklere öncülük etmek büyük bir önem kazanmaktadır. Bidge yayınları olarak, cumhuriyetimizin 100. yılında önemli bir yayınevi olma yolunda faaliyet göstermektedir.

Bilim ve teknoloji, insanlık tarihindeki en heyecan verici ve dönüştürücü güçlerden biridir. Bu kitap, bir dizi derinlemesine araştırma ve uygulama alanını bir araya getirerek, bilimsel keşiflerin ve teknolojik uygulamaların çağımızdaki çeşitli yönlerine geniş bir bakış sunmaktadır.

İlaç Araştırmaları başlıklı bölüm, yeni nesil ilaçların keşfi için yapılan çeşitli çalışmaları ele alır. Moleküler düzeydeki bu keşifler, sağlık endüstrisine önemli katkılarda bulunma potansiyeli taşıyan yenilikçi çözümleri ortaya koyacağı umulmaktadır. Gıda Endüstrisinde Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Önemi bölümü, doğadan elde edilen kaynakların gıda endüstrisindeki kilit rolünü vurgular. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı, hem lezzet hem de sağlık açısından zengin bir bakış açısı sunar. *Cistus Laurifolius L.* (Defne Yapraklı Laden) Bitkisinin (Hct-116; Kolektoral Kanseri Eritir), Bazı Biyolojik ve Fitokimyasal Özelliklerin Araştırılması başlıklı bölüm, bitki biyolojisi ve fitokimyanın kanser araştırmalarına olan etkisini keşfeder. Yaprak Örneklemesi ve Analiz Hazırlama bölümü, örnek hazırlama süreçlerinin önemini vurgular ve analitik çalışmalara güçlü bir temel oluşturarak önemli bir yol gösterici olacaktır. Atık Sulardan Ağır Metal Giderimi bölümü, çevresel sürdürülebilirlik adına yapılan önemli çalışmalara odaklanarak, atık suların temizlenmesine yönelik yenilikçi çözümleri ele almaktadır. 1,2,3-Triazololler: Özellikleri ve Sentez Yöntemleri başlıklı bölüm, organik kimyanın önemli bir alanı olan triazolollerin özelliklerini ve sentez yöntemlerini incelemektedir. Polimer Kimyasına Geniş Bir Bakış başlıklı bölüm, çeşitli polimer malzemelerinin kimyasal

özelliklerini ve uygulama alanlarını kapsar, özellikle kontakt lens potansiyeline sahip polimerlerin kimyasına odaklanır.

Bu kitap, bilim dünyasındaki önemli keşifleri ve uygulamaları bir araya getirerek, okuyuculara çeşitli disiplinlerdeki son gelişmeler hakkında geniş bir perspektif sunmayı amaçlamaktadır. Umarız bu sayfalar, bilim ve teknolojiye olan merakınızı körükler ve gelecekteki keşiflere ilham kaynağı olur.

Editör

Doç. Dr. Burak TÜZÜN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	3
İÇİNDEKİLER	5
Yeni Nesil İlaç Araştırmalarında 1,2,3-Triazoller	7
Sultan ONUR	7
Ferhan TÜMER.....	7
Gıda Endüstrisinde Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Önemi	24
Nurten CENGİZ	24
<i>Cistus Laurifolius</i> L. (Defne Yapraklı Laden) Bitkisinin (Hct-116; Kolekteral Kansere Eritel), Bazı Biyolojik Ve Fitokimyasal Özelliklerin Araştırılması.....	72
Hasan Basri Karayel.....	72

<i>Yaprak Örneklemesi Ve Analiz Hazırlama</i>	86
Melek GÖKMEN KARAKAYA	86
<i>Atık Sulardan Ağır Metal Giderimi</i>	109
Nurhayat Atasoy	109
1,2,3-Triazoller: Özellikleri ve Sentez Yöntemleri	136
Sultan ONUR	136
Ferhan TÜMER	136
Kontakt Sert Lens Potansiyeline Sahip Polimerlerin Kimyası	156
Gülşah KURT	156
Poli(vinilpirolidon-co-bütüla akrilat-co-N-hidroksimetil akrilamit) Terpolimeri Üzerine Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilmiş İnvertaz Enziminin Meyve Sularındaki Sakkaroz Miktarının Belirlenmesinde Kullanımı	185
Hidayet MAZI	185
Orhun HAKKOYMAZ	185
Poli(vinilpirolidon-co-bütüla akrilat-co-N-hidroksimetil akrilamit) Terpolimeri Üzerine Hapsetme Yöntemiyle İmmobilize Edilmiş İnvertaz Enziminin Meyve Sularındaki Sakkaroz Miktarının Belirlenmesinde Kullanımı	203
Orhun HAKKOYMAZ	203
Hidayet MAZI	203

BÖLÜM I

Yeni Nesil İlaç Araştırmalarında 1,2,3-Triazoller

Sultan ONUR¹
Ferhan TÜMER²

Giriş

İlk çağlardan beri sezgi veya tesadüfi gözlemlere dayalı olan doğal ürünlerden elde edilen ilaç keşif süreci bugün yerini deneme yanılma yoluyla ve uzun klinik çalışmalar sonucunda etkili olduğu gözlenen sentetik ilaçlara bırakmıştır. Doğada bulunan bazı bitkisel veya hayvansal maddelerin biyolojik aktivitelerinin anlaşılması ve hastalıkların mikrobiyolojik temelinin kabul edilmesi ile ilaç keşfi çalışmalarının kapısı aralanmıştır ve bu çalışmaların ilk adımını hedef molekül/moleküllerin sentezi oluşturmaktadır. Elde edilen moleküllerin çeşitli hastalıklara karşı biyolojik aktivitelerinin olup olmadığı birtakım testler sonucunda belirlenmektedir. Yapılan testler neticesinde, kayda değer sonuçlar elde edilirse eğer bu

¹ Dr., KSÜ

² Prof. Dr., KTMÜ, KSÜ

Çalışmaların devamı srdrlebilmekte ve başarılı olunduğu takdirde ilaç olarak piyasaya sürülmektedirler. Ancak, teknolojinin hızla ilerlemesi ile beraberinde gelen sağlık sorunları, günümüzde yine insanların doğa ve doğala dönüş eğilimlerini tercih etmelerine sebep olmaktadır [1]. Ancak her doğal ürün yalnızca tedavi edici özellikte değil, kimi zamanda oldukça toksik etkiye de sahip olabilmektedir [2,3].

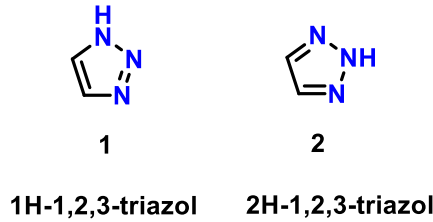
Tabiatta bulunan bitkisel ya da hayvansal kaynaklı ilaçların araştırılması sonucunda yapısında hetero atomların bulunduğu siklik bileşiklerin ilaç endüstrisi için büyük önem arz ettiği grlmektedir. Özellikle yapısında S, O ve N bulunan heterosiklik bileşiklerin etkili biyolojik aktiviteye sahip olması bilim dünyasının dikkatini çekmiştir [4]. Bu sebeple düşük toksisite, daha az yan etki ve yüksek biyolojik etkinlik gösterecek yeni ilaçlara daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır.

Heterosiklik kimya, organik kimyanın uzun bir geçmişi ve gelecekteki beklentilerine sahip olan ayrı bir alandır. Heteroatomların varlığı, bu bileşiklere genellikle tüm karbon halkası analoglarından oldukça farklı fiziksel ve kimyasal özellikler kazandırmaktadır. Hem sentetik hem de doğal çok sayıda heterosiklik bileşik farmakolojik olarak aktif ve klinik olarak kullanımda olduklarından dolayı tüm canlı hücrelerin metabolizması için hayati önem taşır. Tesadüfi olarak keşfedilen ve ilk antibiyotik olarak bilinen penisilinin yapısında da heterosiklik parça mevcuttur ve hetero atom içeren bu siklik yapılar, başka organik moleküllerin sentezlerinde ara basamaklarda kullanılmaları nedeniyle büyük önem taşırlar [5].

Triazoller, geniş bir farmakolojik aktivite aralığına sahip heterosiklik bileşikler sınıfındandır [6]. Yapısında  azot atomu içeren ve beş üyeli olan heterosiklik halkalar, triazol olarak tanımlanır. 1,2,3-triazoller daha yüksek aromatik stabilite göstermeleri nedeniyle hem asidik hem de bazik koşullarda oksidasyon, indirgenme ve hidrolize karşı dirençlidirler. Hidrojen bağı oluşturabilme, dipol-dipol ve π -istifleme etkileşimlerine aktif

katılımları, örneğin reseptörler ve enzimler gibi farklı biyolojik hedeflerle bağlanma yetenekleri gibi birçok özelliğe sahiptirler [7]. 1,2,3-triazoller, metabolik bozunmaya karşı kararlı olmaları, kolaylıkla biyomoleküler hedeflerin bağlanmasını destekleyen ve çözünürlüğü artırabilen hidrojen bağı oluşturma özelliğine sahip olmaları gibi benzersiz özellikleri nedeniyle ilaç keşfi alanında önemli yapı taşları olmuşlardır [8].

1,2,3-triazolün yapısal özelliklerinin, farklı fonksiyonel grupların taklidini sağlayarak yeni aktif moleküllerin sentezinde bir biyoizoster olarak kullanılmaları yaygındır [9]. Bununla birlikte 1,2,3-triazol çekirdeği, çeşitli farmakofor özellikleri sağlar ve hibrit yapılar, bir adet 1,2,3-triazol halkası içerdiklerinde veya bu halkayla birleştirildiklerinde genellikle "öncü bileşikler" olarak kabul edilmektedirler [10].



Şekil 1. 1,2,3-triazol halkasının tautomerik formu.

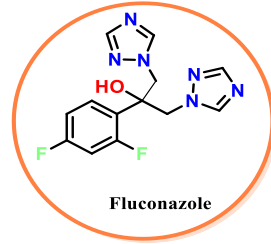
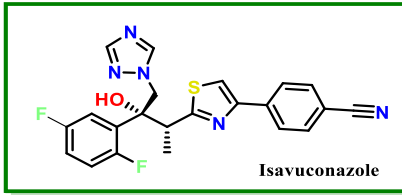
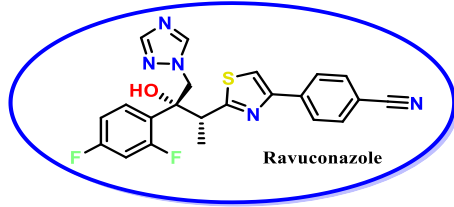
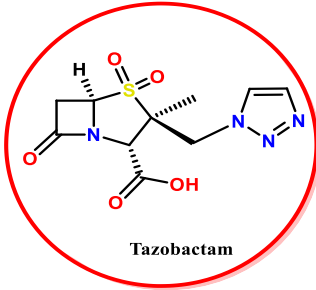
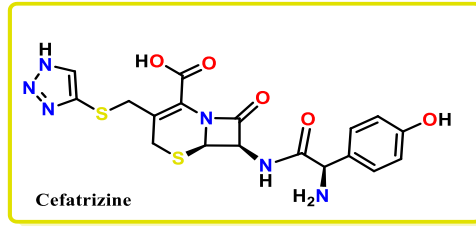
Triazollerin biyolojik aktiviteleri

Etki mekanizması ve seçiciliği her zaman dikkatle incelenmesi gereken N atomu içeren N-heterosiklik bileşikler, kapsamlı farmakolojik aktivite spektrumları ve etkili ilaçların geliştirilmesi için çeşitli yapısal modifikasyona kolayca ulaşması nedeniyle ilaç keşfi çalışmaları için özel bir iskelet yapısına sahiptir [11]. Son 5 yıldır FDA tarafından onaylanan ilaçların önemli bir yüzdesini kapsayan birçok biyoaktif bileşikler, yapısında azot atomu ihtiva eden N-heterosiklik bileşiklerdir [12]. N-heterosiklik bileşikler, yeni ilaç geliştirme çalışmalarına yeni bir boyut

kazandırarak, tıbbi olarak önemli araçlar kabul edilmişlerdir. Bu birimleri içeren bileşikler biyolojik olarak geniş bir spektrumda aktivite göstermektedirler [13]. Azoller, anti-alzheimer, antibakteriyel, anti-fungal, antienflamatuvar, anti-sıtma, anti-HIV gibi çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahip azot atomu barındıran heterosikliklerin önemli bir sınıfını oluştururlar [14]. Her biri farklı etki mekanizmasına sahip farmakofor gruplarından oluşan hibrit bileşiklerin en önemli avantajı, eşsiz bağlanma bölgelerine sahip olmaları ve yeni etki tarzları ile kaydadeğer biyolojik aktivite sergilemeleridir [15–19]. Bunlara ilaveten, bu moleküler hibridler daha iyi farmakokinetik profilleri ile daha düşük direnç eğilimi gösterebilmektedirler.

1,2,3-triazol halkası, metabolik bozunmaya karşı kararlı ve biyomoleküler hedeflerin bağlanmasını kolaylaştırması ile çözünürlüğü artırabilen hidrojen bağı oluşturması gibi yapısal özelliklere sahiptir. Yeni hibrit aktif moleküllerin sentezinde biyoizoster olarak farklı fonksiyonel grupları taklit ederek oldukça kıymetli antimikrobiyal, antiviral ve antitümör etkiler gibi geniş spektrumda biyoaktivite gösteren bir heterosiklik halka olması bakımından ilaç keşfi için son derece kıymetli bir yapı iskeletidir [20].

1,2,3-triazol çekirdeği barındıran birçok önemli tıbbi molekül tedavi amaçlı piyasaya sürülmüş olup bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir [8].

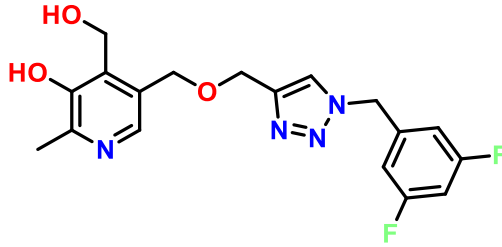


Şekil 2. 1,2,3-triazol çekirdeği barındıran bazı tıbbi moleküller.

İlaç araştırmalarında birçok grup tarafından yoğun bir şekilde sentez ve aktivite belirleme çalışmaları yapılan triazollerin bazı önemli hastalıklara karşı yapılan çalışmalardan bir bölümü aşağıda verilmiştir.

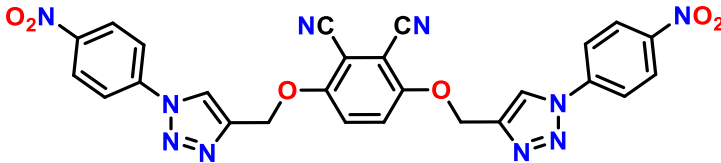
Sharma ve ekibi 2020 yılında bir seri çok hedefli piridoksin bazlı bileşikler sentezlemişlerdir. Elde ettikleri tüm bileşiklerin in vitro testlere tabii tutarak Alzheimer ajanları olarak değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre piridoksin temelli yedi bileşikten altısının iyi AChE inhibisyonu ve antioksidan potansiyele sahip olduğunu ve buna ilaveten antioksidan ve metal şelasyonu gibi çok işlevli özelliklere sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca, halka aktivatörü ile aromatik halkada meta ve

orto pozisyonunda elektron sağlayıcı grubun varlığının AChE aktivitesi için faydalı olduğu kanısına varmışlardır. Seriler arasındaki bileşiklerden birinin ilaç benzerlik aralığında bulunduğunu belirterek, Alzheimer hastalığı tedavisinde yeni bir ilacın geliştirilmesi yolunda kullanılabilecek umut verici ve aynı zamanda çok işlevli bir bileşik olabileceğini öne sürmüşlerdir [21].



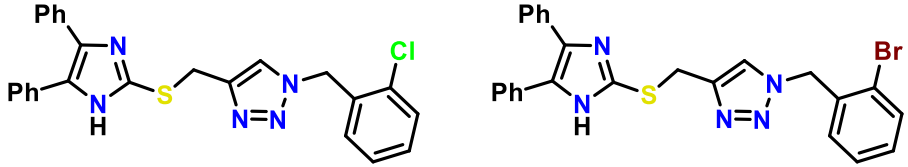
Şekil 3. Yeni piridoksin bazlı 1,2,3-triazol türevi.

Ali ve arkadaşları 2020 yılında, farklı işlevselliklere sahip yeni ftalonitril-bis(1,2,3-triazoles) serileri sentezlemiş ve yapılarını karakterize etmişlerdir. Sentezledikleri tüm molekülleri DNA bağlama, yerleştirme ve antikanser aktiviteleri açısından değerlendirmişlerdir. Bileşiklerin DNA bağlanma sabitlerinin, 1.33×10^5 ile 12.60×10^5 M⁻¹ aralığında olduğunu gözlemlemişler ve güçlü bağlanma afinitesine sahip olduklarını belirtmişlerdir. A549 ve H1299 akciğer kanseri hücre hatlarında maksimum antikanser aktivitesi gösterdiklerini vurgulayarak, moleküllerin iyi antikanser aktivitelerine sahip olması nedeniyle bahsi geçen 1,2,3-triazol yapı iskelelerinin, gelecekte potansiyel antikanser adayları olarak umut vaat eden moleküller olabileceğini öne sürmüşlerdir [22].



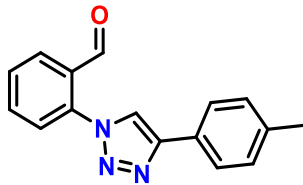
Şekil 4. Yeni ftalonitril bazlı 1,2,3-triazol hibrit bileşiği.

Asgari ve arkadaşları 2020 yılında, bünyesinde 1,2,3-triazol halkası barındıran yeni 4,5-difenil-imidazol hibrit bileşikler sentezlemişlerdir. Sentezledikleri tüm bileşikler α -glukozidaz inhibisyonu açısından incelemişler ve genel olarak tüm bu moleküllerin 85.6 ± 0.4 – 231.4 ± 1.0 μ M aralığındaki IC_{50} değerleri ile standart ilaç olarak kullanılan akarbozdan bile mükemmel inhibe edici aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir [23].



Şekil 5. Yeni 4,5-difenil-imidazol esaslı 1,2,3-triazol hibrit bileşiği.

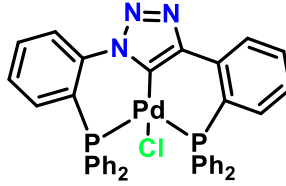
Savegnago ve arkadaşları 2020 yılında 1,2,3-triazol grubu içeren konjugat türevleri sentezlemişler ve moleküler yerleştirme yoluyla Alzheimer hastalığının çoklu terapötik hedefleri ile bağlanma afiniteleri açısından değerlendirmişlerdir (β -sekretaz, glikojen sentaz kinaz ve asetilkolinesteraz). Bileşiklerin farklı enzimlerle olan ilişkileri sonucunda konjugatlardan bir tanesinin bilişsel ve hafıza düşüşünü tersine çevirdiğini vurgulayarak Alzheimer hastalığının tedavisi için umut verici olduğunu bildirmişlerdir [24].



Şekil 6. Yeni 1,2,3-triazol bileşiği.

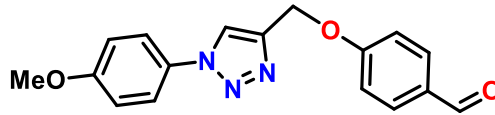
Balakrishna ve arkadaşları 2020 yılında, önce bir seri 1,2,3-triazol temelli bis ve trisfosfin ligandlarını daha sonra da bunların Pd(II) ve Rh(I) komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezledikleri komplekslerin katalitik özelliklerini incelemişler ve Palladyum kısaç kompleksinin Mizoroki-Heck birleştirme reaksiyonunda

oldukça yüksek verim alarak, Heck reaksiyonlarında kullanılabilecek güçlü bir katalizör olduğunu öne sürmüşlerdir [25].



Şekil 7. Yapısında bis ve trisfosfin bulunan yeni 1,2,3-triazol türevidir.

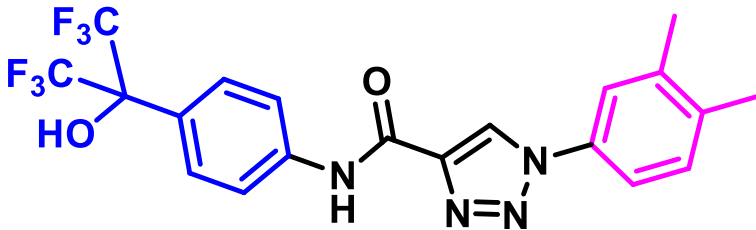
Tümer ve ekibi 2021 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, 1,4-disubstitue içeren 1,2,3-triazol türevlerini sentezlemişlerdir. Sentezledikleri tüm bileşiklerin antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Daha sonra bu moleküllerin radikal süpürme yeteneklerini test etmişler ve standart antioksidanlarla karşılaştırarak antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Ayrıca, bu bileşiklerin HeLa hücre hattına karşı sitotoksisite test etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda bileşiklerden üç tanesinin HeLa hücresine karşı önemli antikanser aktivite gösterdiklerini gözlemlemişlerdir (7a, IC₅₀ 10,8 µg/mL, 7b, IC₅₀ 8,8 µg/mL, 8a, IC₅₀ 11,7 µg/mL) Bu çalışma neticesinde, bu üç bileşiğin de gelecekte antikanser ajan aday molekülü olabileceğini rapor etmişlerdir [26].



Şekil 8. Yeni 1,4-disubstitue 1,2,3-triazol hibrit türevidir.

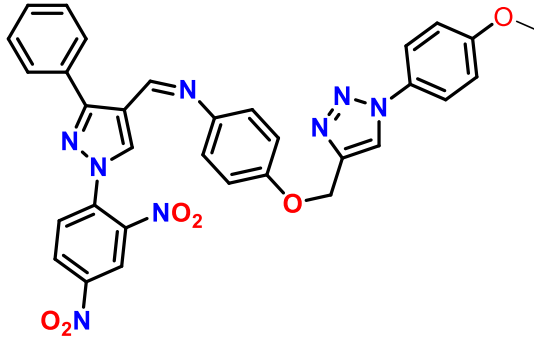
Bichismita ve arkadaşları 2021 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, β-amiloid agregasyonunu inhibe etmek ve aynı anda hücre dışı boşlukta bulunan fazla metalleri şelatlamak ve bunlara ilaveten reaktif oksijen türlerini temizleyerek enflamatuvar durumu azaltmak gibi birçok hedef barındıran hekzaflorokarbinol içeren triazoller sentezlemeyi amaçlamışlardır. Tek bir molekül aracılığıyla aynı anda birden fazla yolu hedefledikleri bileşiklerden birinin bakır mevcudiyetinde bile Aβ toplanmasını etkili bir şekilde önlediğini

vurgulamışlardır ($IC_{50}=4,6 \mu M$). Bu bileşiğin ayrıca Cu^{+2} , Zn^{+2} ve Fe^{+3} metallerini şelatladığını ve reaktif oksijen türlerini önemli ölçüde temizlediğini belirterek iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu açıklamışlardır. Elde ettikleri sonuçları moleküler yerleştirme çalışmasıyla da desteklemişlerdir. Molekülde çoklu florinin varlığından dolayı kan beyin bariyerini geçebileceğini ve farmakokinetik özellikleri iyileştirmeye yardımcı olabileceğini de öne sürmüşlerdir [27].



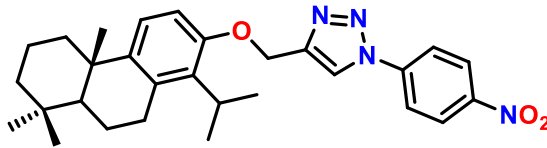
Şekil 9. Yeni hekzaflorokarbinol içeren 1,2,3-triazol hibrit bileşiği.

Maddila ve ekibi 2021 yılında yeni bir dizi dinitrofenilpirazol taşıyan triazol bileşiklerini sentezlemişler ve tüm bileşikleri MCF-7, HeLa ve Caco-2'ye karşı hücresel fizibilite üzerindeki etkileri açısından incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgular neticesinde sentezledikleri bileşiklerden bazılarının, HeLa hücre hattına karşı referans ilaç olarak Combretastatin-A4'den ($IC_{50}=9.0 \mu M$) daha yüksek etkili büyüme önleyici aktivite gösterdiğini ifade etmişlerdir ($IC_{50}=4.0 \mu M$, $5.0 \mu M$ ve $6.0 \mu M$). Ayrıca, bileşiklerden birinin MCF-7 hücre hattına karşı güçlü aktivite gösterdiğini bulmuşlardır ($IC_{50}=8.0 \mu M$). Bununla birlikte, yapı aktivite ilişkisi (SAR) analizini rapor etmişler ve moleküler yerleştirme çalışmalarının deneysel bulguları doğrular nitelikte olduğunu öne sürmüşlerdir. Tüm bu sonuçlardan dolayı, sentezledikleri moleküllerin, anti-kanser ilaçlar olarak daha fazla araştırılmak üzere ideal adaylar gibi görüldüğünü ifade etmişlerdir [28].



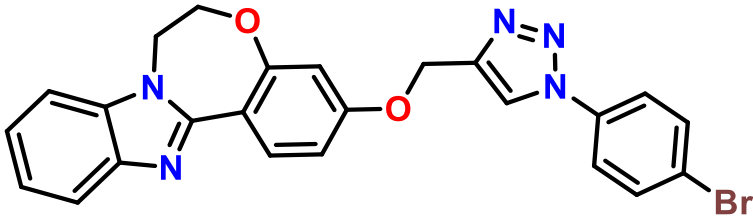
Şekil 10. Yeni dinitrofenilpirazol bazlı 1,2,3-triazol türevi.

Auhmani ve arkadaşları 2021 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, klik reaksiyonu yaklaşımıyla yeni totarol temelli triazol türevleri sentezlemişler ve tüm bileşiklerin yapılarını aydınlatmışlardır. Bileşiklerden birinin molekül yapısını tek kristal X-ray kırınım yolu ile doğrulamışlardır. Sentezledikleri molekülleri MTT yöntemiyle dört farklı kanser hücrelerinin çoğalmasına karşı etkinliğini incelemişler ve incelemeler neticesinde tüm bileşiklerin, 14.44 ila 46.25 μM arasında değişen IC_{50} değerleri ile tüm kanser hücre hatlarına karşı zayıf ila orta düzeyde aktiviteler gösterdiğini belirtmişlerdir. Moleküler yerleştirme çalışmaları sonucunda kristali elde edilen bileşiğin ayrıca kaspaz-3'ü aktive ettiğini ve kararlı protein-ligand kompleksleri oluşturarak tübülünü inhibe ettiğini bildirmiş olup buna ilaveten HT-1080 ve A-549 hücre hatlarına karşı önemli bir sitotoksisite gösterdiğini not etmişlerdir. Yapı-aktivite ilişkilerine baktıklarında ise yeni ve oldukça etkili antikanser ilaçları geliştirmeye yönelik totarolün daha fazla yapısal modifikasyonu için bazı önemli ipuçları sağladığını rapor etmişlerdir [29].



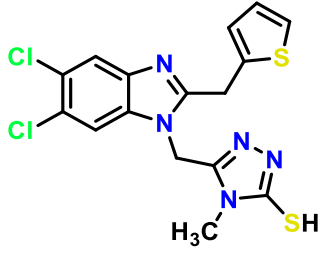
Şekil 11. Yeni totarol temelli 1,2,3-triazol hibrit türevi.

Ashram ve ekibi 2022 yılında bir dizi yeni 1,2,3-triazol-benzoksazepin hibrit molekülleri sentezlemiş ve dört farklı (Caco-2, PC3, MCF-7, HL60) kanser hücre hattına karşı antikanser özellikleri açısından değerlendirmişlerdir. Bileşiklerden üçünün, 6 ila 18 μM arasında değişen IC_{50} değerleri ile mükemmel antikanser özellikler gösterdiğini ve çoğunun da test edilen kanser hücre hatlarına karşı orta ila iyi sitotoksisite sergilediğini gözlemlemişlerdir. Yaptıkları çalışma neticesinde triazol tarafının benzen halkasında halojen atomları içeren (halo-fenil 1,2,3-triazol benzoksazepin) bileşiklerin daha iyi aktivite sergilediklerini vurgulamışlardır [30].



Şekil 12. Yeni halo-fenil 1,2,3-triazol benzoksazepin konjugatı.

Akyüz ve arkadaşları 2022 yılında, bünyesinde tiyofen ve triazol halkaları barındıran benzimidazol türevleri sentezlemişler ve potansiyel üreaz inhibitör aktivite çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen tüm bileşiklerin 1.52 ile 0.07 μM arasında değişen IC_{50} değerleri ile üreaz inhibe edici aktivite gösterdiklerini belirtmişlerdir. Bünyesinde triazol halkası bulunan bileşiklerin daha iyi inhibisyon aktivitesi sergilediğini gözlemleyerek içlerinden birinin $\text{IC}_{50} = 0.07 \pm 0.008 \mu\text{M}$ değeri ile en güçlü enzim inhibisyon aktivitesi sergilediğini rapor etmişlerdir. Elde edilen sonuçların daha etkili üreaz inhibitör ajanların sentezine katkı sağlayacağını belirtmişlerdir [31].



Şekil 13. Yeni tiyofen ve triazol halkaları barındıran benzimidazol türevi.

Sonuç

Son yıllarda sentezleri ve çeşitli biyolojik aktivite çalışmaları yapılan yeni nesil triazol birimleri içeren hibrit yapıdaki moleküller özetlenmeye çalışılmıştır. İncelenen bu çalışmalarda, triazollerin çok farklı alanlarda belirlenen aktive parametre değerlerinin umut verici düzeyde olduğu söylenebilir. Yapılan bu çalışmaların hem bileşik kütüphanesine hem de farmokoloji alanında araştırmalar yapan veya yapacak olan gruplara rehberlik edeceği aşikârdır. Yukarıda bir kısmı özetlenen sonuçlar her geçen gün triazoller üzerine yapılan çalışmaların artarak devam etmesinin nedeni hakkında da bizlere fikir vermektedir.

Kaynakça

- [1] K.S. Lam, New aspects of natural products in drug discovery Trends Microbiol. 15, 6, P. 279-289, 2007.
- [2] D. Peters, J. Donaldson, T. Chaussalet, S. Toffa, J. Whitehouse, D. Carroll, P. Barry, Time for a New Approach for Reporting Herbal Medicine Adverse Events?, www.naturaldatabase.com. 2003.
- [3] J.B. Calixto, Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents), 2000.
- [4] S. Mukhtyar, A. Kumar, Saini, J. Dwivedi, R. Singh, a Review : Biological Significances of Heterocyclic Compounds ., 2013.
- [5] P. Arora, V. Arora, H.S. Lamba, D. Wadhwa, Importance of Heterocyclic Chemistry: A Review, IJPSR. 3 (2012) 2947–2954. www.ijpsr.com (accessed October 4, 2023).
- [6] A. Kashyap, & O. Silakari, Triazoles. Key Heterocycle Cores for Designing Multitargeting Molecules (pp. 323-342). Elsevier Sciencei, 2018.
- [7] H. F. Ashour,, L. A. Abou-zeid,, M. A. A. El-Sayed & K. B. Selim, 1,2,3-Triazole-Chalcone hybrids: Synthesis, in vitro cytotoxic activity and mechanistic investigation of apoptosis induction in multiple myeloma RPMI-8226. European Journal of Medicinal Chemistry, 189, 112062, 2020.
- [8] A. Aziz Ali, 1,2,3-Triazoles: Synthesis and Biological Application, in: Azoles - Synthesis, Properties, Applications and Perspectives, IntechOpen, 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92692>.
- [9] E. Bonandi, M.S. Christodoulou, G. Fumagalli, D. Perdicchia, G. Rastelli, D. Passarella, The 1,2,3-triazole ring as a

bioisostere in medicinal chemistry, *Drug Discov Today*. 22, 1572–1581, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.05.014>.

[10] K. Bozorov, J. Zhao, H.A. Aisa, 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview, *Bioorg Med Chem*. 27, 3511–3531, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.07.005>.

[11] A. Mermer, T. Keles, Y. Sirin, Recent studies of nitrogen containing heterocyclic compounds as novel antiviral agents: A review, *Bioorg Chem*. 114, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105076>.

[12] P. Bhutani, G. Joshi, N. Raja, N. Bachhav, P.K. Rajanna, H. Bhutani, A.T. Paul, R. Kumar, U.S. FDA Approved Drugs from 2015-June 2020: A Perspective, *J Med Chem*. 64, 2339–2381, 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01786>.

[13] A. Mermer, O. Faiz, A. Demirbas, N. Demirbas, M. Alagumuthu, S. Arumugam, Piperazine-azole-fluoroquinolone hybrids: Conventional and microwave irradiated synthesis, biological activity screening and molecular docking studies, *Bioorg Chem*. 85, 308–318, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.009>.

[14] S.A. Khan, M.J. Akhtar, U. Gogoi, D.U. Meenakshi, A. Das, An Overview of 1,2,3-triazole-Containing Hybrids and Their Potential Anticholinesterase Activities, *Pharmaceuticals*. 16, 2023. <https://doi.org/10.3390/ph16020179>.

[15] E. Chugunova, N. Akylbekov, A. Bulatova, N. Gavrilov, A. Voloshina, N. Kulik, V. Zobov, A. Dobrynin, V. Syakaev, A. Burilov, Synthesis and biological evaluation of novel structural hybrids of benzofuroxan derivatives and fluoroquinolones, *Eur J Med Chem*. 116, 165–172, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.086>.

[16] N. Zidar, T. Tomašič, H. Macut, A. Sirc, M. Brvar, S. Montalvão, P. Tammela, J. Ilaš, D. Kikelj, New N-phenyl-4,5-

dibromopyrrolamides and N-Phenylindolamides as ATPase inhibitors of DNA gyrase, *Eur J Med Chem.* 117, 197–211, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.079>.

[17] S.S. Panda, S. Liaqat, A.S. Girgis, A. Samir, C.D. Hall, A.R. Katritzky, Novel antibacterial active quinolone-fluoroquinolone conjugates and 2D-QSAR studies, *Bioorg Med Chem Lett.* 25, 3816–3821, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.07.077>.

[18] S. Basoglu, S. Ulker, S. Alpaya-Karaoglu, N. Demirbas, Microwave-Assisted synthesis of some hybrid molecules containing penicillanic acid or cephalosporanic acid moieties and investigation of their biological activities, *Medicinal Chemistry Research.* 23, 3128–3143, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00044-013-0898-4>.

[19] S.B. Ozdemir, N. Demirbas, Y.U. Cebeci, H. Bayrak, A. Mermer, S. Ceylan, A. Demirbas, Synthesis and Antimicrobial Activities of Hybrid Heterocyclic Molecules Based on 1-(4-Fluorophenyl)piperazine Skeleton, *Lett Drug Des Discov.* 14, 2017. <https://doi.org/10.2174/1570180814666170113145023>.

[20] E. Bonandi, M.S. Christodoulou, G. Fumagalli, D. Perdicchia, G. Rastelli, D. Passarella, The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry, *Drug Discov Today.* 22, 1572–1581, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.05.014>.

[21] T. Pal, S. Bhimaneni, A. Sharma, S.J.S. Flora, Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking study of novel pyridoxine-triazoles as anti-Alzheimer's agents, *RSC Adv.* 10, 26006–26021, 2020. <https://doi.org/10.1039/d0ra04942e>.

[22] S. Yahya Alraqa, M. Alsayed Soliman, A. Aljuhani, N. Rezki, M. Reda Aouad, I. Ali, Synthesis, Characterization, DNA Binding, Docking, and Anticancer Studies of Novel Bis-1,2,3-triazoles Phthalonitrile, *ChemistrySelect.* 5, 11347–11353, 2020. <https://doi.org/10.1002/slct.202003296>.

[23] M.S. Asgari, M. Mohammadi-Khanaposhtani, Z. Sharafi, M.A. Faramarzi, H. Rastegar, E. Nasli Esfahani, F. Bandarian, P. Ranjbar Rashidi, R. Rahimi, M. Biglar, M. Mahdavi, B. Larijani, Design and synthesis of 4,5-diphenyl-imidazol-1,2,3-triazole hybrids as new anti-diabetic agents: in vitro α -glucosidase inhibition, kinetic and docking studies, *Mol Divers.* 25, 877–888, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11030-020-10072-8>.

[24] G.P. Costa, R.S.M. Baldinotti, M.G. Fronza, J.E.R. Nascimento, Í.F.C. Dias, M.S. Sonogo, F.K. Seixas, T. Collares, G. Perin, R.G. Jacob, L. Savegnago, D. Alves, Synthesis, Molecular Docking, and Preliminary Evaluation of 2-(1,2,3-Triazolyl)benzaldehydes As Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease, *ChemMedChem.* 15, 610–622, 2020. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201900622>.

[25] L. Radhakrishna, H.S. Kunchur, P.K. Namdeo, R.J. Butcher, M.S. Balakrishna, New 1,2,3-triazole based bis- And trisphosphine ligands: Synthesis, transition metal chemistry and catalytic studies, *Dalton Transactions.* 49, 3434–3449, 2020. <https://doi.org/10.1039/c9dt04302k>.

[26] İ. Şahin, F.B. Özgeriş, M. Köse, E. Bakan, F. Tümer, Synthesis, Characterization, and Antioxidant and Anticancer Activity of 1,4-Disubstituted 1,2,3-triazoles, *J Mol Struct.* 1232, 2021 130042. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130042>.

[27] T. Dalvi, B. Dewangan, G. Agarwal, D. Shinde Suchita, A. Jain, A. Srivastava, B. Sahu, Design, synthesis and in-vitro evaluation of fluorinated triazoles as multi-target directed ligands for Alzheimer disease, *Bioorg Med Chem Lett.* 42, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.127999>.

[28] K. Suryanarayana, A.R. Robert, N. Kerru, T. Pooventhiran, R. Thomas, S. Maddila, S.B. Jonnalagadda, Design, synthesis, anticancer activity and molecular docking analysis of novel dinitrophenylpyrazole bearing 1,2,3-triazoles, *J Mol Struct.* 1243, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130865>.

[29] Y. Laamari, A. Oubella, A. Bimoussa, A.E. El Mansouri, E.M. Ketatni, O. Mentre, M.Y. Ait Itto, H. Morjani, M. Khouili, A. Auhmani, Design, Hemisynthesis, crystal structure and anticancer activity of 1, 2, 3-triazoles derivatives of totarol, *Bioorg Chem.* 115, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105165>.

[30] M. Ashram, A.Y. Habashneh, S. Bardaweel, M.O. Taha, A Click Synthesis, Molecular Docking and Biological Evaluation of 1,2,3-triazoles-benzoxazepine hybrid as potential anticancer agents, *Medicinal Chemistry Research.* 32, 271–287, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00044-022-03001-x>.

[31] G. Akyüz, M. Emirik, B.B. Sökmen, E. Menteşe, Synthesis and Docking Studies of Novel Benzimidazole Derivatives Containing Thiophene and Triazole Rings as Potential Urease Inhibitors, *Russ J Bioorg Chem.* 48, S87–S95, 2022. <https://doi.org/10.1134/S106816202301003X>.

BÖLÜM II

Gıda Endüstrisinde Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Önemi

Nurten CENGİZ¹

Giriş

Tıbbi ve aromatik bitkiler; gıda, ilaç, kozmetik ve baharat gibi birçok kullanım alanları olan, insanlık tarihinin başlangıcından itibaren benzer amaçlarla kullanılan bitkilerdir. Tarih boyunca bazı bitkiler besin olarak, bazı bitkiler ise belirli hastalıkların tedavisi veya önlenmesi için ilaç olarak seçilmiştir (Garcia-Oliveira & ark., 2021). Doğal kökenleri nedeniyle genellikle tüketim için güvenli kabul edilen bu bitkiler gıda üretiminde kullanılmaktadırlar (Antolak & Kregiel, 2017).

İnsanlar sağlıklarını korumak için günlük olarak hem enerji üreten yiyecekleri (karbonhidratlar ve yağlar) hem de diğer besin maddelerini (proteinler, vitamin mineralleri ve su) uygun bir denge içinde yemelidirler. Dünyamızdaki insanların çoğu, hem süt hem de et ürünlerini içeren günlük bir diyet seçme lüksünü

¹ Dr. Öğretim Görevlisi, Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, nkurt@atu.edu.tr

karşılayamamaktadır. Bu insanlar günlük gerekli olan kalori ve protein ihtiyaçlarını karşılayabilmek için bitkisel ürünlere güvenirler. Küresel ölçekte ihtiyaç duyulan kalorilerin (karbonhidratlar ve yağlar) %88' ini bitkilerden sağlandığı, proteinlerin %80' inin ise hayvansal ürünlerden temin edildiği tahmin edilmektedir (Muhammad & Amusa, 2005). Tıbbi ve aromatik bitkilerin insan nüfusu için olağanüstü özellikler ve avantajlar gösterdiğine şüphe yoktur (Antolak & Kregiel, 2017). Ayrıca baharatlar ve bu bitkiler her zaman mükemmel bir doğal tat, koku ve renk kaynakları olmuşlardır (Embuscado, 2015, Yue & ark., 2016).

Son yıllarda, tüketicilerin gıdaların kalitesi ve güvenliği konusundaki endişeleri önemli ölçüde artmıştır ve daha sağlıklı, besleyici ve daha güvenli gıda maddelerine yönelik talepleri arttırmıştır (Ribeiro-Santos & ark., 2018). Bundan dolayı işlenmiş gıdalar yerine doğal gıdaları tüketmeye yönelik yoğun bir eğilim söz konusudur (Garcia-Oliveira & ark., 2021). Bu yönelimdeki en büyük sebepler, doğal ürünlerin toksik olmamaları, daha az yan etkiye sahip olmaları ve uygun fiyatlarla kolayca bulunabilmeleridir (Khan & Ahmad, 2019). Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve bu bitkilerden elde edilen ürünlerin üretimi ve tüketimi hem ülkemizde hem de dünya çapında hızla artmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler geniş bir kullanım alanına sahiptir ve gıda sektöründe de sıklıkla kullanılır. Bu bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri, gıda sektöründe kullanımlarının artmasına neden olmuştur. Bunun yanı sıra bu bitki ürünleri sahip oldukları fonksiyonel özellikleri doğrultusunda gıda sektöründe baharat, bitkisel çay, gıda takviyesi ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadırlar (Nieto, 2020a).

Tıbbi ve aromatik bitkilerde bulunan ana bileşikler, polifenoller, terpenler, glikozitler ve alkaloidler olmak üzere dört ana biyokimyasal sınıfa karşılık gelmektedir (Nieto, 2020a). İnsan beslenmesinde ham madde olarak yaygın bir şekilde kullanılan bu bitkiler aynı zamanda sağlıklı vücudu korumak için çok önemli olan biyomoleküller, vitaminler ve mineraller açısından zengin besin kaynakları olup gıda takviyesi olarak kullanılırlar (Khan & Ahmad,

2019). Kapsül, toz, ekstrakt veya taze/kurutulmuş bitki olarak satılırlar, salatalarda tüketilirler ve aynı zamanda kaynatma veya demleme ile tüketilirler. Bu bitkiler doğal ilaçlar olarak birincil kullanımlarının yanı sıra fonksiyonel gıda endüstrisinde bitki özleri ve biyoaktif bileşik kaynağı olarak da kullanılmaktadırlar. Ayrıca tıbbi ve aromatik bitkiler antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayıda gıda endüstrisinde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Bu doğal bileşiklerin gıda aktif ambalajlarına dahil edilmesi gibi yeni uygulamalar da önem kazanmaktadır (Garcia-Oliveria & ark., 2021, Skendi & ark., 2022).

Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları

Baharatlar

Tıbbi ve aromatik bitkilerin en yaygın kullanım alanlarının başında yer alan baharatlar eski uygarlıklardan beri lezzetleri ve özellikleri sayesinde hem mutfak hemde tıbbi kullanımlar için oldukça önemlidir (Jessica Elizabeth & ark., 2017). Baharatlar; Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği'nde (Tebliğ No.: 2022/7) “Çeşitli bitkilerin tohum, tomurcuk, çekirdek, meyve, çiçek, kabuk, kök, gövde, rizom, yumru, yaprak, sap, soğan gibi kısımlarının kurutulup bütün hâlde ve/veya ufalanması ve/veya öğütülmesi ile elde edilen gıdalara renk, tat, koku ve lezzet vermek için kullanılan ürünler” olarak tanımlanmıştır. Tarih boyunca, baharatlar sahip oldukları çeşitli özellikleri ile insanların ilgisini çekmiştir ve neredeyse tüm ülke mutfaklarında kullanılmaktadır (Soner, Özçelikay & Asil, 2002). Baharatların aroma maddesi, tıbbi, koruyucu ve renklendirici madde olarak kullanımları gibi pekçok uygulamaları vardır. Baharatlar ve ekstraktları koruyucu ve doğal antioksidan özelliklere sahiptirler. Ayrıca baharat ekstraktlarının bazılarının antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktivitelerinin olduğu bilinmektedir (Hernandez & ark., 2011, Peter & Shylaja, 2012). Baharatların esas uygulaması ise gıda endüstrisine karşılık gelmektedir. Ancak

baharatlar aynı zamanda ilaç, kozmetik, parfümeri ve nutrasötikler endüstrisinde de kullanılmaktadırlar (Peter & Shylaja, 2012).

Tarih öncesi çağlardan beri gıdaların duysal özelliklerini geliştirmek için kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler, özellikle sıcak iklimlerde ve özellikle daha çabuk bozulan et yemeklerinde gıdaları bozan mikroorganizmalara (bakterilere) karşı kısmen baharat olarak kullanılmaktadır (Sherman & Hash, 2001, Awuchi, 2019, Nieto, 2020a). Tarçındaki sinamaldehitin, karanfildeki öjenolün ve kimyondaki kuminaldehitin gıdaların bozulmasını önlediği ve patojenik mikroorganizmaların büyümesini engellediği kanıtlanmıştır (Jessica Elizabeth & ark., 2017). Gıda muhafazası günümüzde ana endişe kaynağıdır ve mevcut koruyucuların çoğu sentetik kimyasallara dayanmaktadır. Tüm baharatlar ise bitkilerden geldiği için genellikle güvenli (GRAS) olarak kabul edilmektedirler (Jessica Elizabeth & ark., 2017, Nieto, 2020a). Tablo 1’ de antik çağlardan beri baharat üretmek için kullanılan bitkilerin çeşitli kısımları gösterilmiştir (Peter & Shylaja, 2012, Embuscado, 2015).

Bitkiler, ikincil bir metabolizma yoluyla karmaşık moleküler yapılaraya sahip birçok bileşiği sentezlerler. Bu metabolitler arasında, aroma, antimikrobiyal aktivite ve antioksidan aktivite gibi baharatların özelliklerinin çoğunu veren alkaloidler, flavonoidler, fenilpropanoidler izoflavonoidler, tanenler, kumarinler, antosiyaninler, glikozitler, terpenler ve fenolik bileşikler bulunur (Sajilata & Singhal, 2012).

Tablo 1. Baharat olarak kullanılan bitkiler

Bitki Organları	Baharat Bitkileri
Yaprak	Fesleğen, defne yaprağı, nanae, mercan köşk, adaçayı, kekik, tarhun
Kabuk	Tarçın
Tohum Zarı (Ari)	Hindistan cevizi
Tohum	Anason, kimyon, rezene, çemen otu, hardal, haşhaş,
Meyve	Karanfil, kırmızı biber, karabiber, yenibahar
Çiçek	Karanfil, safran
Soğan	Sarımsak, soğan, pırasa
Kök	Zencefil, zerdeçal

Baharatların en yaygın kullanımlarından biri yiyeceklerin tatlandırılmasıdır. Hemen hemen her baharatın kendine has belirli bir tadı vardır ve dünya çapında mutfak önerileri için temeldirler. Yöreye göre farklı baharatlar yemeklere lezzet katmak için kullanılır ve her yemek tarzına ayrı bir tat katar, hatta mutfak kimliği verir. Örneğin Meksika, tarçın, vanilya, kurutulmuş kırmızı biber ve kakao aromalarının kullanılmasıyla bilinir. İngiltere zencefil, hardal tohumu, karanfil, kişniş ve yenibahar kullanır. Fransa, yemeklerinde tarhun, tuzlu mercanköşk, biberiye ve kekik aroması gibi farklı tatlarla tanınır. Arap Yarımadası'nın tatlandırmak için karabiber, kimyon, bütün kimyon, kakule tohumu, taze acı biber, sarımsak ve kişniş gibi çeşitli baharatlar kullandığı bilinmektedir (Exploratorium, 2013). Baharatların verdiği tatlar, fenilpropanoidler, monoterpenler ve diğer fenol bileşikler gibi belirli kimyasal ailelerden kaynaklanmaktadır. Baharatların aroma potansiyeli için bazı önemli kimyasal bileşikler öjenol, apiol, sufranol, vanilin, piperin, beta-karyofilen, alfa pinen, karvakol, timol, sabinen, sinnamaldehit ve gingeroldür (Peter & Shylaja, 2012). Tablo 2' deki gibi baharat ve bitkiler lezzetlerine göre 4 gruba ayrılabilir (Peter & Shylaja, 2012, Embuscado, 2015):

Tablo 2. Baharatların geleneksel sınıflandırılması

Sınıf	Baharatlar
Acı baharatlar	Kara ve beyaz biber, acı biber, hardal, kırmızı biber, zencefil
Hafif baharatlar	Kırmızı biber, kişniş
Aromatik baharatlar	Yeni bahar, kakule, tarçın, karanfil, kimyon, dereotu, rezene, hindistan cevizi
Aromatik bitkiler ve sebzeler	Kekik, fesleğen, defne yaprağı, mercanköşk, tarhun, arpacık soğanı, soğan, sarımsak, kereviz

Bitkisel Çaylar

Tıbbi ve aromatik bitkiler, gıda sanayisinde sadece baharat endüstrisinde değil aynı zamanda çay üretiminde de kullanılmaktadır (Toker, Gölükcü & Tokgöz, 2015). Hem geleneksel tıpta hemde gıda amaçlı kullanılan bitki çayları çok popülerdir (Sgorbini & ark., 2019). Bitki çayı, çeşitli bitkilerin yaprak, çiçek,

tohum, meyve, gövde ve köklerinden yapılan ve yaygın olarak tüketilen bitkisel bir karışımdır (Zhao & ark., 2013, Ravikumar, 2014). Bitki çaylarının hoş aromaları birkaç uçucu madde ile karakterize edilir ve bunların birçoğu biyolojik aktivitelere sahiptir (Sgorbini & ark., 2019).

Çay, dünya çapında sudan sonra yaygın olarak tüketilen ikinci içecektir (Dian-Nashiela & ark., 2015) ve dünya nüfusunun üçte ikisinden fazlası çay içmektedir (Long & ark., 2023). Günümüzde sıklıkla tüketilen siyah çay ve kahve gibi içeceklerden önce, bitkisel çayların dünyanın farklı yerlerinde kullanıldığı bilinmektedir. Bitkisel çayların hem lezzeti hem de bazı sağlık sorunlarını iyileştirici özellikleri nedeniyle tüketildikleri bilinmektedir. Çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip ürünlerin tüketimi, beslenme ile sağlık arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılmasıyla birlikte artmıştır. Bitkisel çaylar da bu kategoriye girmektedir. Beslenme özelliklerinden çok sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı bitkisel çaylar en çok tercih edilen içecekler arasındadır. (Toker, Gölükcü & Tokgöz, 2015). Bitki çaylarının kullanımı ve doğadan toplanan bitkilerin tüketimi de geleneksel Akdeniz diyetinin ayrılmaz bir parçasıdır (Stefanaki & van Andel, 2021). Günümüzde bitkisel çay üretiminde kullanılan birçok bitkisel materyal vardır. Ülkemizde ada çayı, ıhlamur, nane, rezene, papatya, ekinezya, kuşburnu, elma, dağ çayı, melisa, biberiye, sinameki, kekik, ısırgan, tarhun, ahududu, fesleğen ve anason dahil olmak üzere çeşitli bitkisel kaynaklardan çay yapılabilir (Akgül & Ünver 2001). Ülkemizde yabancı olarak toplanan veya ticari olarak kullanılan *Sideritis* türleri, başta dağ çayı, yayla çayı veya ada çayı olmak üzere çeşitli yerel isimler altında bitki çayı ve gıda aroması olarak da kullanılmaktadır. Dağ çayı, çoğunlukla Yunanistan, Balkanlar ve Türkiye'de popüler bir geleneksel bitki çayıdır tüketilir (Stefanaki & van Andel, 2021). Birkaç *Sideritis* türünün kurutulmuş çiçek ve yapraklarından hazırlanır. Dağ çayı tipik olarak balla, bazen de tarçınla servis edilir ve hoş bir aroması ve tadı vardır. Dağ çayı, Türk kırsal kahvehanelerinde servis edilen bitki çayıdır (Çarıkcı & ark., 2007). Bununla birlikte, yerel bir Batı Akdeniz türü olan

Sideritis hyssopifolia, yerel olarak İspanya'da sarı çay veya dağ çayı olarak bilinen çok popüler bir bitki çayıdır. Sicilya'da, İtalyan endemik bitkisi *Sideritis italica* (stregonia olarak bilinir) yerel bitki çayı olarak da tüketilir. Nane çayı Kuzey Afrika ve Levantin ülkelerinde popüler bir çaydır. Nane (*M. spicata*) ve yeşil çaydan yapılan Fas nane çayı ise Fas'ın bir sembolüdür ve dünya çapında ticarileştirilmiş bir ürün olarak satılmaktadır (Stefanaki & van Andel, 2021). *Origanum vulgare* (subsp. *hirtum*, subsp. *vulgare*, subsp. *glandulosum*), *Origanum onites*, *Origanum minutiflorum*, and *Origanum Rotundifolium* gibi birkaç *Origanum* türleri bitki çayları olarak kullanılmaktadır (Elmastas & ark., 2018). *Origanum Dictamnus* (geyik otu) Girit'te popüler bir bitki çayı iken *Origanum Majorana* ise Kıbrıs'ta bitki çayı olarak kullanılmaktadır (Stefanaki & van Andel, 2021). *Salvia fruticosa* Yunanistan, Girit ve Türkiye'de, *S. officinalis* subsp. *Lavandulifolia* İspanya'da kullanılan adaçayı türlerinden popüler olan bitki çaylarıdır (Alarcón & ark., 2015, Stefanaki & van Andel, 2021). Ayrıca Fas'da *Thymus maroccanus* baharat ve bitki çayı olarak kullanılmaktadır (Jamali & ark., 2013)

Bitki Çaylarını Hazırlama Yöntemleri

Tıbbi bitki çayları, özellikle infüzyon yöntemi olmak üzere, dekoksasyon ve maserasyon yöntemleri ile hazırlanabilmektedir (Toker, Gölükcü & Tokgöz, 2015, Long & ark., 2023, Karakuş & ark., 2023). Bitkisel çayların bileşimi çeşitli faktörlere göre değişebilmektedir. Bitkisel çayların antimikrobiyal, antikanserojen, antiaterojenik antioksidan, antienflamatuvar, , antiaging, kalbi koruyucu gibi çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (Zhao & ark., 2013).

İnfüzyon

Bitki çayları çoğunlukla infüzyon (demleme) ile hazırlanır (Jäger & ark., 2011). Çay içmenin bir ritüel ve yaşam tarzı olduğu Çin ve Hindistan gibi bazı Asya ülkelerinin aksine, birçok Avrupa ülkesinde çay tüketimi seyrek ve insanlar hala çeşitli meyve

çaylarını veya geleneksel bitkisel infüzyonları (örneğin papatya ve ıhlamur) tercih etmektedir (Horžić & ark., 2009). Bir miktar kurutulmuş bitki üzerine kaynamış su eklenir ve kabın ağzı kapatılır. Beş veya on dakika dinlendikten sonra süzgeçten geçirilerek bitki çayı hazırlanmış olur (Rusaczzonek, Swiderski & Waszkiewicz-Robak, 2010). İnfüzyon yönteminde bitkinin çiçek ve yaprak karışımları kullanılır (Göktaş & Gıdık, 2019).

Dekoksiyon

Dekoksiyon (kaynatma) yöntemi bitki üzerine soğuk su ekleyip kaynatma olarak tanımlanmaktadır (Karakuş & ark., 2023). Bu yöntemde bitki üzerine soğuk su eklenip kabın ağzı kapatılır ve kaynatılır. Bitki çayı, kaynatılan bitki parçalarını süzgeçten geçirerek hazırlanmış olur. Kaynatma yöntemi, demleme yönteminden farklı olarak sert dokuya sahip olan meyve, kök ve kabuk gibi bitkinin çeşitli kısımlarının etken maddelerinin çaya daha iyi karışmasını sağlamaktadır (Göktaş & Gıdık, 2019). Bununla birlikte, uzun süreli bir kaynatma, fenolik bileşikler denatüre olmasına neden olabilir ve bu da elde edilen ekstraktların kalitesini düşürebilir (Faye & ark., 2023). Bundan dolayı kaynatma süresi bitkiden bitkiye farklılık göstermektedir.

Maserasyon

Maserasyon (oda sıcaklığında hazırlama) yöntemi, müsilaj içeren ve ısıyla bozulan maddeler içeren bitki parçalarından çayların hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bir kab içerisine bitki drogları konularak üzerine oda sıcaklığında su eklenir ve ara ara çalkalanarak oda sıcaklığında bekletilir. Bir gece oda sıcaklığında bekleyen çay daha sonra süzülerek içilir (Göktaş & Gıdık, 2019, Karakuş & ark., 2023).

Gıda Katkı Maddeleri

Beslenme ihtiyacı çağlar boyunca değişmeden kalsa da, gıda maddelerini tüketme şeklimizde derin değişiklikler görülmüştür.

Günümüzde gıdalar belirli tesislerde üretilip daha sonra aynı bölgede ya da uzak bölgelere hatta başka ülke pazarlarına taşınmaktadırlar. Gıda endüstrisinde gıdaların giderek daha zorlu hale gelen pazar ve yasal taleplerinin karşılamasını sağlamak için gıda katkı maddeleri gereklidir. Rekabetçi bir küresel pazarda, gıda korumanın en ucuz yöntemi her zaman tercih edilir ve çoğunluklarda gıda katkı maddeleri kullanılır. (Carocho, Morales & Ferreira, 2015).

Gıdanın yapısında doğal olarak bulunmayan üretim, paketlenme, depolama gibi işleme süreçlerinde gıdanın tat, koku, görünüm, yapı rengi ve diğer niteliklerini korumak veya geliştirmek için kullanılan maddelere gıda katkı maddesi denilmektedir (Gokoglu, 2019). Gıda katkı maddeleri, gıda ürünlerinin kalitesini arttırmak için yüzyıllardır kullanılmaktadır. Tıbbi ve nutrasötik değerlere sahip çeşitli bitkiler günlük diyetle yaygın olarak kullanılmaktadır (Máthé, 2015). Gıda endüstrisinde gıda katkı maddelerinin kullanılması ile kayıpları azaltmak, kaliteyi artırmak, raf ömrünü uzatmak, yeni formülasyonlar geliştirmek ve standardize etmek mümkün olmuştur (Gokoglu, 2019). Tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda katkı maddeleri olarak önemi, hem taze sebze-et hem de konserve ürünler için lipit oksidasyon sürecini ve mikrobiyal büyümeyi engellemek için koruyucu görevi yapmaları nedeniyle artmaktadır (Davidson, Sofos & Branen, 2005, Fernandez-Lopez & ark., 2005). Bu nedenle, bu yüksek oranda doymamış yağ asitlerinin yüksek konsantrasyonuna sahip olan bitkiler, gıda katkı maddeleri olarak önemlidir. Yüksek oranda sabit yağ içeren bitkiler, tıbbi bitkiler ile ağırlıklı olarak endüstriyel hammadde ve gıda olarak kullanılan diğer bitkiler arasında geçiş konumundadırlar (Máthé, 2015).

Antik çağlardan beri, gıdaların duyuşal özelliklerini iyileştirmek için şifalı bitkiler kullanılmıştır. Bu bitkiler, güvenli ve etkili doğal gıda muhafazasının geliştirilmesine artan ilgi nedeniyle son yıllarda potansiyel doğal gıda koruyucu kaynakları olarak önem kazanmaktadır (Nieto, 2020a). Gıda endüstrisi, kimyasal katkı maddeleri yerine sürekli doğal katkı maddeleri arayışı içerisinde (Skendi & ark., 2022). Çünkü bu bitkiler ve baharatlar genellikle

güvenli (GRAS) olarak kabul edilmektedirler. Ayrıca bu bitkiler ve baharatlar kimyasal katkı maddelerinin mükemmel ikameleri olarak kullanılabilirler. Tıbbi bitkilerden elde edilen özler, gıdalar için antimikrobiyal, antiinflamatuar, bakterisidal, antiviral, antifungal ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. Birçok bitkisel maddenin antioksidan ve antimikrobiyal özellikler göstermesi nedeniyle, gıda sistemlerinin raf ömrünü artırmak için doğal koruyucuların kullanılması umut verici bir teknoloji olarak kabul edilmektedir (Nieto, 2020a).

Gıda katkı maddeleri koruyucular, besin katkı maddeleri, renklendirici maddeler, tatlandırıcı maddeler, tekstüre edici maddeler ve çeşitli maddeler olmak üzere altı molekül grubuna ayrılabilir. Ayrıca, koruyucular antimikrobiyaller, antioksidanlar ve esmerleşme önleyici maddeler olarak alt gruplara ayrılır. Renklendirici maddeler azo bileşiklerini, chinophthalon türevlerini, triarilmetan bileşiklerini, ksantenleri ve indigoları kapsamaktadır. Tatlandırıcı maddeler arasında tatlandırıcılar, doğal ve sentetik tatlar ve tat arttırıcılar bulunur. Son olarak tekstüre edici maddeler ise emülsifiye ediciler ve dengeleyiciler olarak ikiye ayrılır. Katkı maddelerinin çoğunun birden fazla işlevi vardır (Carocho, Morales & Ferreira, 2015, Gokoglu, 2019).

Son yıllarda aromatik bitkilerden elde edilen ikincil metabolitler olan esansiyel yağlar yalnızca doğal yapıları nedeniyle değil, aynı zamanda gıda ve insan sağlığına faydaları gösterdikleri için kapsamlı araştırmaların odak noktası olmuştur (Ribeiro-Santos & ark., 2018). Esansiyel yağlar, genellikle kapalı tohumlu familyalara ait bitkiler tarafından üretilen ve parfümeri, kozmetik, deterjan, farmakoloji, ve gıda endüstrisi gibi çeşitli endüstriler tarafından farklı amaçlar için kullanılabilen aromatik maddelerdir (Pavela, 2015). Fesleğen (*Ocimum basilicum L.*), kekik (*Origanum vulgare L.*), tarçın (*Cinnamomum zeylanicum Blume*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) gibi farklı bitkilerden elde edilen çok çeşitli esansiyel yağlar gıdaların raf ömrünü uzatmak için sırayla gıdalara uygulanmıştır (Zinoviadou, Koutsoumanis & Biliaderis, 2009, Jumbo & ark., 2014, Gaio ve ark., 2015; Ribeiro-Santos &

ark., 2015). Ayrıca çoğu renksiz, kokusuz ve tatsız olma özelliğine sahip ve bitkilerin ikincil metabolit ürünleri olan fenolik bileşikler, gıda ürününün duysal özelliklerini değiştirmedinden dolay gıda endüstrisi için çok cazip katkı maddeleri haline gelmiştir. Depolama sırasında gıda ürünlerinin kalitesini korumak veya antioksidan potansiyellerini artırmak için de gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak bütün bitki materyalleri veya bunlardan elde edilen ekstraktlar kullanılmaktadır (Skendi & ark., 2022).

Koruyucular

Bitki yağları ve bitki özlerinin uzun yıllardır gıda koruyucu ve tıbbi tedavi edici olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Antik çağlardan beri Hindistan, Kuzey Amerika ve Çin'de birçok kültür tarafından çeşitli bitki ve baharatların gıdalarda tatlandırıcı ve koruyucu olarak kullanıldığı da bildirilmiştir (Gokoglu, 2019). Koruyucu katkı maddeleri, depolama ve taşıma sırasında gıdalarda istenmeyen değişiklikleri önlemek için kullanılan maddelerdir. Son yıllarda tüketici taleplerinin besleyici, suni katkı maddesi içermeyen, tüketime hazır ve raf ömrü uzun gıdalara yönelmesinden dolayı güvenli ve sağlıklı gıda elde etmek için alternatif katkı maddeleri üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır (Gokoglu, 2019).

Bitkiler kendilerini bakterilerden, virüslerden ve mantarlardan korumak için fitokimyasallar üretmektedirler. Türüne, doğasına ve konsantrasyonuna bağlı olarak koruyucu aktiviteye sahip olan bitkiler ve baharatlar uçucu kimyasallar içermektedirler. Bu fitokimyasallar gıdalara eklendiklerinde gıdaları bozulmaya karşı korudukları görülmüştür (Nieto, 2020b). Bitki özleri, fitokimyasal bileşenleri nedeniyle antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Cacho & ark., 2016). Bitkiler ve baharatlar ve bunlardan elde edilen özler, antik çağlardan beri gıdaların duysal özelliklerini geliştirmek için koruyucu olarak, besleyici ve sağlıklı özellikleri ve ayrıca antimikrobiyal etkileri için kullanılmaktadır (Martinez-Gracia & ark., 2015). Bu bitki, baharat ve bunlardan elde edilen özlerin antimikrobiyal olarak rolleri, dıdanın doğal bozulma süreçlerini kontrol etmeleri ve patojenik mikroorganizmalar dahil olmak üzere

gıdada mikroorganizmaların büyümesini önlemek/kontrol etmek kapasitelerinden kaynaklanmaktadır (Tajkarimi, Ibrahim & Cliver, 2010).

Koruyucular genellikle gıda kaynaklı hastalık riskini azaltmak için kullanılmaktadırlar. Bitkiler ve baharatlar, çoğunlukla bakteri ve mantarlardan izole edilmelerine rağmen, yeni antimikrobiyal bileşikler için alternatif kaynaklar olarak kabul edilirler (Hintz, Matthews & Di, 2015) Birçok bitki ve baharat özü, fenolik bileşikler gibi fitokimyasal bileşenler nedeniyle çok çeşitli bakteri, maya, küf ve virüslere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler. Yapılan çalışmalarda, antimikrobik etkinlik ile belirli bitki ve baharatlarda bulunan fenolik bileşenlerin seviyesi arasında yüksek bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Makwana & ark., 2015). Ayrıca, bitkiler ve baharatlardaki diğer uçucu bileşenler (özellikle uçucu yağlar) bitkinin biyolojik aktivitesine de katkıda bulunabilmektedirler. Fenolik bileşikler, bitkilerde bulunan başlıca antimikrobiyal bileşenlerdir (Gokoglu,2019).

Aroma gibi benzersiz pek çok özellikleri olan baharatlar sahip oldukları kimyasal özelliklerden dolayı gıdalarda koruyucu olarak kullanılabilirler. Çeşitli kimyasal bileşikler nedeniyle, baharatlar antimikrobiyal aktivite göstererek et ve diğer gıdalarda patojenlerin büyümesini engellerler (Jessica Elizabeth & ark. ,2017). Doğal olarak oluşan antimikrobiyal bileşikler gıda kalitesini korumak, gıda ve içeceklerin raf ömrünü uzatmak için koruyucu olarak kullanılabilirler. Bu bileşikler, konak savunma sistemlerinin bir parçasını oluşturdukları bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar dahil olmak üzere çeşitli kaynaklardan doğal olarak üretilir ve izole edilirler (Juneja, Dwivedi & Yan, 2012). Kekik, biberiye, adaçayı, fesleğen, zerdeçal, zencefil, sarımsak, küçük hindistan cevizi, karanfil ve rezene gibi bitki ve baharatlar tek başına veya diğer koruma yöntemleriyle birlikte gıdalarda başarıyla kullanılmıştır (Gokoglu,2019). Ayrıca aromatik bitkiler ve baharatlardan elde edilen uçucu yağlar kimyasal olarak çoğunlukla polifenoller, terpenler, monoterpenler ve seskiterpenler olmak üzere 70'den fazla farklı bileşikten oluşmaktadır. Örneğin yapılan

çalışmalarda kekik, karanfil, tarçın, ve anasonda bulunan karvakrol, timol, öjenol, sinnamik ve anetol gibi bileşikler ve bunların uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olduğu tespit edilmiştir (Vallverdú-Queralt & ark., 2014, Carocho & ark., 2014; Gokoğlu, 2019). Nisin, bitki esansiyel yağları ve natamisin gibi doğal olarak oluşan birçok bileşik, geniş çapta incelenmiştir ve bozulmaya ve patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ajanlar olarak potansiyel rollerinde etkili oldukları bildirilmiştir (Juneja, Dwivedi & Yan, 2012).

Günümüzde sentetik katkı maddeleri kullanılmadan, daha çok doğal koruyucuların kullanıldığı gıdaların tüketilmesine ilgi çok büyüktür. Lamiaceae familyasının biberiye gibi doğal özleri hepatoprotektif, antifungal, insektisit, antioksidan ve antibakteriyel gibi biyolojik biyoaktiviteler gösterdiğini çeşitli araştırmalar bildirmiştir. Biberiyedeki biyolojik özelliklerin esas olarak fenolik bileşiklerden kaynaklandığı iyi bilinmektedir. Ancak, bu biyolojik özelliklerin farklı yönlerle bağlı olduğunu dikkate almak önemlidir. Koku, renk ve tatlarından dolayı gıdalarda kullanımları sınırlıdır. Bu nedenle biberiyeden kokusuz ve renksiz antioksidan bileşiklerin hazırlanması için ticari yöntemler geliştirilmiştir. Lamiaceae familyasının bitkileri gibi maddi bitkiler, koruyucu özellikleri açısından en çok çalışılanlardan bazıları olmuştur (Trivellini & ark., 2016).

Esansiyel yağların doğal gıda katkı maddeleri olarak kullanımları, bu aktif karışımların sentetik gıda katkı maddelerinin yerini alma olasılığı nedeniyle çoğu araştırmanın odak noktası olmuştur. Daha önce de belirtildiği gibi sentetik katkı maddelerinin insan sağlığına olumsuz yan etkileri vardır ve tüketiciler bu gerçeğin farkına varmaya ve doğal olmayan katkı maddeleri içeren ürünleri reddetmeye başlamışlardır (Cacho & ark., 2016). Bu yağlar, bileşimlerinde mikroorganizmaların varlığını en aza indiren veya ortadan kaldıran ve/veya lipid oksidasyonu olgusunu azaltan antimikrobiyal ve antioksidan kapasiteye sahip bileşiklerin varlığına bağlı koruyucu özelliklere sahiptir. Esansiyel yağlar, Food and Drug Administraion tarafından genellikle güvenli olarak kabul

edilmektedir (Ribeiro-Santos & ark., 2018). Bir dizi bakteri, maya ve küfe karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olan çeşitli bitki özleri sahip oldukları fenoller, alkoller, aldehitler, ketonlar, eterler ve hidrokarbonlar dahil olmak üzere aktif bileşikler sayesinde gıdaların depolama stabilitesini artırabilirler (Cacho & ark., 2016).

Antioksidanlar

Antioksidanlar gıda endüstrisinde yağları, proteinleri ve hücresel DNA'yı bozan, yağların ekşimesine neden olan ve yaşlanma sürecini hızlandıran, istenmeyen koku ve tatlara yol açan serbest radikalleri nötralize etmek için eklenen doğal ve sentetik bileşiklerdir (López-Pedrouso, Lorenzo & Franco, 2022). Son yıllarda tüketicilerin doğal ürünlere yönelik artan tercihin ek olarak, sentetik antioksidanlara yönelik güvenlik endişeleri, temiz etiket ve gıda ürünlerinde gıda katkı maddelerinin daha az kullanılması nedeniyle doğal antioksidanlara olan talep artmaktadır (Wojdyło, Oszmiański & Czemerys, 2007, Embuscado, 2018). Gıda ürünleri üretildikten hemen sonra tüketilmediği, depolama ve nakliye gerektirdiği için tedarikçiler gıda ürünlerini güvenlik ve kaliteyi göz önünde bulundurarak tüketicilere üretildiği andaki besin değerine eşit veya daha yüksek besin değerine sahip olarak ulaştırmak zorundadır (Caleja & ark., 2015).

Gıda ürünlerinin genel kalitelerini ve raf ömürlerini artırmak için sürekli bir strateji arayışı vardır. Gıda ürünlerinde oksidatif hasarı azaltmak veya inhibe etmek için antioksidanların dahil edilmesi, biyomoleküllerin oksidasyonunu geciktirme bu stratejilerden biridir. Doğal kaynaklardan kolayca elde edilen doğal antioksidanlar, sentetik olanların yerine koruyucu olarak kullanılma potansiyelinde sahiptir (Peschel & ark., 2006). Gıda ürünlerine dahil edilecek antioksidanların seçimi, belirli ülkelerin düzenleyici yasaları veya uluslararası standartlar tarafından kontrol edilir (Lourenço, Moldão-Martins & Alves, 2019). Öte yandan, tıbbi ve aromatik bitkiler, doğal antioksidan bileşik ekstraksiyonu için iyi bir kaynak olarak görünmektedir (Gharby & ark., 2022). Antioksidanlar bitkilerin yaprak, kök, gövde, meyve, tohum ve

kabuk gibi farklı kısımlarından ekstrakte edilebilirler (Shah, Bosco & Mir, 2014).

Sentetik antioksidanlar, esas olarak daha yüksek stabilite ve performans, düşük maliyet ve geniş kullanılabilirlik sundukları için doğal olanların yerine kullanılmaktadır (Xiu-Qin & ark., 2009). Sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılmasına rağmen, zaman içinde güvenlik sorunları ortaya çıkmaya başlamıştır. Uzun süreli sentetik antioksidan alımı ile cilt alerjileri, gastrointestinal sistem sorunları ve bazı durumlarda kanser riskinin artması gibi bazı sağlık sorunları arasında bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Lourenço, Moldão-Martins & Alves, 2019). Bundan dolayı son zamanlarda sentetik antioksidanları doğal olanlarla değiştirme eğilimi artmaktadır (Tajkarimi, Ibrahim & Cliver, 2010). Baharatlar ve tıbbi aromatik bitkiler gıdada antioksidan etki sağladığı gösterilen güçlü bileşikler içerdikleri için en iyi doğal antioksidan kaynaklarından biridir (Embuscado,2015).

Bitkiler, doğal antioksidan bileşikler açısından zengin kaynaklardır. Bitkilerden elde edilen doğal antioksidanlar fenolik bileşikler, vitaminler ve karotenoidler olmak üzere üç ana sınıfa ayrılabilir (Sikora, Cieřlik & Topolska, 2008, Fierascu & ark., 2019). Fenolik bileşikler, basit moleküllerden (örneğin, ferulik asit, vanilin, gallik asit ve kafeik asit) tanenler ve flavonoidler gibi polifenollere kadar geniş bir yapı çeşitliliği gösterir (Abbas & ark., 2017, López-Pedrouso, Lorenzo & Franco, 2022). Ayrıca E ve C vitaminlerini içerirler. E vitamini, dört izomer (α , β , γ ve δ) içeren dört tokoferol ve dört tokotrienolden oluşan bir grup kimyasal bileşikten oluşan yağda çözünen bir vitamindir. α -Tokoferol insan vücudu tarafından emilebilir (Hussain & ark., 2012, López-Pedrouso, Lorenzo & Franco, 2022). C vitamini ise suda çözünür ve birçok meyve ve sebzede doğal olarak bulunur. Karotenoidlerin çoğu meyve ve sebzelerde de bulunur. β -karoten, α -karoten, likopen ve lutein, antioksidan aktiviteye sahip ana karotenoidlerdir (Lourenço, Moldão-Martins & Alves, 2019). Bu antioksidanlar, insan sağlığı üzerindeki yararlı etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda

gelişiminde önemli uygulamalara sahiptir (López-Pedrouso, Lorenzo & Franco, 2022).

Rosaceae, Epetraceae, Ericaceae, Grossulariaceae, Juglandaceae, Asteraceae, Punicaceae ve Zingiberaceae, böğürtlen, çilek, yaban mersini, siyah kuş üzümü, ceviz, nar gibi meyveleri içeren yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşikler içeren bitki aileleridir (Halvorsen & ark., 2002). Lamiaceae antioksidan özelliği olan en önemli baharatlar arasındadır. Kekik, adaçayı, fesleğen, kişniş, mercanköşk, yenibahar, lavanta ve biberiye gibi baharatlardan ve bitkilerden elde edilen esansiyel yağların da mükemmel doğal antioksidan molekül kaynakları olduğu, ancak güçlü lezzet özelliklerinden dolayı daha sınırlı uygulama aralıkları olduğu bilinmektedir. Sulu çay ekstraktları kateşinler, tanenler ve diğer flavonoidler gibi çeşitli bileşikleri içerdiklerinden dolayı doğal antioksidan kaynakları olarak da kullanılmaktadır (Yin & ark., 2012).

Baharatlar, gıdalar için doğal antioksidanlar olarak kabul edilir. Antioksidanlar, lipid bileşenlerini bozulmadan korudukları için gıdalarda kullanımları gereklidir (Peter & Shylaja, 2012). Baharatların antioksidan özellikleri kimyasal bileşiklerinden, özellikle fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Aslında bir baharatın fenolik içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında doğrusal bir ilişki vardır. Uçucu yağlar, oleoresin ve diğer baharat özleri, gıda endüstrisi tarafından yararlanılabilecek önemli antioksidan aktivite içermektedirler (Wojdyło, Oszmiański & Czemerys, 2007). Baharatlara antioksidan özellik kazandıran en yaygın kimyasal bileşikler öjenol, kurkumin, zencefilol, karkavol, timol, yenibahar ve kapsaisindir (Yin & ark., 2012).

Fenoliklerce zengin doğal ham bitki materyalleri, ekmeğin antioksidan aktivitesini arttırmak için başarıyla kullanılabilir (Skendi, 2021). Vasileva ve arkadaşlarının (2018) yapmış olduğu bir çalışmada, hem lavanta hem de melisa atıkları ekmeğin antioksidan kabiliyetini artırmış ve raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir. Bitki bazlı antioksidanlar çoğunlukla BHT ve BHA'ya benzer bir

koruyucu etki gösterirler. Bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşikler, antioksidan özellikler de dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Spesifik olarak, Lamiaceae familyasından (kekik, adaçayı ve biberiye) elde edilen doğal özütün antioksidan aktivitesi birçok çalışmada rapor edilmiştir (Lourenço, Moldão-Martins & Alves, 2019). Fenolik ekstraktların yağları lipid oksidasyonuna karşı korumak ve duyuşal niteliklerini geliştirmek için zenginleştirmenin yanı sıra işlenmiş et ürünlerinde antioksidan katkı maddeleri içinde kullanılmaktadır (Skendi & ark., 2022). Et endüstrisinde hem lipid oksidasyon sürecini hem de mikrobiyal büyümeyi engellemek için sentetik bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) gibi antioksidanlar sıklıkla kullanılır (Fernandez-Lopez & ark., 2005, Sebranek & ark., 2005). Bu bağlamda, TBARS (tiyobarbitürik asit-reaktif maddeler) değerlerini düşürmek ve kırmızı renk kaybını azaltmak için donmuş sosis formülasyonunda yağda çözünen biberiye özü kullanılmıştır. Bu doğal katkı maddesinin dondurulmuş sucukta kalite değişikliklerini önlemede BHA/BHT sisteminden daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Sebranek & ark., 2005). Ayrıca, suda çözünen biberiye ekstraktlarının, soğutulmuş depolama sırasında pişmiş hindilerde lipid oksidasyonu ve renk değişimine karşı önemli ölçüde koruma sağladığı, böylece ürünün kalitesi ve raf ömrü artar (Yu & ark., 2002). Biberiye güçlü bir antioksidandır ve serbest radikalleri dengeleyebilen ve oksidasyon zincirini kırarak BHT ve BHA'dan dört kat daha etkili hale getiren rosmanol, rosmaridifenol, rosmarikinon ve karnosol gibi bileşikler içerir (Fernandez-Lopez & ark., 2005). Uygulaması göz önüne alındığında, biberiye özleri fonksiyonel gıdalarda, farmasötik ürünlerde, bitki ürünlerinde ve gıda muhafazasında kullanılabilir. Biberiye ucuz, bulunabilir ve toksik olmayan bir bitki olduğundan, biberiye özlerinin veya yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip uçucu yağların gıda endüstrisinde kullanımları yaygınlaşmaktadır (Nieto, Ros & Catillo, 2018).

Caleja ve ark., (2016) yoğurdun muhafazası için doğal antioksidan olarak papatya ve rezene, sentetik antioksidan olarak potasyum sorbatı kullanarak yaptıkları çalışmada her iki antioksidan

da eklendiğinde önemli değişikliklerin olmadığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte dekoksasyon yöntemi ile elde edilen papatya özütünün eklenmesiyle daha yüksek antioksidan aktivite tespit etmişlerdir. Ayrıca bu iki doğal antioksidan ekstraktları büskivilere eklendiğinde antioksidan aktivite, organoleptik ve besin değerlerinin sentetik olanlara benzer olduğunu bulmuşlardır (Caleja & ark., 2017).

Genel olarak, fenolik ekstraktların gıdaların korunmasına yönelik katkı maddeleri olarak etkinliği, ekstraktta bulunan aktif maddelerin türü ve miktarına göre değişir. Ayrıca kullanılan ham bitki materyali ve bunların hazırlanması için kullanılan ekstraksiyon yöntemleride bu durumu etkilemektedir. Farklı lipit bileşenleri ve gıda matrisleri veya paketlenme türleri, bu tür fenolik ekstraktların işlevselliğini etkileyebilmektedir. Literatürde yapılan çalışmalar, eklenen ekstraktların, farklı işleme işlemleri ve kullanılan ambalaj malzemesi nedeniyle özelliklerinde değişiklik gösterse de, ürünlerin rengi dahil olmak üzere duysal algıyı büyük ölçüde değiştirmediğini göstermiştir (Skendi & ark., 2022).

Doğal antioksidanlar, çeşitli gıda ürünlerinde, yenilebilir kaplamalarda ve gıda ambalajında kullanılacak filmlerde koruyucular gibi kullanılabilir (López-Pedrouso, Lorenzo & Franco, 2022). Doğal antioksidanların gücü ve ekstraktların kalitesi, yalnızca orijinal kaynağın kalitesine (coğrafi köken, beslenme özellikleri ve depolama gibi) değil, aynı zamanda bunların ekstraksiyonu için uygulanan teknolojilere de bağlıdır. Üreticilerin doğal antioksidanların kullanması, tüketicilerin doğal içeriklere sahip daha temiz etiketli ürünlere yönelik taleplerini karşılamalarını sağlar. Ancak, doğal kökenli olmalarının onları varsayılan olarak güvenli kılmadığını bilinmelidir. Bu bileşiklerin gıda ürünlerinde kullanım koşullarını belirlemek için toksisite çalışmalarına halen ihtiyaç duyulmaktadır (Lourenço, Moldão-Martins & Alves, 2019).

Renklendiriciler

Renk, gıda tercihini, gıda kabul edilebilirliğini ve nihayetinde gıda seçimini etkileyen lezzet tanımlaması ve tat eşikleri için görsel öneriler sunar (Bridle & Timberlake, 1997). Gıdanın rengi genellikle ürünün lezzeti, güvenliği ve besin değeri ile ilişkilendirilir (Sigurdson, Tang & Giusti, 2017). Doğal renklendiriciler ve biyoaktif bileşikler içeren doğal katkı maddeleri, son zamanlarda gıda endüstrisinde büyük önem kazanmıştır (Nabi ve ark., 2023). Renklendiriciler, gıda maddelerine daha iştah açıcı görünmelerini sağlamak için renk vermek ve/veya doğal elementlere (ışık, hava, sıcaklık vb.) maruz kalmaktan kaynaklanan renk kaybını telafi etmeye yardımcı olmak için kullanılan gıda katkı maddeleridir (Faustino ve ark., 2019). Bu pigmentler, çeşitli besleyici ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde kullanılan önemli gıda bileşikleridir (Nabi & ark., 2023).

Tıbbi ve aromatik bitkiler antioksidan kapasitelerinin yanı sıra gıda boyası olarak da kullanılma özelliklerine sahiptirler (Böttcher, Steinhäuser & Drusch, 2015, Lourenço, Moldão-Martins & Alves, 2019). Doğal pigmentler bitkiler, böcekler (kocineal ve lak), hayvanlar (yumuşakça, murex salyangozu, mürekkebalığı ve kabuklu deniz ürünleri), mantarlar (*Blakeslea trispora* and *Monascus spp.*), siyanobakteriler (*Arthrospira spp.*) ve hatta minerallerden (kil, aşı boyası ve malaşit gibi) elde edilmektedir (Vinha & ark., 2018). Doğal boyalar, renklendirici maddeler içeren bitkilerin kabuk, yaprak, kök, meyve veya tohum ve çiçek gibi farklı kısımlarından ekstrakte edilirler. Gıda endüstrisinde yaygın olarak altı bitki pigmenti (likopen, β -karoten, betalainler, antosiyanin, klorofiller ve lutein) kullanılmaktadır (Mohammad Azmin & ark., 2022).

Karotenoidler, renk katkı maddeleri olarak kullanılan ana bileşik grubudur. Bu doğal pigmentler yenilebilir meyvelerde, sebzelerde, mantarlarda, çiçeklerde ve hatta hayvanlar aleminden ıstakoz ve alabalık tonlarında görülen renklerin çoğundan sorumludur (Rodriguez-Amaya, 2016). Kartenoidler annatto, kadife çiçeği, domates, algler ve mikrobiyal fermentasyondan elde edilebilmektedir. Günümüzde betalainler – betanin, kinonlar –

kokineal, flavonoidler – antosiyaninler, izoprenoidler – karoten, annatto (biksin, norbiksin), kırmızı biber özü, lutein, kantaksantin, porfirinler – klorofiller ve klorofilinler ve bu bileşiklerin bakır kompleksleri, karamel, kurkumin veya bitkisel kömür gibi 16 doğal pigmente izin verilmektedir (Faustino & ark., 2019). Likopen domatese kırmızı rengini veren bir karotenoid pigmentidir (Wrolstad & Culver, 2012). Likopen domates dışında pembe greyfurt, karpuz, guava, papaya ve diğer kırmızı meyvelere doğal olarak oluşan kırmızı karotenoid bir pigmenttir (Story & ark., 2010). Bitkideki likopen içeriği, bitki türüne ve bitki kısmının olgunluğuna bağlıdır. Toksik olmaması ve yoğun rengi nedeniyle değerli bir doğal gıda boyasıdır (Mohammad Azim & ark., 2022). Domates yan ürünlerinden elde edilen likopen, bu bileşiğin dört aya kadar sabit bir kırmızımsı rengi koruyarak tereyağı ve dondurmanın renklendirilmesinde kullanılmaktadır (Kaur & ark., 2011, Rizk, El-Kady & El-Bialy, 2014).

Doğal renk katkı maddelerinden bir diğeri olan antosiyaninler, bitkiler alemindeki çeşitli türlerin mavi, kırmızı, yeşil ve mor renklerini verdiği için çok önemlidir (Mortensen, 2006, Faustino & ark., 2019, Ranaweera, Ampemohotti & Arachchige, 2020). Antosiyaninler, doğal bir antioksidan olmasının yanı sıra doğal renklendiriciler olarak yiyecek ve içeceklerle uygulanmaktadır. Suda yüksek oranda çözündükleri için su kullanılarak ekstrakte edilirler. Antosiyaninlerin renkleri sabit değildir. Bu bileşiklerin renkleri pH' a göre değişmektedir (Mohammad Azmin & ark., 2022). Örneğin pH 3 civarında iken antosiyaninlerin renkleri güçlü kırmızıdır. Antosiyaninler pH 5' te neredeyse renksiz hale gelirken, nötr ve alkali pH' ta mavi veya mordan yeşil renklere dönüşürler (Mortensen, 2006). Gıda endüstrisinde iştahı arttırmak için kullanılan en yaygın renk kırmızı renktir (Ranaweera, Ampemohotti & Arachchige, 2020). Antosiyaninler, kırmızı lahana, mürver, siyah frenk üzümü, tatlı patates, mor havuç ve kirazda bulunurlar (Mortensen, 2006). Ayrıca üzüm posası, turp, kırmızı patates, kırmızı lahana, siyah havuç, mor tatlı patates, kahve kabukları gibi

yan ürünlerin özlerinde de antosiyaninler bulunabilirler (Faustino & ark., 2019).

Bir diğer doğal renk maddesi olan betalain pigmenti Caryophyllales grubuna aittir. Kimyasal yapısına göre kırmızı mor betasiyaninler veya sarı betaksantinler olarak alt gruplara ayrılabilir (Gengatharan, Dykes & Choo, 2015). Betalainler, genellikle kırmızı pancar, ejder meyvesi, pazı, kaktüs çiçeği ve bazı çiçeklerde bulunan suda çözünen kırmızı ve sarı pigment grubudur. Betalain ekstresi geleneksel olarak çoğunlukla süt ürünleri, içecekler, şekerlemeler ve sığır ürünlerinde doğal renklendirici olarak kullanılmıştır. Klorofil ise tüm yeşil bitkilerde kolaylıkla bulunur. Doğal pigment olarak genellikle klorofil kullanılan gıda maddeleri süt ürünleri, çorbalar ve ayrıca içeceklerdir. Klorofil yenilebilir bitkilerden, ısırgan otu, çimen veya yonca, ipekböceği dışkısı ve hatta dut yapraklarından çıkarıldığından Avrupa'da yasaldır ama ABD'de yasal değildir (Mohammad Azmin & ark., 2022).

Baharatlar, kimyasal veya sentetik renklendiricilere karşı avantaj sağlayan doğal renklendirici kaynakları oldukları için renklendirici olarak kullanılırlar. Baharatlar, sarı ve turuncudan kırmızının farklı varyasyonlarına kadar farklı renklerde tonlanır (bitkilerden elde edilen klorofil hariç). Baharatların renklendirme özellikleri, beta karoten, lutin ve neoksantin gibi renkten sorumlu olan temel bileşik karotenoidlerden kaynaklanmaktadır (Bartley & Scolnik, 1995). Baharatlara bu renklendirme özelliklerini sağlayan diğer bileşikler ise sarı renkli flavonoidler, turuncu renkli kurkumin ve yeşil renkli klorofildir (Peter & Shylaja, 2012).

Baharatlar, genellikle turuncu, sarı ve kırmızı arasında güçlü renk pigmentleri sağlar,. Bu avantajlı olabilir. Çünkü baharatlar özellikle gıda için doğal renklendirici olarak kullanılabilirler. Baharatların gıdalarda renklendirici olarak kullanılması, geleneksel sentetik renklendiricilerin kullanımından kaçınan doğal bir alternatiftir. Renklendirmek için kullanılan en yaygın baharatlar kırmızı biber, kırmızı biber, hardal, maydanoz, zencefil ve zerdeçaldır (Jessica Elizabeth & ark., 2017).

Tablo 3. Doğal renkler ve uygulama alanları

Pigment	Renk	Kaynak	Kullanım Alanı
Antosiyaninler	Kırmızı	Üzüm kabuğu, sebze suyu (havuç, lahana) meyve suyu (mavi meyveler, böğürtlen, ahududu, çilek), kırmızı şaraplar, hububat, çiçekler, ve mantarlar	Karışık meyve suyu gibi içecekler, yoğurtlar ve kuru karışımlar
	Mor	Kırmızı lahana, mor tatlı patates ve mor havuç, patlıcan	Mor renkli reçel, jöle benzeri ürünler, şekerleme ürünleri, içecekler, yoğurt
	Mavi	Yaban mersini, böğürtlen, Mavi mısır	Şekerleme ürünleri ve dondurmalar, karışık meyve suları
Karotenoidler	Turuncu -Sarı	Zerdeçal, Safran, Havuç, Paprika, Domates	Margarinler, unlu mamuller, bileşik kaplamalar, kuru içecek karışımları, dondurma, panlanmış şekerler, soslar, çeşniler, çorbalar, kremler, süt ürünleri ve mısır gevreği, tatlılar, reçeller, kremler, hamur işleri
	Kırmızı	Domates, karpuz, guava ve pembe meyve	Et ürünleri, çorbalar, turşular ve atıştırmalıklar
Betalainler	Kırmızı	Kırmızı pancar	Yoğurt, şekerlemeler, dondurma, şuruplar ve soslar
Klorofiller	Yeşil	Bitkiler (nane, antep fıstığı, yaygın veya ısırgan otu)	Narenciye bazlı kuru içecek karışımları.

Yapay gıda boyaları çoğu zaman insan tüketimi için güvenli değildir. Uzun süre tüketildiklerinde alerji, sinirlilik, hiperaktivite gibi sağlık sorunlarına ve kanser gibi çok ciddi sorunlara neden

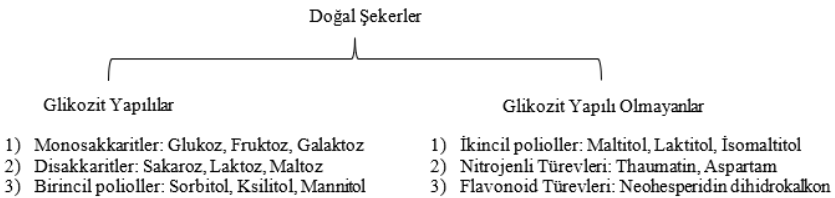
olabilirler (Ranaweera, Ampemohotti & Arachchige, 2020). Ancak doğal pigmentlerin sentetik renklendiricilere kıyasla düşük stabilitesi nedeniyle gıda işleme, depolama ve ticarileştirme sırasında renk kayıplarıyla ilgili zorluklar vardır. (Cortez & ark., 2017, Rodriguez-Amaya, 2019). Doğal gıda pigmentlerinin amaçlanan işlevsel uygulaması, yiyecek ve içeceklerin görünümünü iyileştirmek veya işleme ve dönüştürmeden kaynaklanan renk kaybını eski haline getirmektir. Antosiyaninler, krem peynir, fermente süt, milkshake gibi süt ürünlerinde olduğu gibi düşük pH'lı içeceklerde ve ayrıca krep ve omlet gibi katı gıda matrisleri olmak üzere çok çeşitli ürünlerde gıda pigmentleri olarak kullanılmaktadır. Sentetik renklendiriciler yerine doğal pigmentlere yönelik tüketici taleplerinin bir sonucu olarak doğal gıda boyaları geliştiren ve üreten gıda endüstrisi katlanarak büyümektedir (Cortez & ark., 2017, Ranaweera, Ampemohotti & Arachchige, 2020). Tablo 3' de bazı doğal renklerin kaynakları ve uygulama alanları verilmiştir (Ranaweera, Ampemohotti & Arachchige, 2020).

Tatlandırııcılar

Bitkilerin gıda, içecek ve ilaçların kalitesini artırmak için tatlandırıcı ve çeşni olarak kullanılması ve bilinmesi insanlık tarihi kadar eskidir (Schwab, Davidovich-Rikanati & Lewinsohn, 2008). Tatlandırııcılar, taze sebzeler, konserve et ürünleri ve deniz ürünleri için baharat görevi görür. Çeşnilendirme işlemi, toplam lezzetin artırılması, lezzet notalarının harmanlanması, tatlılığın değiştirilmesi veya yoğunlaştırılması, acılığın, ekşiliğın, tuzluluğın ve ahmlığın azaltılması lezzet faktörlerinin kontrolü olarak kendini gösterir (Sjöström & Cairncross, 1955). Günümüzde baharatlar gıdaların raf ömrünü uzatmaktan çok tatlandırma amaçlı kullanılmaktadırlar (Jessica Elizabeth & ark., 2017).

Tatlandırııcılar (yasal gıda katkı maddeleri ve katkı maddesi olmayanlar olarak) içsel özelliklerine veya menşesine göre sınıflandırılabilir. En yaygın sınıflandırmalardan bazıları, besin değeri, tatlandırma güçleri ve kökenleri açısından. Bu nedenle tatlandırııcılar, besleyici ve yoğun tatlandırııcılar ve aynı zamanda

sentetik ve doğal kaynaklı tatlandırıcılar olarak ayrılabilirler. Tamamı gıda katkı maddesi olarak kabul edilen yoğun tatlandırıcılar ise kalori katkısı çok düşük ve tatlandırma kapasiteleri yüksek olup, gıdalarda düşük miktarlarda kullanılmaktadır (Carocho, Morales & Ferreira, 2017). Şekil 1’ de doğal kaynaklı tatlandırıcılar görülmektedir. Doğal tatlandırıcılar, şekerler, şeker alkoller, amino asitler, proteinler, terpenoid glikozitler ve bazı polifenoller gibi çok çeşitli bileşikler kapsar. Şeker alkoller veya polioller, meyvelerde, sebzelerde, mantarlarda ve alglerde doğal olarak bulunan sindirilebilirliği düşük karbonhidratlardır. Şeker alkoller, gıda ürünü yeniden formüle etme amaçları için sıklıkla kullanılır (Saraiva & ark., 2020).



Şekil 1. Doğal kaynaklı şekerler (Carocho, Morales & Ferreira, 2017)

Tüketicilerden gelen talep nedeniyle, son yıllarda doğal tatlandırıcıların kullanımı artmıştır. Steviol glikozitler (E960), thaumatin (E957) ve neohesperidin dihidrokalkon (E959) kullanılan en yaygın doğal tatlandırıcılar. Steviol glikozitler (E960), Paraguay ve Portekiz'den gelen Asteraeae ailesinden bir bitki olan Stevia rebaudiana Berton'i'nin yapraklarından ekstrakte edilen moleküllerdir. Bitki o kadar yüksek konsantrasyonda steviosid içerir ki doğrudan tatlandırıcı olarak kullanılabilir (Lobete & ark., 2017). Afrika'ya özgü Thaumtococcus danielli Bennett bitkisinden ekstrakte edilen Thaumatin (E957) bir protein karışımıdır (Fry, 2012). Thaumatin sıklıkla işlenmiş sebzelerde, soslarda, çorbalarda, kümes hayvanlarında, yumurtadan elde edilen ürünlerde, sakızlarda ve meyve suyunda kullanılır (Saraiva & ark., 2020). Monellin, brazzein ve lizozim gibi başka tatlı protein örnekleri de vardır, ancak

thaumatin protein bazlı tatlandırıcıların en yaygın örneğidir (Firsov & ark., 2016). Bir başka ilginç tatlandırıcı bileşik, bir meyan kökü bitkisi olan Glycyrrhiza glabra L. köklerinden (Fabaceae) izole edilen glisirizin veya glisirizik asittir. Glisirizinin köpürme maddesi ve lezzet artırıcı olarak uygulamaları arasında unlu mamuller, dondurma, şekerlemeler, sakızlar ve içecekler yer alır (Saraiva & ark., 2020). Gıda endüstrisinde kullanılan bu tatlandırıcının iltihabı önleyici etkisi vardır (Mathe, 2015). Tablo 4’ de gıda ürünlerinde kullanılan bazı doğal tatlandırıcılar ve bunların uygulama alanları verilmiştir (Castro- Muñoz & ark., 2022).

Tablo 4. Ticari gıda ürünlerinde kullanılan bazı doğal tatlandırıcıların uygulama alanları

Doğal Tatlandırıcılar	Uygulama Alanları
Stevia	Şeker, içecekler, dondurma, fırıncılık ürünleri, baharat ve yoğurtlar
Bal	Tahıl barları, hububatlar, bira mayalama
Şeker kamışı	Yoğurtlar, fermentasyon süreçleri
Hurma şekeri	Şeker, dondurma, fırıncılık ürünleri ve yoğurtlar
Sabırotu Nektarı	Fırıncılık ürünleri ve tahıl barlar
Aksaağaç şurubu	İçecekler ve şekerlemeler

Gıda Takviyeleri

İnsanlığın ilk zamanlarından beri çeşitli şekillerde kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler modern toplumlarımızda bile geleneksel temel iyileştirici rollerini korumuşlardır. Bu bitkiler, geleneksel mutfak ve gıda endüstrisi kullanımlarının dışında, gıda takviyesi (gıda katkı maddesi) olarakta tüketilmektedirler (Mathe, 2015). Tıbbi ve aromatik bileşikler içecek ve gıda şekerlemeleri gibi gıda endüstrisinde gıda takviyesi olarak kullanılmaktadırlar (Antolak & Kregiel, 2017). Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliği’ne (Tebliğ No:2013/49) göre, “normal beslenmeyi takviye etmek amacıyla, vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit gibi besin öğelerinin veya bunların dışında besleyici veya fizyolojik etkileri bulunan bitki, bitkisel ve hayvansal kaynaklı maddeler, biyoaktif maddeler ve benzeri maddelerin konsantre veya

ekstraktlarının tek başına veya karışımlarının kapsül, tablet, pastil, tek kullanımlık toz paket, sıvı ampul, damlalıklı şişe ve diğer benzeri sıvı veya toz formlarda hazırlanarak günlük alım dozu belirlenmiş ürünlerdir” (Göktaş & Gıdık, 2019).

Son zamanlarda, gıda endüstrisi, zengin polifenol içerikleri ve fonksiyonel gıdalarda veya gıda takviyelerinde potansiyel kullanımları nedeniyle bitki ve meyvelerden elde edilen yan ürünlerle de ilgilenmeye başlamıştır (Silva & Pogačnik, 2020). Örneğin resveratrol, birçok bitkide doğal olarak bulunan bir polifenoldür. Yaşlanma karşı bir molekül olan resveratrol umut vadeden farkındalığı ile güçlü farmakolojik etkilere sahiptir. Bu da gıda endüstrisi ve gıda takviye endüstrileri tarafından resveratrol içeren ürünlerin geliştirilmesinin önünü açmaktadır. Son zamanlarda, dünya çapında bitkileri doğal resveratrol kaynağı olarak kullanmaya yönelik bir eğilim vardır. Resveratrol, esas olarak 100 tür içeren 34 ailede (Liliaceae, Legumeminasae, Polyonaceae, Pinaceae, Gramineae, Ranunculaceae, Ranunculaceae, Myrtaceae, Araliaceae, Compositae, Magnoliaceae, Juglandaceae, Bromeliaceae, Aceraceae gibi) bulunmaktadır. Bu bileşik genellikle köklerden, gövdelerden, yapraklardan, çiçeklerden, meyvelerden ve tohumlardan çıkarılır (Tian & Liu, 2020). Ayrıca üzüm çekirdeği tozu, antioksidan ve süpürücü özellikleri nedeniyle genellikle besin takviyesi veya gıda koruyucu olarak kullanılan yüksek miktarda biyoaktif polifenoller içerir. Üzüm çekirdeği tozu yüksek polifenol içeren *Vitis vinifera* tohumlarından elde edilen doğal bir karışımdır (Charradi & ark., 2018).

Moringa oleifera Lam. ise ilaç ve gıda takviyesi alanında geniş bir uygulama yelpazesine sahip iyi bir fitokimyasal kaynağıdır. Flavonoidler, alkaloidler, doğal şekerler dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonel biyoaktif bileşenler içeren *Moringa oleifera* Lam. antiinflamatuar, hepatoprotektif, antinosiseptif, oksidatif DNA hasarı koruyucu, antiperoksidatif ve kardiyο koruyucu etkilere sahiptir. Bu bitki protein, vitaminler, mineraller, amino asitler, fenolik asitler ve fitosteroller açısından zengindir. Gelişmiş ülkeler *Moringa oleifera* Lam.’ ı yetersiz beslenmeyle mücadele için etkili

bir besin takviyesi olarak kullanıyor (Rajendran, Sudeshraj & Sureshkumar, 2019). Aynı zamanda β -karoten, gıda endüstrisinde doğal gıda boyası olarak kullanımının yanı sıra gıda takviyesi olarakta kullanılmaktadır (Mohammad Azmin & ark., 2022). Bitki kaynaklı en güçlü antioksidanlardan biri olan kuersetin, (yenilebilir) bitkilerde yaygın olarak bulunan ve gıda takviyesi olarak kullanılan önemli flavonoidlerden biridir (Egert & ark., 2008). Ayrıca anasonun (*Pimpinella anisum* L.) hem tohumları hem de uçucu yağları, antidiyabetik, hipolipidemik, antioksidan aktiviteler, antikanser ve antimikrobiyal özellikleri gibi tüm olumlu özellikleri nedeniyle, hem ilaç hem de gıda endüstrisinde süper gıda takviyesi ve ham bileşen olarak güvenle kullanım için umut vericidir (Sun, Shahrajabian & Cheng, 2019).

Fonksiyonel Gıda Olarak Kullanımı

Fonksiyonel gıdalar genel olarak besin değerlerinin ötesinde sağlık yararları sunan gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Zuzarte, Girão & Salgueiro, 2023). Ayrıca bu gıdalar, besin değeri düşük olan bir gıdanın beslenme kalitesini iyileştirmek veya halk sağlığı sorunlarını çözmek için kullanılan gıdaları içerebilir. Gıdalarda sentetik katkı maddelerinin kullanılması konusunda endişeli olan tüketiciler gıda işleyicilerini bu katkı maddeleri kullanmadan gıda ürünleri üretmenin yollarını bulmaya zorlamıştır. Bu nedenle gıda sektöründe “temiz etiketli” ürünlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda, tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda ürünlerine dahil edilerek fonksiyonel gıdalar üretmek mükemmel bir stratejidir. Çünkü bitki bazlı ekstraktlar fitokimyasallar açısından zengindir ve sağlığa yararlı etkileri nedeniyle özel bir öneme sahiptir (Nieto, 2020a). Fonksiyonel gıdalar, geleneksel muadillerine benzer bir görünüme sahiptirler. Ancak çeşitli bir diyetle düzenli olarak tüketildiğinde yararlı etkiler sağlarlar (Pinela & ark., 2016). Hiç şüphe yok ki fonksiyonel gıda geliştirme tüketiciler, endüstriler, hükümetler ve üniversiteler tarafından büyük ilgi görmektedir. Araştırma ve geliştirme bakış açısından fonksiyonel gıdalar, halihazırda var olan

bu talebi önemli ölçüde karşılayan yenilikçi ürünler elde etme fırsatını temsil eder (Betoret & ark., 2011).

Fonksiyonel gıdalar, gıda endüstrisindeki en ilginç ve aktif araştırma ve yenilik alanlarından birini temsil etmektedir (Annunziata & Vecchio 2011). Fonksiyonel gıda endüstrisi dünya çapında istikrarlı bir şekilde büyümesine rağmen, yeni fonksiyonel gıdaların başarılı bir şekilde ticarileştirilmesi, özellikle üretim süreçlerine yönelik stratejik bir yaklaşıma duyulan ihtiyaç nedeniyle, bir zorluk olmaya devam ediyor. Bu nedenle modifiye fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi veya yeniden yapılandırılması sırasında duyuşsal kabul, uygunluk, stabilite, kimyasal ve fonksiyonel özellikler, fiyat gibi birçok değişkenin dikkate alınması gerekmektedir (Pinela & ark., 2016). Betoret ve ark. (2011), fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi için mevcut teknolojileri üç ana kategoride gruplandırmıştır. Birinci grup, geleneksel olarak gıda işleme, formülasyon ve harmanlamanın yanı sıra yetiştirme ve yetiştirmede kullanılan teknolojiler dahil olmak üzere fonksiyonel gıda geliştirme için en yaygın kullanılan teknolojilerden oluşur. Fizyolojik olarak aktif bileşiklerin bozulmasını önlemeye çalışan bir yapı oluşturan metodolojilerin oluşturduğu ikinci grup, mikrokapsülasyon, yenilebilir film ve kaplamalar ve vakumlu emprenye teknolojilerini içermektedir. Kişiyeye özel beslenmeye yönelik fonksiyonel gıdalar tasarlamaya yönelik son teknolojilerle oluşturulan üçüncü grup, son yıllarda önemli ölçüde büyüyen gruptur. Şimdiye kadar, fonksiyonel gıda endüstrisi ağırlıklı olarak sebzelerde, tahıllarda ve meyvelerde bulunan bileşenlere odaklandı. Temel beslenmenin ötesinde sağlık yararları sağlayan yaygın gıdalara örnek olarak domates (likopen), yeşil çay (kateşinler), kızılılık suyu (proantosiyanidinler) ve psyllium tohumları (çözünür lif) verilebilir. Soya fasulyesi, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diyabet üzerinde faydalı etkileri olan proteinler, izoflavonlar, oligosakkaritler ve fosfolipidler gibi fonksiyonel bileşenleri ile iyi bilinir. Asteraceae ailesi fonksiyonel gıda endüstrisi için bir potansiyeldir (Garcia-Oliveira & ark., 2021). Ayrıca Lamiceae familyasına ait türlerde, kimyasal bileşimleri nedeniyle fonksiyonel

gıdalar olarak büyük bir potansiyele sahiptir. *Acinos arvensis* (Lam.) Dandy, *Ajuga reptans* L., *Agastache mexicana* (Kunth.), *Betonica officinalis* (L.) Trevis. syn. *Stachys officinalis* L., *Calamintha officinalis* Moench, *Clinopodium vulgare* L., *Dracocephalum heterophyllum* Benth., *Lamium album* L., *Lamium purpureum* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Lycopus europaeus* L., *Marrubium vulgare* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L., *Origanum majorana* L., *Origanum vulgare* L., *Prunella vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia fruticosa* Mill., *Salvia officinalis* L., *Salvia sclarea* L., *Salvia tomentosa* Mill., *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L., *Ziziphora clinopodioides* Lam. ve *Ziziphora tenuior* L. fonksiyonel gıda olarak kullanılan Lamiaceae türlerinden bazılarıdır (Carović-Stanko & ark., 2016).

Mürver, yaban mersini, kızılçık, böğürtlen, ahududu ve dağ çileği gibi çeşitli meyveler, diğer biyoaktif bileşiklerin yanı sıra antosiyaninler, proantosiyanidinler, flavonoller, fenolik asitler ve vitaminler kaynağı olarak öne çıkıyor. İzole edilmiş veya birleştirilmiş ekstraktlar halindeki bu moleküller, antioksidan, antiinflamatuvar, antikanserojenik, kardiyoprotektif ve antibakteriyel özelliklere sahiptir (Pinela & ark., 2016). Pancar kökü (*Beta spp.*) gibi diğer bitkiler, antioksidan, hepatoprotektif, antikanser ve antiproliferatif aktiviteye, antihipertansif ve hipoglisemik etkilere sahiptirler. Bu sağlık yararları, yüksek fenolik asitler, flavonoidler, betalainler, mineraller (P, Mg, Fe, Zn, Ca ve Na), folik asit, biyotin ve çözünür lif içeriği ile sağlanır (Ninfali & Angelino, 2013). Zencefil (*Zingiber officinale* Roscoe) antioksidan, antiinflamatuvar, antitrombotik, kolesterol düşürücü, analjezik, antipiretik ve hipotansif etkilere sahip olmanın yanı sıra zencefilol (6-gingerol), shogaol (6-shogaol), lif ve flavonoid kaynağı olarak tanımlanmıştır (Monjani & ark., 2014). Sebze ve meyve atıklarından elde edilen bioaktif bileşiklerde dondurma, kurabiye, makarna, un, ekmek, kraker, yoğurt ve peynir de fonksiyonel gıda ürünü olarak kullanılırlar (Pattnaik & ark., 2021).

Sağlıklı yararları olan yiyecek ve içecek arayışında olan pek çok tüketici işlevsellikleri, bioaktif molekül içerikleri, kolaylık ve

duyusal özellikleri açısından fonksiyonel içecekleri tercih etmektedir. Fonksiyonel içecekler en çekici fonksiyonel gıda kategorisidir (Casanova, 2015). Fonksiyonel içecekler segmenti, aralarında enerji içecekleri, spor içecekleri ve fonksiyonel şişelenmiş suların son yıllarda dikkate değer bir büyüme kaydeden fonksiyonel ve güçlendirilmiş içecekler kategorisine ait olduğu çeşitli ürün türlerini içerir. Fonksiyonel içecekler, insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkisi olan vitaminler, mineraller, polifenoller, bitki pigmentleri, fitosteroller, yağ asitleri, lif, prebiyotikler ve probiyotikler dahil olmak üzere mükemmel bir besin ve biyoaktif molekül kaynağıdır (Maleš & ark., 2022). Fonksiyonel içecekler, spor içecekleri, enerji içecekleri, süt bazlı içecekler, meyve suları, nutrasötik içecekler, zenginleştirilmiş su ve diğer fonksiyonel içecekler/içecekler olarak ayrılan alkolsüz içeceklerdir (Dini, 2019). Tablo 5’ de fonksiyonel içecek olarak yaygın kullanılan bazı bitkiler verilmiştir (Maleš & ark., 2022).

Tıbbi ve aromatik bitkiler, yeni veya geliştirilmiş fonksiyonel gıdaların yanı sıra nutrasötiklerin geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Nutrasötikler, normal gıda ürünleri ve fonksiyonel gıdalardan elde edilemeyen daha yüksek bir dozaj sağlayacak, ham doğal matrikslerden hazırlanan, biyoaktif bileşikler veya ekstraktlar içeren diyet takviyeleri olarak tanımlanabilir. Nutrasötik ürünler gıda endüstrisinde hızla büyüyen bir sektörü temsil etmektedir. Yakın gelecekte çorbalar, smoothieler, işlenmiş etler, ekmek ve soslar gibi özel beslenme ihtiyaçları için yiyeceklerin nutrasötik formülasyonlarla zenginleştirilmesi beklenmektedir (Pinela & ark., 2016).

Tablo 5. Fonksiyonel içeceklerde yaygın kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler

Bitki	Kullanılan Bitki Kısım	Major bioaktif bileşikler
<i>Camellia sinensis</i> L. Kuntze (Bitki çayı)	Yapraklar	caffeine, theophylline, theobromine, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, theogallin, gallic acid, pcoumaric acid, caffeic acid, chlorogenic acid,
<i>Coffea arabica</i> L. (Arap kahvesi)	Taneler	caffeine, trigonelline, chlorogenic acid, caffeic acid, cafestol, kahweol
<i>Mentha × piperita</i> L. (Nane)	Yapraklar	menthol, menthone, menthyl acetate, caffeic acid, rosmarinic acid, lithospermic acids, chlorogenic acid, hesperidin, glycosides of eriodictyol and naringenin
<i>Salvia officinalis</i> L. (Dalmaçalı adaçalı)	Yapraklar ve çiçekler	α/β -thujones, 1,8-cineole, camphor, caffeic acid isomers, rosmarinic acid, carnosol, rosmanol, luteolin and apigenin glycosides, ursolic acid, oleanolic acid
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. (biberiye)	Yapraklar	1,8-cineole, camphor, α -pinene, borneol, bornyl acetate, verbenone, carnosic acid, carnosol, rosmanol, rosmarinic acid, chlorogenic acid, betulinic acid, oleanolic acid, glycosides of luteolin, apigenin and quercetin
<i>Melissa officinalis</i> L. (Limon otu)	Yapraklar	geranial, neral, geraniol, citronellal, thymol, β -caryophyllene, rosmarinic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, gallic acid, ursolic acid, oleanolic acid, glycosides of luteolin, apigenin, hesperetin and naringenin
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill. (Lavanta)	Çiçekler	linalool, linalyl acetate, 1,8-cineole, lavandulol, terpinene-4-ol, rosmarinic acid, caffeic acid, ferulic acid, gallic acid, glycosides of apigenin, luteolin and quercetin
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe (Ginger)	Kök	gingerols, shogaols, paradols, diarylheptanoids, zingerone, β -elemene, zingiberene, curcumene, farnesene, zerumbone α/β -pinenes, phellandrene, 1,8-cineole, citral, limonene

SONUÇ

Tıbbi ve aromatik bitkiler antik çağlardan beri insanoğlunun günlük diyetinde her zaman yer almıştır. Günümüzde gıda güvenliği konusunda yaşanan sıkıntılar ve gıdalarda kullanılan sentetik

kimyasalların olası yan etkileri konusunda artan farkındalıktan dolayı tüketicilerde doğal ürünleri tüketmeye yönelik eğilim artmaktadır. Çoğu gıda ürünü ısıl işlem görmektedir ve doğal olarak gıdanın duyuşal özellikleri etkilenmektedir. Bundan dolayı gıdaların duyuşal özelliklerini iyileştirmek ve korumak için gıda katkı maddelerinin ilavesi zorunlu hale gelmektedir. Sentetik katkı maddelerinin sağıık üzerine olumsuz etkileri doğal katkı maddelerinin kullanımını arttırmıştır. Ayrıca fonksiyonel gıdaların popülaritesi ve beslenmenin insan sağıığı üzerindeki etkisi konusunda tüketici bilincinin artması nedeniyle, gıda üretiminde tıbbi ve aromatik bitkiler kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde doğal ürün olarak tıbbi ve aromatik bitkilerin daha iyi ve gebnış bir alanda kullanılması için bu bitkiler hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynakça

Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F.M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M.S., Ishtiaq, A., Hussain, S. & Suleria, H.A.R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20 (8), 1689-1699. Doi: [10.1080/10942912.2016.1220393](https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393)

Akgül, A. & Ünver, A. (2001). Bitkisel çaylar. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 11, 21-24.

Alarcón, R., Pardo-de-Santayana, M., Priestley, C., Morales, R. & Heinrich, M. (2015). Medicinal and local food plants in the south of Alava (Basque Country, Spain). *Journal of ethnopharmacology*, 176, 207-224. Doi: [10.1016/j.jep.2015.10.022](https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.10.022)

Antolak, H. & Kregiel, D. (2017). Food preservatives from plants. *Food additives*, 1, 45-85. Doi: [10.5772/intechopen.70090](https://doi.org/10.5772/intechopen.70090)

Awuchi, Chinaza Godswill. (2019). Medicinal plants: the medical, food, and nutritional biochemistry and uses. *International Journal of Advanced Academic Research*, 5(11), 220-241.

Bartley, G.E. & Scolnik, P.A. (1995). Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *The Plant Cell*, 7(7), 1027. Doi: [10.1105/tpc.7.7.1027](https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1027)

Betoret, E., Betoret, N., Vidal, D. & Fito, P. (2011). Functional foods development: Trends and technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 22(9), 498-508. Doi: [10.1016/j.tifs.2011.05.004](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.05.004)

Böttcher, S., Steinhäuser, U. & Drusch, S. (2015). Off-flavour masking of secondary lipid oxidation products by pea dextrin. *Food Chemistry*, 169, 492-498. Doi: [10.1016/j.foodchem.2014.05.006](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.006)

Bridle, P. & Timberlake, C.F. (1997). Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. *Food chemistry*, 58(1-2), 103-109. Doi: [10.1016/S0308-8146\(96\)00222-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00222-1)

Cacho, J.I., Campillo, N., Viñas, P. & Hernández-Córdoba, M. (2016). Determination of synthetic phenolic antioxidants in edible oils using microvial insert large volume injection gas-chromatography. *Food chemistry*, 200, 249-254. Doi: 10.1016/j.foodchem.2016.01.026

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A.L., Ciric, A., Soković, M., Oliveira, M.B.P., Santos-Buelga, C. & Ferreira, I.C. (2015). *Foeniculum vulgare* Mill. as natural conservation enhancer and health promoter by incorporation in cottage cheese. *Journal of functional foods*, 12, 428-438. Doi: 10.1016/j.jff.2014.12.016

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A.L., Carocho, M., Oliveira, M.B.P. & Ferreira, I.C. (2016). Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. *Food chemistry*, 210, 262-268. Doi: 10.1016/j.foodchem.2016.04.114

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A.L., Oliveira, M.B.P. & Ferreira, I.C. (2017). A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits. *Food chemistry*, 216, 342-346. Doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.075

Carocho, M., Barreiro, M.F., Morales, P. & Ferreira, I.C. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 377-399. Doi: [10.1111/1541-4337.12065](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12065)

Carocho, M., Morales, P. & Ferreira, I.C. (2015). Natural food additives: Quo vadis?. *Trends in food science & technology*, 45(2), 284-295. Doi: 10.1016/j.tifs.2015.06.007

Carocho, M., Morales, P. & Ferreira, I.C., 2017. Sweeteners as food additives in the XXI century: A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 302-317. Doi: 10.1016/j.fct.2017.06.046

Carović-Stanko, K., Petek, M., Grdiša, M., Pintar, J., Bedeković, D. A. L. I. B. O. R., & Satovic, Z. (2016). Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods—a review. *Czech journal of food sciences*, 34(5), 377-390. Doi: [10.17221/504/2015-CJFS](https://doi.org/10.17221/504/2015-CJFS)

Casanova, F.P. (2015). Production of health rice-based drink: use of ultrasound-attenuated lactic acid bacteria and yeasts. Ph.D thesis.

Castro-Muñoz, R., Correa-Delgado, M., Córdova-Almeida, R., Lara-Nava, D., Chávez-Muñoz, M., Velásquez-Chávez, V.F., Hernández-Torres, C.E., Gontarek-Castro, E. & Ahmad, M.Z. (2022). Natural sweeteners: Sources, extraction and current uses in foods and food industries. *Food Chemistry*, 370, 130991. Doi: [10.1016/j.foodchem.2021.130991](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130991)

Charradi, K., Mahmoudi, M., Bedhiafi, T., Jebari, K., El May, M. V., Limam, F., & Aouani, E. (2018). Safety evaluation, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of subchronically dietary supplemented high dosing grape seed powder (GSP) to healthy rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 534-546. Doi: [10.1016/j.biopha.2018.08.031](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.031)

Cortez, R., Luna-Vital, D.A., Margulis, D. & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural pigments: stabilization methods of anthocyanins for food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 180-198. Doi: [10.1111/1541-4337.12244](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12244)

Çarıkçı, S., Çöl, Ç., Kılıç, T. & Azizoğlu, A. (2007). Diterpenoids from *Sideritis tmolea* P.H. Davis. *Rec. Nat. Prod.* 1(4), 44-50.

Davidson M.P., Sofos J.N. & Brannen A.L. (2005). Antimicrobials in food. (3rd edit). Boca Raton:Taylor & Francis

Dian-Nashie, F., Noriham, A., Nooraain, H. & Azizah, A.H., 2015. Antioxidant activity of herbal tea prepared from *Cosmos*

caudatus leaves at different maturity stages. *International Food Research Journal*, 22(3). Doi: 10.1016/B978-0-12-816397-9.00001-7

Dini, I. (2019). An overview of functional beverages. *Functional and medicinal beverages*, 1-40.

Egert, S., Wolfram, S., Bosy-Westphal, A., Boesch-Saadatmandi, C., Wagner, A. E., Frank, J., Gerald Rimbach & Mueller, M. J. (2008). Daily quercetin supplementation dose-dependently increases plasma quercetin concentrations in healthy humans. *The Journal of nutrition*, 138(9), 1615-1621. Doi: [10.1093/jn/138.9.1615](https://doi.org/10.1093/jn/138.9.1615)

Elmastas, M., Celik, S.M., Genc, N., Aksit, H., Erenler, R. & Gulcin, İ. (2018). Antioxidant activity of an Anatolian herbal tea—*Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *International journal of food properties*, 21(1), 374-384. Doi: [10.1080/10942912.2017.1416399](https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1416399)

Embuscado, M.E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants—a mini review. *Journal of functional foods*, 18, 811-819. Doi: 10.1016/j.jff.2015.03.005

Exploratorium (2013). *Spice blends*. In: *Spice Blends of the World Science Cooking*. California USA. (07/08/2023 tarihinde <https://annex.exploratorium.edu/cooking/seasoning/map/spicemap.html> adresinden ulaşılmıştır.)

Faustino, M., Veiga, M., Sousa, P., Costa, E.M., Silva, S. & Pintado, M. (2019). Agro-food byproducts as a new source of natural food additives. *Molecules*, 24(6), 1056. Doi: [10.3390/molecules24061056](https://doi.org/10.3390/molecules24061056)

Faye, P.G., Ndiaye, E.M., Baldé, S., Sow, A., Cissé, O.K., Ayessou, N.C. & Cisse, M. (2023). Optimization of the Aqueous Decoction Process of *Combretum micranthum* Leaves. *Food and Nutrition Sciences*, 14(3), 277-286. Doi: [10.4236/fns.2023.143018](https://doi.org/10.4236/fns.2023.143018)

Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J.A. & Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat science*, 69(3), 371-380. Doi: 10.1016/j.meatsci.2004.08.004

Fierascu, R.C., Ortan, A., Fierascu, I.C. & Fierascu, I. (2018). In vitro and in vivo evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review. *Current Opinion in Food Science*, 24, 1-8. Doi: 10.1016/j.cofs.2018.08.006

Firsov, A., Shaloiko, L., Kozlov, O., Vinokurov, L., Vainstein, A. & Dolgov, S. (2016). Purification and characterization of recombinant supersweet protein thaumatin II from tomato fruit. *Protein Expression and Purification*, 123, 1-5. Doi: 10.1016/j.pep.2016.03.002

Fry, J.C. (2012). Natural low-calori sweeteners. Baines, D. & Seal, R. (Eds.) *Natural food additives, ingredients and flavourings* (pp. 41-75) .USA. Woodhead Publishing Limited.

Gaio, I., Saggiorato, A.G., Treichel, H., Cichoski, A.J., Astolfi, V., Cardoso, R.I., Toniazzo, G., Valduga, E., Paroul, N. & Cansian, R.L. (2015). Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 10, 323-329. Doi: 10.1007/s00003-015-0936-x

Garcia-Oliveira, P., Barral, M., Carpena, M., Gullón, P., Fraga-Corral, M., Otero, P., Prieto, M.A. & Simal-Gandara, J. (2021). Traditional plants from Asteraceae family as potential candidates for functional food industry. *Food & Function*, 12(7), 2850-2873. Doi: 10.1039/D0FO03433A

Gengatharan, A., Dykes, G.A. & Choo, W.S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 645-649. Doi: 10.1016/j.lwt.2015.06.052

Gharby, S., Oubannin, S., Ait Bouzid, H., Bijla, L., Ibourki, M., Gagour, J., Koubachi, J., Sakar, E.H., Majourhat, K., Lee, L.H. & Harhar, H. (2022). An overview on the use of extracts from medicinal and aromatic plants to improve nutritional value and oxidative stability of vegetable oils. *Foods*, 11(20), 3258. Doi: [10.3390/foods11203258](https://doi.org/10.3390/foods11203258)

Gokoglu, N. (2019). Novel natural food preservatives and applications in seafood preservation: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2068-2077. Doi: [10.1002/jsfa.9416](https://doi.org/10.1002/jsfa.9416)

Göktaş, Ö. & Gıdık, B. (2019). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* ,2(1), 145-151.

Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A.B., Haffner, K., Baugerød, H., Andersen, L.F. & Moskaug, Ø. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of nutrition*, 132(3), 461-471. Doi: [10.1093/jn/132.3.461](https://doi.org/10.1093/jn/132.3.461)

Hernández-Ochoa, L., Aguirre-Prieto, Y. B., Nevárez-Moorillón, G. V., Gutierrez-Mendez, N. & Salas-Muñoz, E. (2014). Use of essential oils and extracts from spices in meat protection. *Journal of food science and technology*, 51, 957-963. Doi: [10.1007/s13197-011-0598-3](https://doi.org/10.1007/s13197-011-0598-3)

Hintz, T., Matthews, K.K. & Di, R., 2015. The use of plant antimicrobial compounds for food preservation. *BioMed research international*, 2015. Doi: [10.1155/2015/246264](https://doi.org/10.1155/2015/246264)

Horžić, D., Komes, D., Belščak, A., Ganić, K.K., Iveković, D. & Karlović, D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food chemistry*, 115(2), 441-448. Doi: [10.1016/j.foodchem.2008.12.022](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.022)

Hussain, A., Larsson, H., Olsson, M.E., Kuktaite, R., Grausgruber, H. & Johansson, E. (2012). Is organically produced

wheat a source of tocopherols and tocotrienols for health food?. *Food Chemistry*, 132(4), 1789-1795. Doi: [10.1016/j.foodchem.2011.11.141](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.141)

Jamali, C.A., Kasrati, A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D. & Abbad, A. (2013). Phenological changes to the chemical composition and biological activity of the essential oil from Moroccan endemic thyme (*Thymus maroccanus* Ball). *Industrial Crops and Products*, 49, 366-372. Doi: [10.1016/j.indcrop.2013.05.016](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.016)

Jäger, S., Beffert, M., Hoppe, K., Nadberezny, D., Frank, B. & Scheffler, A. (2011). Preparation of herbal tea as infusion or by maceration at room temperature using mistletoe tea as an example. *Scientia pharmaceutica*, 79(1), 145-156. Doi: [10.3797/scipharm.1006-06](https://doi.org/10.3797/scipharm.1006-06)

Jessica Elizabeth, D.L.T., Gassara, F., Kouassi, A.P., Brar, S.K. & Belkacemi, K. (2017). Spice use in food: Properties and benefits. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(6), 1078-1088. Doi: [10.1080/10408398.2013.858235](https://doi.org/10.1080/10408398.2013.858235)

Jumbo, L.O.V., Faroni, L.R., Oliveira, E.E., Pimentel, M.A. & Silva, G.N. (2014). Potential use of clove and cinnamon essential oils to control the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* Say, in small storage units. *Industrial Crops and Products*, 56, 27-34. Doi: [10.1016/j.indcrop.2014.02.038](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.038)

Juneja, V.K., Dwivedi, H.P. & Yan, X. (2012). Novel natural food antimicrobials. *Annual review of food science and technology*, 3, 381-403. Doi: [10.1145/annurev-food-022811-101241](https://doi.org/10.1145/annurev-food-022811-101241)

Karakuş, M.M., Tapıslız, A., Karakaş, N.M., Deniz, M. & Çalışkan, U.K. (2023). Use of Herbal Tea/Herbal Preparations for Children with Symptoms of Viral Upper Respiratory Infections. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 8. Doi: [10.4274/tjps.galenos.2022.65475](https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2022.65475)

Khan, M.S.A. & Ahmad, I. (2019). Herbal medicine: current trends and future prospects. In *New look to phytomedicine*. 3-13. Academic Press. Doi: 10.1016/B978-0-12-814619-4.00001-X

Kaur, D., Wani, A.A., Singh, D.P. & Sogi, D.S. (2011). Shelf life enhancement of butter, ice-cream, and mayonnaise by addition of lycopene. *International journal of food properties*, 14(6), 1217-1231. Doi: 10.1080/10942911003637335

Long, T., Hu, R., Cheng, Z., Xu, C., Hu, Q., Liu, Q., Gu, R., Huang, Y. & Long, C. (2023). Ethnobotanical study on herbal tea drinks in Guangxi, China. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 19(1), 10. Doi: 10.1186/s13002-023-00579-3

Lobete, M.M., Baka, M., Noriega, E., Jookan, E., Monballiu, A., de Beurme, S., Meesschaert, B. & Van Impe, J.F. (2017). Stevia-based sweeteners as a promising alternative to table sugar: The effect on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* growth dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 245, 38-52. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.008

López-Pedrouso, M., Lorenzo, J.M. & Franco, D. (2022). Advances in natural antioxidants for food improvement. *Antioxidants*, 11(9), 1825. Doi: [10.3390/antiox11091825](https://doi.org/10.3390/antiox11091825)

Lourenço, S.C., Moldão-Martins, M. & Alves, V.D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22), 4132. Doi: [10.3390/molecules24224132](https://doi.org/10.3390/molecules24224132)

Makwana, S., Choudhary, R., Haddock, J. & Kohli, P. (2015). In-vitro antibacterial activity of plant based phenolic compounds for food safety and preservation. *LWT-Food Science and Technology*, 62(2), 935-939. Doi: 10.1016/j.lwt.2015.02.013

Maleš, I., Pedisić, S., Zorić, Z., Elez-Garofulić, I., Repajić, M., You, L., Vladimir-Knežević, S., Butorac, D. & Dragović-Uzelac, V. (2022). The medicinal and aromatic plants as ingredients

in functional beverage production. *Journal of Functional Foods*, 96, 105210. Doi: 10.1016/j.jff.2022.105210

Martínez-Graciá, C., González-Bermúdez, C.A., Cabellero-Valcárcel, A.M., Santaella-Pascual, M. & Frontela-Saseta, C. (2015). Use of herbs and spices for food preservation: Advantages and limitations. *Current opinion in food science*, 6, 38-43. Doi: 10.1016/j.cofs.2015.11.011

Máthé, Á. (2015). Introduction: Utilization/significance of medicinal and aromatic plants. *Medicinal and Aromatic Plants of the World: Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects*, 1-12

Máthé, I. (2015). Chemical diversity of medicinal plants. *Medicinal and Aromatic Plants of the World: Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects*, 35-60.

Mohammad Azmin, S.N.H., Sulaiman, N.S., Mat Nor, M.S., Abdullah, P.S., Abdul Kari, Z. & Pati, S. (2022). A Review on Recent Advances on Natural Plant Pigments in Foods: Functions, Extraction, Importance and Challenges. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(10), pp.4655-4672. Doi: [10.1007/s12010-022-04050-z](https://doi.org/10.1007/s12010-022-04050-z)

Mojani, M. S., Ghasemzadeh, A., Rahmat, A., Loh, S. P. & Ramasamy, R. (2014). Assessment of bioactive compounds, nutritional composition and antioxidant activity of Malaysian young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *International Food Research Journal*, 21(5), 1931.

Mortensen, A. (2006). Carotenoids and other pigments as natural colorants. *Pure and Applied chemistry*, 78(8), 1477-1491. Doi: [10.1351/pac200678081477](https://doi.org/10.1351/pac200678081477)

Muhammad, S. & Amusa, N.A. (2005). The important food crops and medicinal plants of north-western Nigeria. *Res J Agric Biol Sci*, 1(3), 254-260.

Nabi, B.G., Mukhtar, K., Ahmed, W., Manzoor, M.F., Ranjha, M.M.A.N., Kieliszek, M., Bhat, Z.F. & Aadil, R.M. (2023). Natural pigments: Anthocyanins, carotenoids, chlorophylls, and betalains as food colorants in food products. *Food Bioscience*, 102403. Doi: 10.1016/j.fbio.2023.102403

Nieto, G., Ros, G. & Castillo, J. (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A review. *Medicines*, 5(3), 98. Doi: [10.3390/medicines5030098](https://doi.org/10.3390/medicines5030098)

Nieto, G. (2020a). How are medicinal plants useful when added to foods?. *Medicines*, 7(9), 58. Doi: [10.3390/medicines7090058](https://doi.org/10.3390/medicines7090058)

Nieto, G. (2020b). A review on applications and uses of thymus in the food industry. *Plants*, 9(8), 961. Doi: [10.3390/plants9080961](https://doi.org/10.3390/plants9080961)

Ninfali, P. & Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of Beta vulgaris cicla and rubra. *Fitoterapia*, 89, 188-199. Doi: 10.1016/j.fitote.2013.06.004

Pattnaik, M., Pandey, P., Martin, G. J., Mishra, H. N. & Ashokkumar, M. (2021). Innovative technologies for extraction and microencapsulation of bioactives from plant-based food waste and their applications in functional food development. *Foods*, 10(2), 279. Doi: [10.3390/foods10020279](https://doi.org/10.3390/foods10020279)

Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial crops and products*, 76, 174-187. Doi: 10.1016/j.indcrop.2015.06.050

Peschel, W., Sánchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzia, I., Jiménez, D., Lamuela-Raventos, R., Buxaderas, S. & Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97(1), 137-150. Doi: 10.1016/j.foodchem.2005.03.033

Peter, K. V. & Shylaja, M. R. (2012). Introduction to herbs and spices: Definitions, trade and applications. Peter, K. V.(Eds.)

Handbook of Herbs and Spices (2nd ed., vol. 1, pp. 1–24). Cambridge, UK: Woodhead Publishing. Doi: 10.1533/9780857095671.1

Pinela, J., Carocho, M., Dias, M.I., Caleja, C., Barros, L. & Ferreira, I.C. (2016). Wild Plant-Based Functional Foods, Drugs, and Nutraceuticals. *Wild Plants, Mushrooms and Nuts: Functional Food Properties and Applications*, pp.315-351. Doi: [10.1002/9781118944653.ch9](https://doi.org/10.1002/9781118944653.ch9)

Rajendran, A., Sudeshraj, R. & Sureshkumar, S. (2019). Phytonutrients: Moringa oleifera leaf extracts an incredible health super food supplement. *Pharm. Innov. J*, 8, 29-33.

Ranaweera, S.J., Ampemohotti, A.A.L.T. & Arachchige, U.S. (2020). Advantages and considerations for the applications of natural food pigments in the food industry. *J. Res. Technol. Eng*, 1, 8-18.

Ravikumar, C., 2014. Review on herbal teas. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(5), 236.

Ribeiro-Santos, R., Carvalho-Costa, D., Cavaleiro, C., Costa, H.S., Albuquerque, T.G., Castilho, M.C., Ramos, F., Melo, N.R. & Sanches-Silva, A. (2015). A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 355-368. Doi: 10.1016/j.tifs.2015.07.015

Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Sanches-Silva, A. & de Melo, N.R. (2018). Essential oils for food application: Natural substances with established biological activities. *Food and bioprocess technology*, 11, 43-71. Doi: 10.1007/s11947-017-1948-6

Rizk, E.M., El-Kady, A.T. & El-Bialy, A.R. (2014). Characterization of carotenoids (lyco-red) extracted from tomato peels and its uses as natural colorants and antioxidants of ice cream. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 53-61. Doi: 10.1016/j.aos.2014.06.008

Rodriguez-Amaya, D.B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, 7, 20-26. Doi: 10.1016/j.cofs.2015.08.004

Rodriguez-Amaya, D.B. (2019). Update on natural food pigments-A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, 124, 200-205. Doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.028

Rusaczonok, A., Swiderski, F. & Waszkiewicz-Robak, B. (2010). Antioxidant properties of tea and herbal infusions-a short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60(1), 33-35.

Sajilata, M. G. & Singhal, R. S. (2012). Quality indices for spice essential oils. Peter, K.V. (Eds.) *Handbook of Herbs and Spices* (2nd ed., vol. 1, pp.42–54) , Cambridge, UK: Woodhead Publishing. Doi: 10.1533/9780857095671.42

Saraiva, A., Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F. & Raposo, A. (2020). Natural sweeteners: The relevance of food naturalness for consumers, food security aspects, sustainability and health impacts. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 6285. Doi: [10.3390/ijerph17176285](https://doi.org/10.3390/ijerph17176285)

Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K. & Houser, T.A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat science*, 69(2), 289-296. Doi: 10.1016/j.meatsci.2004.07.010

Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R. & Lewinsohn, E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The plant journal*, 54(4), 712-732. Doi: [10.1111/j.1365-313X.2008.03446.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03446.x)

Sgorbini, B., Cagliero, C., Acquadro, S., Marengo, A., Cordero, C., Liberto, E., Bicchi, C. & Rubiolo, P. (2019). Evaluation of volatile bioactive secondary metabolites transfer from medicinal and aromatic plants to herbal teas: Comparison of different methods for the determination of transfer rate and human intake. *Journal of*

Chromatography A, 1594, 173-180. Doi: 10.1016/j.chroma.2019.02.012

Shah, M.A., Bosco, S.J.D. & Mir, S.A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat science*, 98(1), 21-33. Doi: 10.1016/j.meatsci.2014.03.020

Sherman, P. W. & Hash, G. A. (2001). Why vegetable recipes are not very spicy. *Evolution and Human Behavior*, 22(3), 147-163. Doi: 10.1016/S1090-5138(00)00068-4

Sigurdson, G.T., Tang, P. & Giusti, M.M. (2017). Natural colorants: Food colorants from natural sources. *Annual review of food science and technology*, 8, 261-280. Doi: 10.1146/annurev-food-030216-025923

Sikora, E., Cieşlik, E. & Topolska, K. (2008). The sources of natural antioxidants. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(1), 5-17.

Silva, R. F., & Pogaćnik, L. (2020). Polyphenols from food and natural products: Neuroprotection and safety. *Antioxidants*, 9(1), 61. Doi: [10.3390/antiox9010061](https://doi.org/10.3390/antiox9010061)

Sjöström, L.B. & Cairncross, S.E. (1955). Role of sweeteners in food flavor. *Advances in Chemistry*, 12(15), 108-113. Doi: 10.1021/ba-1955-0012.ch015

Skendi, A., Irakli, M., Chatzopoulou, P., Bouloumpasi, E. & Biliaderis, C.G. (2022). Phenolic extracts from solid wastes of the aromatic plant essential oil industry: Potential uses in food applications. *Food Chemistry Advances*, 100065. Doi: 10.1016/j.focha.2022.100065

Skendi, A. (2021). Alternatives to increase the antioxidant capacity of bread with phenolics. Galanakis, C.M. (Eds.), *Trends in Wheat and Bread Making* (pp.311-341). Academic Press. Doi: 10.1016/B978-0-12-821048-2.00011-8

Soner, O., Gülbin Özçelikay, G. & Asil, E. (2002). Baharat ve geleneksel ilaçlardaki yeri. *T Klin Tıp Etiği-Hukuku-Tarihi* ,10, 39-43.

Stefanaki, A. & van Andel, T. (2021). Mediterranean aromatic herbs and their culinary use. Galanakis, C.M. (Eds.), *Aromatic Herbs in Food* (pp. 93-121). Academic Press. Doi: 10.1016/B978-0-12-822716-9.00003-2

Story, E.N., Kopec, R.E., Schwartz, S.J. & Harris, G.K. (2010). An update on the health effects of tomato lycopene. *Annual review of food science and technology*, 1, 189-210. Doi:10.1146/annurev.food.102308.124120

Sun, W., Shahrajabian, M. H., & Cheng, Q. (2019). Anise (*Pimpinella anisum* L.), a dominant spice and traditional medicinal herb for both food and medicinal purposes. *Cogent Biology*, 5(1), 1673688. Doi: 10.1016/j.foodcont.2010.02.003

Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. & Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9), 1199-1218. Doi: 10.1016/j.foodcont.2010.02.003

Tian, B., & Liu, J. (2020). Resveratrol: A review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(4), 1392-1404. Doi: [10.1002/jsfa.10152](https://doi.org/10.1002/jsfa.10152)

Toker, R., Gölükcü, M. & Tokgöz, H. (2015). Tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda sanayisinde kullanım alanları. *Türkiye tohumcular birliği dergisi*, 4(15), 54-59.

Trivellini, A., Lucchesini, M., Maggini, R., Mosadegh, H., Villamarin, T.S.S., Vernieri, P., Mensuali-Sodi, A. & Pardossi, A. (2016). Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: Bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”. *Industrial Crops and Products*, 83, 241-254. Doi: 10.1016/j.indcrop.2015.12.039

Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği (Tebliğ No: 2022/7). (2022). (12/06/2023 tarihinde

<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2022/04/20220419-4.htm>
adresinden ulaşılmıştır).

Vasileva, I., Denkova, R., Chochkov, R., Teneva, D., Denkova, Z., Dessev, T., Denev, P. & Slavov, A. (2018). Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa Officinalis*) waste on quality and shelf life of bread. *Food Chemistry*, 253, 13-21. Doi: 10.1016/j.foodchem.2018.01.131

Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Martínez-Huélamo, M., Alvarenga, J.F.R., Leal, L.N. & Lamuela-Raventos, R.M. (2014). A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: Rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay. *Food chemistry*, 154, 299-307. Doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.106

Vinha, A.F., Rodrigues, F., Nunes, M.A. & Oliveira, M.B.P. (2018). Galanakis, C.M. (Eds.) Natural pigments and colorants in foods and beverages. *Polyphenols: Properties, recovery, and applications* (pp. 363-391). Cambridge, UK: Woodhead Publishing.

Wojdyło, A., Oszmiański, J. & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949. Doi: 10.1016/j.foodchem.2007.04.038

Wrolstad, R.E. & Culver, C.A. (2012). Alternatives to those artificial FD&C food colorants. *Annual review of food science and technology*, 3, 59-77. Doi: 10.1146/annurev-food-022811-101118

Xiu-Qin, L., Chao, J., Yan-Yan, S., Min-Li, Y. & Xiao-Gang, C. (2009). Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chemistry*, 113(2), 692-700. Doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.072

Yin, J.I.E., Becker, E.M., Andersen, M.L. & Skibsted, L.H. (2012). Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with α -tocopherol in vegetable oils and their colloidal

systems. *Food chemistry*, 135(4), 2195-2202. Doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.025

Yu, L., Scanlin, L., Wilson, J. & Schmidt, G. (2002). Rosemary extracts as inhibitors of lipid oxidation and color change in cooked turkey products during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 67(2), 582-585. Doi: [10.1111/j.1365-2621.2002.tb10642.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10642.x)

Yue, W., Ming, Q.L., Lin, B., Rahman, K., Zheng, C.J., Han, T. & Qin, L.P. (2016). Medicinal plant cell suspension cultures: pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. *Critical reviews in biotechnology*, 36(2), 215-232. Doi: [10.3109/07388551.2014.923986](https://doi.org/10.3109/07388551.2014.923986)

Zhao, J., Deng J.W., Chen Y.W. & LI S.P. (2013). Advanced Phytochemicals Analysis of Herbal Tea in China. *Journal of Chromatography A*, 1323, 2-23. Doi: 10.1016/j.chroma.2013.07.039

Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, K. P., & Biliaderis, C. G. (2009). Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 82(3), 338–345. Doi: 10.1016/j.meatsci.2009.02.004

Zuzarte, M., Girão, H., & Salgueiro, L. (2023). Aromatic Plant-Based Functional Foods: A Natural Approach to Manage Cardiovascular Diseases. *Molecules*, 28(13), 5130. Doi: [10.3390/molecules28135130](https://doi.org/10.3390/molecules28135130)

BÖLÜM III

***Cistus Laurifolius* L. (Defne Yapraklı Laden) Bitkisinin (Hct-116; Kolekteral Kanser Epitel), Bazı Biyolojik Ve Fitokimyasal Özelliklerin Araştırılması**

Hasan Basri Karayel¹

GİRİŞ

Bulaşıcı hastalıkların tedavisi gün geçtikçe zorlaşıyor. Bu sebepten dolayı, terapötik işlevlere sahip aktif fitokimyasallar hakkında daha çok çalışmalar yapılmalıdır. *Cistus* L. cinsine yönelik araştırmaya olan ilgi, geleneksel tıpta kullanılan bir çok sayıda bitki gibi ilgi odağı konumuna gelmiştir (Zalegh ve ark., 2021). Özellikle son yıllarda doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlar, oksidatif stres hasarlarına karşı mücadelede giderek daha ikna edici hale gelmiştir (Vertuani ve ark., 2002). Bu çalışmada ele alınan tür, *Cistus laurifolius* türünün Türkiye’de ‘defneyapraklı laden’ adı ile

¹ Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Gediz Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Kütahya, Türkiye, kbasri23@hotmail.com

bilinen, *Cistaceae* familyasına ait bir bitkidir. Yapraklarının ve çiçeklerinin dekoksasyonunun antihiperglisemik (şeker düşürücü) olarak kullanıldığı bilinmektedir (Gulcin, 2020). Türkiye, birçok endemiği de içeren çeşitli sayıda bitki nedeniyle Avrupa'nın en büyük floralarından birine sahiptir. *Cistus* sp. yapraklarından hazırlanan ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek, Antioksidan kapasitesi ve meyveler, sebzeler, şarap, çaylar gibi çeşitli bitki materyallerinin kalitesini karakterize etmek ve belirlemek için en önemli ve yaygın olarak kullanılan parametreler olduğunu belirtmiştir (Cetin ve ark., 2006). *Cistus laurifolius* L.'nin çiçekleri ve çiçek tomurcukları peptik ülser tedavisinde kullanılır. Çeşitli *Cistus* türlerinin yaprak ve dallarından elde edilen özler, dünya çapında romatizma ve böbrek iltihabı gibi çeşitli iltihaplı rahatsızlıkların tedavisinde halk ilacı olarak kullanılmaktadır. *Cistus laurifolius*'un Türk geleneksel tıbbında kullanımını açıkça desteklemektedir (Yeşilada ve ark., 1997). *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinde toplam fenolik madde miktarını belirlemek için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Bitkilerin toprak üstü kısımlarının sıvı ekstraktlarının fenolik içeriği %3,9 ile %22,4 arasındadır. Toplam flavonoid içeriği, alüminyum klorür kolorimetrik yöntemle belirlendi. Bitkilerin toprak üstü kısımlarının sıvı ekstraktlarının flavonoid içeriği %0,3 ile %14,6 olarak belirlenmiştir (Erduğan, 2021). Doğal olarak oluşan bileşikler, sentetik antibiyotiklerin kullanımına terapötik bir alternatif olarak kabul edilmiştir (Rios ve ark., 2005). En bol bulunan bileşikler α -pinen, o-guaiakol, kafur ve kamfendi içinde buna ek olarak limonen, bornil asetat, p-simen, β -pinen diğer uçucular olarak tanımlanmıştır. *Cistus* sp.'nin uçucu yağ fraksiyonunu oluşturmuştur (Morales-Soto ve ark., 2015). *Cistus* türlerinin romatizma, ülser, ishal, karın ağrısı, hemoroid, hiperglisemi ve diyabet gibi bazı hastalıkların alternatif tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Gürbüz ve ark., 2018). kanser tedavisinde çeşitli bitkilerin iyileştirici özellikleri alternatif tıp literatüründe bildirilmiştir (Yamaguchi ve ark., 2006; Nelson ve ark., 2020). Bitki özleri ve fraksiyonları, çeşitli önceki çalışmalarda oksidatif hasara karşı DNA koruması için

kullanılmıştır (Kumar, 2013; Akhter, 2013). *Cistus laurifolius* L.'nin tohum, yaprak ve dallarından elde edilen dokuz farklı ekstrenin sitotoksik ve antioksidan özelliklerini in vitro olarak araştırdık. Ayrıca, çeşitli hücre dizilerindeki etki biçimlerini daha iyi anlamak için bu ekstraktların DNA bölünme özellikleri de araştırılmıştır.

Malzemeler ve Yöntemler

***Cistus laurifolius* L. Ekstraktlarının Hazırlanması**

Tohum ve yapraklardan toplam dokuz farklı ekstrakt hazırlanmıştır. *Cistus laurifolius* L. bitkisinin dalları hekzan (Sigma Aldrich) kullanılarak, metilen klorür (Sigma Aldrich) ve etanol (Merck) çözücüleridir. Bunlar ekstraktları t-hekzan (T1), y-Hekzan (T2), d-hekzan (T3), t-metilen klorür (T4), y-metilen klorür (T5), d-metilen klorür (T6), t-etanol (T7), y-etanol (T8) ve d-etanol (T9). *Cistus laurifolius* L. bitki örnekleri toplandı Kütahya, Türkiye'deki Murat Dağı'ndan. 100 g kurutulmuş bitki 500 mL haxane, metilen klorür veya etanol çözültürleri ile karıştırılır ayrı ayrı öğütüldükten sonra manyetik karıştırıcı ile 48 saat boyunca karıştırılmıştır. Ardından, çözücülerdeki bitki partikülleri filtre kâğıdı ile süzölmüştür ve çözücüler evaporatörde uzaklaştırıldı (Heidolph Laborota 4001) (özbek ve Ark.,2020; Özbek ve Ark.,2022). Daha sonra, dokuz farklı biyolojik özellik viskoz formdaki ekstraktlar aşağıda detaylandırıldığı şekilde test edilmiştir.

Tablo.1. Cistus laurifolius L. ekstraktlarının sitotoksik etkileri ve IC₅₀ değerleri

Ka	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	5- nser hüc resi
HC	T*He	Y*He	D*He	T*Me	Y*Me	D*Me	T*Et	Y*Et	D*Et	
T- 116	kzan	kzan	kzan	tilen Klorü r	tilen Klorü r	tilen Klorü r	anol	anol	anol	
	18.7	84.8 ±	57.3 ±	29.6±	104.1	33.5	39.7	54.1	32.8	70
	±2.3	4.3	12.3	14.3	±32.2	±1.3	±12.3	±14.3	±	.3
									11.2	±
										18
										.4

Hücre Kültürü

HCT-116 (Kolekteral Kanser Epitel), hücre hatları elde edildi orijinal olarak ATCC'den alınmıştır. Tüm hücre hatları RPMI 1640 (Sigma Aldrich) veya DMEM/F-12 kültür ortamı (Sigma Aldrich), takviye edilmiş 10 fetal sıgır serumu (FBS) (Sigma Aldrich) ve penisilin ile (100 U/mL)/streptomisin (100 mg/mL). Hücreler 37 °C'de inkübe edildi 5 CO₂, %95 hava ile nemlendirilmiş bir atmosferde tutulmuştur. Hücreler tedavi edildi tüm ekstrakt çözeltilerinin artan konsantrasyonları ile (0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 µg/ml) ve 37 C° sıcaklıktaki bir inkübatörde kültürlendi 48 saat boyunca.

MTT Yöntemi

Ekstraktların sitotoksik etkilerini tespit etmek için MTT yöntemi kullanılmıştır hücreler üzerinde. Bu yöntemde, sarı renkli 3-(4,5-dimetil-2-tiyazolil)-2,5- difenil-2H-terazolyum bromür (MTT), canlı hücrelerin mitokondrilerindeki dehidrojenaz enzimleri tarafından tetrazolyum halkasının kırılması sonucu mor formazan

kristallerine dönüşür. Oluşan renk Oluşan formazan kristallerinin DMSO'da çözünmesini takiben ortamda spektrofotometrik yöntemle ölçülür ve ölçülen absorbans değeri canlı hücre sayısı ile pozitif orantılıdır mevcut. Absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Bu değerler yüzde inhibisyon değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ hücre inhibisyonu} = 100 - [(A_e - A_b)/(A_c - A_b)] \times 100$$

Burada, A = absorbans, e = ekstrakt, b = boş ve c = kontrol.

Son olarak, ekstraktların etkileri IC₅₀ değerleri ile ifade edilmiştir (IC₅₀ seviyesine kadar hücrelerin büyümesini engelleyen ekstrakt konsantrasyonu kontrolün %50'si). MTT deneyi üç kopya halinde gerçekleştirilen üç bağımsız deneyde gerçekleştirilmiştir.

Antioksidan Aktivite Deneyi

DPPH Radikal Süpürme Yeteneği

Hazırlanan ekstraktların DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme aktivitesi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir DPPH'nin bir etanol çözeltisinin indirgenmesine dayanan yöntem. 2, 5, 10, Her bir ekstraktın 20 µL 1 mM stok çözeltisi 40 µL'ye tamamlandı DMSO (Sigma Aldrich) ile karıştırılmış ve 160 µL 0.1 mM DPPH serbest radikal çözeltisi. Karışım 30 dakika bekletildi. Karanlıkta tutuldu ve absorbans 515 nm'de (Lokal ve ark.,2020; Akocak ve ark., 2019). Serbest radikal DPPH inhibisyonu yüzde (%I) olarak şöyledir, aşağıda verilen formül ile hesaplanır:

$$I \% = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{control}} \times 100$$

Toplam Fenolik İçerik

Bitki ekstraktlarında toplam fenolik bileşikler belirlendi. Folin-Ciocalteu reaktifi. 4,5 mL damıtılmış su, 0,1 mL bitki ekstraktı ve 0,1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi karıştırıldı ve 5 dakika süreyle inkübe edildi oda sıcaklığında. Daha sonra 0,3 mL %2'lik sodyum karbonat (Sigma Aldrich) çözeltisi eklendi. Çözümler karıştırıldı ve

izin verildi 2 saat oda sıcaklığında bekletilir. Ekstraktların absorbansları spektrofotometre ile ölçüldü. (Thermo Helios Aquamate, Spektrofotometre) 760 nm'de. Butillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Merck) standart olarak kullanıldı.

Plazmid DNA Bölünme Çalışmaları

DNA korumasını belirlemek için DNA çentikleme deneyi yapıldı Her bir bitkinin metanol ekstraktlarının pET21a'yı koruma yeteneği üretilen hidroksil radikallerinin zararlı etkilerinden plazmid DNA'sı Fenton reaktifi ile (Wang ve ark., 2020). Plazmid DNA GeneJET kullanılarak izole edildi Üreticinin talimatlarına göre Plazmid Miniprep Kiti (Thermo Scientific). Reaksiyon karışımı 5 µL plazmid DNA içeriyordu (30 ng/µL), 10 µL Fenton reaktifi (30 mM hidrojen peroksit, 100 µM ferrik klorür ve 100 µM askorbik asit), bitki özütü (30 µg/mL) ve reaksiyonun son hacmi 20 µL'ye ayarlanmıştır. ddH₂O. Reaksiyon 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi 6X yükleme boyası (Thermo Scientific) reaksiyona eklenmiş ve %0,8 agaroz jele yüklenmiştir. Elektroforez 1 saat boyunca 90 V'ta gerçekleştirildi ve ardından etidyum bromür (EtBr) boyaması Jel Quantum ile görselleştirildi ST5 Jel Dokümantasyon sistemi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Cistus laurifolius L. bitki ekstraktlarının HCT-116 (Kolektoral Kanser Epitel), hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisi Tablo 1 ve Şekil 1'de verilmiştir. 5-Fluorourasil (5-FU)) çalışmada standart olarak kullanılmıştır. T1 maddesinin HCT-116 (Kolektoral Kanser Epitel) hücre üzerindeki etkisine bakıldığında güçlü bir sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi (18,7 µg/ml). T1 ekstraktını kontrol olarak kullandığımız 5-Fluorouracil maddesinden bile daha güçlü sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi. Ayrıca T3, T6 ve T8 ekstraktları kanserli olmayan CRL-4010 hücre dizisinde kanser hücre dizilerine kıyasla en yüksek IC₅₀ değerine sahiptir; bu nedenle, belirli konsantrasyonlarda, T3, T6 ve T8 ekstraktları, normal/sağlıklı hücrelerde değil, spesifik olarak kanser hücrelerinde hücre ölümüne yol açabilir. Hazırlanan tüm ekstraktlar arasında T4

ekstraktı, diğer ekstraktlara kıyasla daha fazla kanser hücre hattı üzerinde sitotoksik etkiler gösterdiğinden, anti-kanser ajanı olarak potansiyel bir aday olabilir.

Bilinen labdan tipi diterpenler yapraklardan izole edilmiştir ve bunlar insan lösemik hücre dizileri aktivitesine sahipmiştir (Skoric ve ark., 2012). Hava parçaları su ile ekstrakte edilmiştir ve ekstrakt antiproliferatif aktiviteye (MTT) sahipmiş (Demetzos ve ark.,2001). Yapraklar art arda etanol, diklorometan ve n-heksan ile özümlendi. Ekstraktlar, antioksidan (DPPH) ve metal şelatlama (Fe^{+2}) aktiviteleri açısından test edilmiştir (Carev ve ark.,2020). Geleneksel tıbbın tedavide kullanılması büyük ilgi görmediğinde, umut verici terapötik etkileri nedeniyle doktorlar ve sağlık kuruluşları hastalıkların tedavisinde uygulanmasını şiddetle talep etmektedirler. Dünya nüfusunun yaklaşık %80'i ve gelişmekte olan ülkelerde bulunanların %90'ından fazlası birinci basamak sağlık hizmetleri için bitkisel ilaçlara bağımlıdır (Cunningham,1993; Olsen, 2005; Sheng-Ji,2001). Bitkiler, dünya çapında reçete edilen ilaçların yaklaşık önemli bir kısmını sağlar ve bitkilerden temin edilen birçok aktif bileşik şu anda kullanımdadır. Ancak bu ilaçların büyük çoğunluğu henüz ekonomik olarak sentezlenememekte ve halen yabani/kültürel bitkilerden elde edilmekte olup, bu durum büyük ölçekli üretimlerinin önünde büyük bir engel oluşturmaktadır. Olası yeni doğal ilaç için, ekstraktlardan/aktif bileşenlerden bitki materyallerinin uygun standardizasyonu, bazı avantajlarla daha az yan etki, farmakolojik bileşenler/fitokimyasallar açısından tekrar üretilebilirlik, daha iyi hasta toleransı, stabiliteye sahip bitki ürünlerinin nispeten daha ucuz olma potansiyeli, tekrarlanabilirlik, biyoyararlanım ve toksisite profili. Gelecekteki çalışmalarımız, daha temel bir kavram için SOD, katalaz ve LPO gibi diğer antioksidan parametreler de dahil olmak üzere, antioksidan özelliklerle korelasyon için malzeme bileşenlerinin (fenolik içerik, alkaloid, flavinoid) kontrol edilmesini içerecektir. Aktif ekstraktların antikanser/koruyucu potansiyeli ve aktif bileşenin aktif fraksiyonlardan izolasyonu/tanımlanması yeni ilaç geliştirmede yardımcı olabilir. Test edilen bitki özleri göz önüne alındığında,

aralarında antioksidan aktivite ile ilgili ana bileşenlerin flavonoidler ve tanenler olduğuna inanıyoruz (Alkofahi ve ark., 2016). Taylanta geleneksel tıp reçetelerinde içerik olarak kullanılan 2.000 bitki türü ile birçok şifalı bitki ve diyet takviyesi vardır. Bunlar arasında özellikle Kuzey Tayland'da 300'den fazla bitki sıklıkla kullanılmaktadır. Kuzey Tayland, bahçecilik ve geleneksel bitkisel tıbbın ilgisini çekecek birçok çekici özelliğe ulaşmıştır (Chalermpong ve ark., 2010).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin tedavi edici özelliklerinden dolayı üzerinde birçok çalışma yapılmış halde yapılmaktadır. Tıbbi bitkilerde çok önemli antioksidanlar flavonoid, karatenoid ve fenolik bileşikler bulunmaktadır. Antioksidan tayini için toplam antioksidan aktivite tayini, toplam indirgeme kapasitesi, DPPH., β -karoten ve CUPRAC yöntemi, toplam flavonoid madde tayini ve buna benzer yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır.

Antioksidan Aktivite

Bir maddenin antioksidan etkisi, ortamda bulunan serbest radikalleri temizleme yeteneğine bağlıdır. *Cistus laurifolius* L.'nin antioksidan etkinlik taraması, ekstreler DPPH radikal süpürme tahlili ve Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. Ortamdaki serbest radikallerin neden olduğu sarı-yeşil karışımın renginin açılmasına dayanan bileşenlerin absorbans değişimleri 515 nm'de ölçülmüştür. DPPH yöntemine göre yapılan radikal süpürme deneylerinde ölçülen absorbans değerlerine bağlı olarak DPPH kalibrasyon grafiği kullanılarak IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. DPPH yöntemine göre hesaplanan IC_{50} değerleri Tablo 2'de verilmiştir. IC_{50} değeri ne kadar küçükse antioksidan aktivite o kadar yüksektir. Diğer bir deyişle, en düşük konsantrasyonda aynı miktarda serbest radikali süpürebilen maddeler daha güçlü antioksidan aktivite gösterirler. Tablo 2'de görüldüğü gibi, en düşük antioksidan temizleme aktivitesine sahip ekstraktın T7 ($IC_{50} = 0.000015 \mu\text{g/ml}$) ve en yüksek antioksidan temizleme aktivitesine sahip ekstraktın T3 ($IC_{50} = 0.1407 \mu\text{g/ml}$) olduğu açıktır.

Tablo 2. *Cistus laurifolius* L. ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri

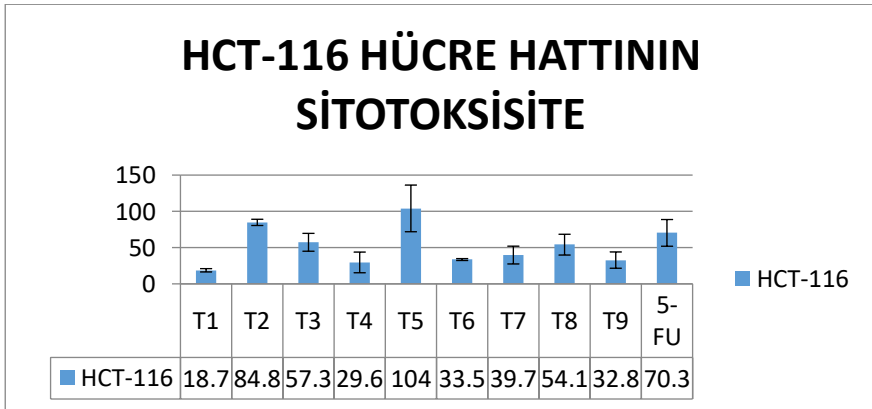
Bitkiler	IC ₅₀
T1	0,0695
T2	0,00155
T3	0,1407
T4	0,000105
T5	0,001132
T6	0,00433
T7	0,000015
T8	0,00063
T9	0,003821

Ayrıca, DPPH radikal süpürücü aktivite testlerinde *Cistus laurifolius* L. ekstraktlarının değişen konsantrasyonlarda (6, 3, 1.5, 0.75 ve 0.375×10^{-4} µg/mL) % inhibisyonları Şekil 2'de verilmiştir. Şekil 2 değerlendirildiğinde, konsantrasyon azaldıkça bazı ekstraktların (T2, T4, T7, T8 ve T9) % inhibisyon değerlerinde önemli bir değişiklik olmazken, bazı ekstraktlarda (T1, T3, T5 ve T6) düşüş gözlenmektedir. Folin ve Ciocalteu (F–C) (Folin ve ark., 1927) tarafından önerilen yöntem izlenerek *Cistus laurifolius* L. ekstraktları için toplam polifenol içeriği elde edilmiştir. Bu çalışmada, T7 özütü, F–C reaktifini azaltmak için standart olarak kullanılan gallik asitten (GA) daha güçlü bir F–C kompleksi indirgemesi sergiledi. Sonuçlar, g numune başına mg GA eşdeğeri olarak verildi. Ayrıca T7 özütü, sentetik bir antioksidan olan BHT'den daha iyi antioksidan aktivite sergilemiştir. Sonuç olarak her iki test de T7 ekstraktının çok güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğunu gösterdi.

Plazmit DNA Bölünme Çalışmaları

Fenton'un reaksiyonu hidroksil radikalleri üretir. Hidroksil radikallerinin DNA hasarına neden olduğu ve hücre hasarına neden olduğu ve kanser gibi çeşitli insan hastalıklarına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Wang ve ark., 2020). DNA çentikleme deneyleri, DNA'ya zarar veren radikallerin üretimini belirlemek için in vitro model olarak kullanılır. Deneysel verilerimize dayanarak, tüm ekstraktlar, Fenton'un reaksiyonu tarafından oluşturulan DNA hasarına karşı değişen derecelerde oksidatif hasar koruyucu aktivite gösterdi. Tüm metanol özleri, oksidatif stresi etkili bir şekilde azalttı ve DNA'yı Fenton reaksiyonu tarafından üretilen hidroksil radikallerinin zarar görmesinden korudu. Fenton reaktifine maruz kalan DNA'ya metanolik ekstraktların eklendiği şerit 3 ve 9 arasında, doğal süper sarmallı DNA'nın hasarına karşı önemli koruma gözlemlendi. Daha önceki çeşitli çalışmalarda oksidatif hasara karşı DNA koruması için bitki özleri ve fraksiyonları kullanılmıştır (Kumar ve ark.,2013; Akhter ve ark., 2013). Bu sonuçlar, bu çalışmada kullanılan metanolik bitki özütlerinin varlığında DNA'nın hidroksil radikal hasarından korunmasını doğrulamaktadır.

HCT-116 Hücre Hatlarına Uygulanan Ekstraktların IC₅₀ Sonuçları



Şekil 1. HCT-116 Hücre Hatlarının IC₅₀ değerleri

T1, T2, T3,T4, T5, T6, T7, T8, T9 ekstraktlarının HCT-116 (Kolekteral Kanser Epitel) hücre üzerindeki etkisine sırasıyla bakıldığında (18,73-84,78-57,34-29,6-104,1-33,53-39,72-54,13-32,76-70,32 µg/ml) 85 µg/ml'nin altında sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi. **T1** maddesinin HCT-116 (Kolekteral Kanser Epitel) hücre üzerindeki etkisine bakıldığında güçlü bir sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi (18,7 µg/ml). T1 ekstraktını kontrol olarak kullandığımız 5-Fluorouracil maddesinden bile daha güçlü sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi. Kemoterapik madde olan 5-Fluorouracil maddesini kontrol olarak kullandık ve sitotoksik etki gösterdiğini tespit ettik.

SONUÇ

Bu çalışmada literatürdeki bitki bazlı çalışmaların başarısını göz önünde bulundurarak *Cistus laurifolius* L. bitkisinin çeşitli kısımlarını kullanarak ekstraktlar hazırladık. Bu ekstraktların sitotoksik, antioksidan ve DNA bölünmesi gibi biyolojik özelliklerini araştırdık. Hazırlanan ekstraktlardan bazıları in vitro olarak iyi sitotoksik etkiler göstermiştir. Ekstraktlardan biri ise standartların çok üzerinde antioksidan özellikler göstermiştir. Bu ön sonuçlar çok umut vericidir ve *Cistus laurifolius* L. bitkisinin daha ileri in vivo ve klinik araştırmaların ardından bir antikanser ve antioksidan ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızdaki en önemli bulgulardan biri olarak özellikle metanol ile hazırlanan ekstraktların DNA'nın hidroksil radikal hasarından korunmasını sağlamasıdır.

KAYNAKÇA

Akhter,F., Hashim, A., Khan, M.S., Ahmad, S., Iqbal, D., Srivastava, A.K., Siddiqu, M.H. (2013). Antioxidant, α -amylase inhibitory and oxidative DNA damage protective property of *Boerhaavia diffusa* (Linn.) root, South Afr. J. Bot. 88 (2013) 265–272, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.024>.

Akocak, S., Lolak, N., Tuneg, M., Boga, M. (2019). Antioxidant, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition profiles of histamine Schiff bases, J. Turkish Chem. Soc. 6., 157–164, <https://doi.org/10.18596/jotcsa.521291>.

Alkofahi, A. S., Alzoubi, K. H., Khabour, O. F., & Mhaidat, N. M. (2016). Screening of selected medicinal plants from Jordan for their protective properties against oxidative DNA damage. Industrial Crops and Products, 88, 106-111.

Carev, I., Maravic, A., Ilic, N., Cikes Culic, V., Politeo, O., Zoric, Z., Radan, M., UPLC-MS/MS Phytochemical Analysis of Two Croatian Cistus Species and Their Biological Activity, Life, 2020, 10, 112-124. DOI:10.3390/life10070112

Chalermpong, S., Chaiyavat, C., Sarinya, K., Sunee, C., & Maitree, S. (2010). Antioxidant activity and protective effects on DNA damage of *Caesalpinia sappan* L. extract. Journal of Medicinal Plants Research, 4(15), 1594-1608.

Cunningham AB.(1993). African medicinal plants. Paris Fr: UN Educ Sci Cult Organ; 1993.Search in Google Scholar

Demetzos, C., Dimas, K., Hatziantoniou, S., Anastasaki, T., Angelopoulou, D. (2001). Cytotoxic and Anti-Inflammatory Activity of Labdane and cis-Clerodane Type Diterpenes, Planta Med., 2001, 67, 614-618. DOI: 10.1055/s-2001-17362

Folin, O., Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins,

J. Biol. Chem. 73., 627–650,
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18))

Gürbüz, P., Koşar, M., Güvenalp, Z., Kuruüzüm, A.U., Demirezer, E.Ö. (2018) Simultaneous determination of selected flavonoids from different *Cistus* species by HPLC-PDA, *Marmara Pharm. J.* 22 (2018) 405-410. <https://doi.org/10.12991/jrp.2018.80>

Kumar, V., Lemos, M., Sharma, M., Shriram, V. (2013). Antioxidant and DNA damage protecting activities of *Eulophia nuda* Lindl, *Free Radic. Rntioxid.* 3 (2013) 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.fra.2013.07.001>

Lolak, N., Akocak, S. (2020). Biological evaluation of aromatic bis-sulfonamide Schiff bases as antioxidant, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors, *Cumhuriyet Sci. J.* 41., 413–418, <https://doi.org/10.17776/csj.595463>.

Morales-Soto, A., Oruna-Concha, M. J., Elmore, J. S., Barrajón-Catalán, E., Micol, V., Roldán, C., & Segura-Carretero, A. (2015). Volatile profile of Spanish *Cistus* plants as sources of antimicrobials for industrial applications. *Industrial Crops and Products*, 74, 425-433.

Nelson, V.K., Sahoo, N.K., Sahu, M., Sudhan, H.H., Pullaiah, C.P., Muralikrishna, K.S. (2020). In vitro anticancer activity of *Eclipta alba* whole plant extract on colon cancer cell HCT-116, *BMC Complement. Med. Ther.* 20 (2020) 355. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03118-9>

Olsen CS. (2005). Trade and conservation of Himalayan medicinal plants: *Nardostachys grandiflora* DC. and *Neopicrorhiza scrophulariiflora* (Pennell) Hong. *Biol Conserv.* 2005;125(4):505–14. [10.1016/j.biocon.2005.04.013](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.04.013) Search in Google Scholar

Özbek, O., Budak, Y., Berkel, C., Ozyigit, Ç., Yanar, Y. (2020). The use of *Marrubium vulgare* L. plant extracts in the control

of fungal plant pathogens, *Int. J. Agric. Environ. Food. Sci.* 4., 476–482, <https://doi.org/10.31015/jaefs.2020.4.11>.

Özbek, O., Saglam, B., Usta, N.C., Budak Y. (2022). GC–MS analysis and anti–microbial activity of *Prunella vulgaris* L. extracts, *J. Indian Chem. Soc.* 99., 100460, <https://doi.org/10.1016/j.jics.2022.100460>.

Skorić, M., Todorović, S., Gligorijević, N., Janković, R., Živković, S., Ristić, M., & Radulović, S. (2012). Cytotoxic activity of ethanol extracts of in vitro grown *Cistus creticus* subsp. *creticus* L. on human cancer cell lines. *Industrial Crops and Products*, 38, 153-159. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.01.017

Sheng-Ji P. (2001). Ethnobotanical approaches of traditional medicine studies: some experiences from Asia. *Pharm Biol.* 2001;39(supp 1):74–9. [10.1076/phbi.39.s1.74.0005](https://doi.org/10.1076/phbi.39.s1.74.0005) Search in Google Scholar

Vertuani, S., Braccioli, E., Buzzoni, V., & Manfredini, S. (2002). Antioxidant capacity of *Adansonia digitata* fruit pulp and leaves. *Acta phytotherapeutica*, 2(5), 2-7.

Yamaguchi, K., Liggett, J.L., Kim, N-C., Beak, S.J. (2006). Anti-proliferative effect of horehound leaf and wild cherry bark extracts on human colorectal cancer cells, *Oncol. Rep.* 15 (2006) 275-282. <https://doi.org/10.3892/or.15.1.275>

Zalegh, I., Akssira, M., Bourhia, M., Mellouki, F., Rhallabi, N., Salamatullah, A. M., ... & Mhand, R. A. (2021). A review on *cistus* sp.: Phytochemical and antimicrobial activities. *Plants*, 10(6), 1214.

Wang, W.T., Liao, S.F., Wu, Z.L., Chang, C.W., Wu, J.Y. (2020). Simultaneous study of antioxidant activity, DNA protection and anti-inflammatory effect of *Vernonia amygdalina* leaves extracts, *PLoS One* 15., e0235717, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235717>.

BÖLÜM IV

Yaprak Örnekleme Ve Analize Hazırlama

Melek GÖKMEN KARAKAYA

Giriş

Çalışmalarda hedef insanlığın daha sağlıklı, daha konforlu bir şekilde uzun süre yaşayabilmesidir. Çalışmalarımızda hedefimize en uygun maliyetle, en kısa zamanda en yüksek verimle, sağlığını ve çevreyi koruyarak ulaşmak için planlar, projeler yaparız. Sağlığımızın korunmasında beslenme önemlidir (Baysal & ark., 2011). Beslenmek için her bakımdan uygun ürünler tüketmek hayati ihtiyaçlarımızdan biridir. İhtiyacımız olan hayvan ürünleri, bitki ürünleri ve mantarlar gibi tüm besinlerin toprak, hava, su ve radyasyon bakımından uygun ortamlarda, uygun şekilde yetiştirilmesi hepimizin arzusudur. Toprak çok çeşitli amaçlar için kullanılır. Bitki yetiştirmek, organik karbon depolamak, su arıtmak toprağın en çok kullanıldığı alanlardır (EEA Report, 2023). Birçok mikrobiyolojik canlı için yaşam alanıdır. Solucan, köstebek gibi hayvanlar için evdir. Toprak çok önemli olması ile birlikte

yenilenebilir değildir (EEA Report, 2023). Toprak kirliliği sağlıklı ve verimli gıda üretimini, su arıtma sistemini olumsuz yönde etkilediği için insan sağlığını ve ekosistemin işleyişini önemli ölçüde etkilemektedir (EEA Report, 2023). Toprağın durumu ile gıda üretimi ve dolaylı olarak insan sağlığı ilişkilidir. Bitki ve mahsul üretiminde doğru zamanda, yeterli miktarda, çevreye duyarlı doğru gübre ve tarım ilacı kullanılması ülkelerin sürdürülebilir kalkınma politikaları arasında yer alır. Toprakta bulunan besin maddelerinin ne kadarının bitki tarafından alındığını ve bitkinin besin değerini belirlemek için bitki analizleri yapılır. Bitki analizi verilerinin elde edilmesi ve kullanılması tarım alanında alınan kararların temelini oluşturmuştur (Estefan, Sommer & Ryan, 2013). Bitki analizleri 19. yüzyılın başında literatüre kazandırılmıştır (De Saussure, 1804). Bilim insanları bitkilerin büyümesini, verimini, gelişimini izlemek için bitkinin tümünü veya bitkilerin kısımları olan yapraklarını, gövdelerini, yaprak saplarını, meyvelerini farklı zamanlarda örnekleyerek kuru maddelerinde bulunan element konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır (Liebig & Playfair, 1840; Weinhold, 1862; Pond, 2004). Yaprak analizleri, tüm mahsul besleme kararlarının doğru, verimli, uygun maliyetli ve sorumlu olmasını sağlamak için gereken kritik bilgileri içermektedir (Sparks & ark., 2020). Yaprak analizleri Birleşmiş Milletler Sürdürülebilir Kalkınma amaçları kapsamında 2. madde Açlığa son alanı ile uyumludur (UN Sustainable Development).

Toprak analizlerinden sonra bitki analizleri, bitkilerin büyümesi ve ürün verimini artırmak için önemlidir (Sparks & ark., 2020). Bitkinin yetiştiği yerdeki tüm çevre faktörleri bitki içindeki besin maddesinin miktarını etkilemektedir. Bitki analizleri ile bitkideki besin miktarı tespit edilebilir. Bitki dokularındaki besin miktarı kurutulmuş bitki örneklerinden analiz edilebildiği gibi, taze bitki dokularından da analiz edilebilir.

Bitkilerden örnek alma ve analize hazırlama, doğru analitik verilerin elde edilmesi ve bitki analiz sonuçlarının güvenilir şekilde yorumlanması bakımından önemlidir. Numune alma öneminden dolayı ISO/IEC 17025:2017 Deney ve kalibrasyon

laboratuvarlarının yeterliliği için genel gereklilikler Standartının “7.3 Numune Alma” başlığı altında yer almaktadır (ISO/IEC 17025:2017). Bu madde altında numune alma yönteminin, numune alındıktan sonra yapılacak deney veya kalibrasyon sonuçlarının geçerliliğini güvence altına alması amaçlanır.

Laboratuvara taşıma, dekontaminasyon, kurutma, öğütme, karıştırma ve depolama sırasında kanıtlanmış analitik prosedürler, literatürde iyi bilinen referans materyallerden türetilmiştir (Walsh & Beaton, 1973; Reuter & Robinson, 1986; Munson & Nelson, 1990; Westermann, 1991; Jones, Wolf & Mills, 1991; Sparks & ark., 1996; Reuter & Robinson, 1997; Kalra, 1997; Tabatabai, 1998; Munson, 1997 & 1998). Bu tür hazırlık prosedürleri analitik sonuçların doğruluğunu ve güvenilirliğini artırır.

Örnekleme zamanı, çeşitliliğin veya hibritin etkileri, toprak nemi, sıcaklık, ışık kalitesi ve yoğunluğu gibi çevresel faktörler, besin konsantrasyonu ile bitki tepkisi arasındaki ilişkiyi önemli ölçüde etkileyebilir. Bu nedenle uygun numune almanın gerekliliğinin farkında olmak önemlidir. Aksi takdirde bitki numuneleri üzerinde yapılması istenen analizler anlamsız olur ve bundan dolayı zaman ve ekonomik kayıplarla sonuçlanabilir (Estefan, Sommer & Ryan, 2013; Sparks & ark., 2020).

Aşağıda verilen bitki örnekleme metotları International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) (Estefan, Sommer & Ryan, 2013) ve Plant, Soil and Water Reference Methods for the Western Region Referans Metotlarından (Miller, Gavlak & Horneck, 2013) verilmiştir. Bu metotlar Walsh & Beaton (1973), Westerman (1991), Reuter & Robinson, (1976, 1986, 1997), Jones, Wolf & Mills (1991), Sparks & ark. (1996), Bell (1997), Geraldson, Klacan & Lorenz (1973) tarafından yapılmış çalışmalardan hazırlanmıştır.

Örnekleme Zamanı

Tavsiye edilen numune alma zamanı genellikle birçok bitki için üreme aşamasının başlangıcından hemen önce gerçekleşir.

Bununla birlikte, belirli tesisler veya durumlar için, belirtilen süreden daha erken veya daha geç numune alınması önerilebilir.

Görsel semptomların ortaya çıktığı sırada veya kısa bir süre sonra şüpheli besin eksikliği semptomu gösteren bitkilerden örnek alınır.

Elma, armut, erik, kayısı, şeftali ve kiraz meyve ağaçlarında yaprak örnekleri taşıyıcı olmayan bir sürgünde omuz hizasında, kanopinin ortasında bulunan yapraklardan Temmuz- Ağustos aylarında toplanır. Portakal, mandalina limon gibi narenciye ağaçlarında Eylül-Ekim aylarında meyvesiz yeni sürgündeki yapraklardan örneklenir. Zeytinde Kasım- Aralık aylarında tek yıllık uç sürgünlerdeki yapraklar örneklenir. Domateste ilk salkımdaki meyveler ceviz büyüklüğünde iken gelişimini tamamlamış yapraklardan toplanır. Asma ağacında birinci salkımın karşısındaki yaprak örneklenir. Bir standart kullanılırken, farklı türler arasında farklılık gösterebilen katı ancak basit protokoller izlenir.

Numune Alma Hazırlığı

Bitki örnekleri alınacak arazinin gezi planı makul istatistiksel yöntemler kullanılarak önceden hazırlanır. Araziye çıkmadan önce gerekli hazırlıklar numune alacak görevliler tarafından yapılır. Bu hazırlıklar aşağıda liste halinde verilmiştir.

Bitki örnekleri etiketli, delikli plastik poşet veya kâğıt torbalara konulmalıdır.

Etiketler ve işaretleyiciler gereklidir.

Torbalar sağlamlıklarının yanı sıra temizlik açısından da incelenmelidir.

Bitki örnekleri karton kutular içerisinde laboratuvara taşınabilir.

Her numuneye birer numara verilerek, numunelere ilişkin tüm bilgiler kayıt altına alınır.

Bitki numunesi almak için temiz tepsi veya temiz bez alınır.

Bitki toplanacak arazi kâğıt üzerine çizilir ve bu kâğıt üzerine örneklemenin yapıldığı şekliyle diyagramı çizilir. Numune alınan alanların numune kaplarıyla aynı şekilde etiketlendiği kontrol edilir.

Numune alma tutanağı tükenmez kalem ile net bir şekilde numune alım anındaki bilgiler yazılarak doldurulur. Her numuneye ait ne kadar fazla bilgi sağlanırsa o kadar iyidir. Numune alma tutanağında yer alan bilgiler şöyledir. Tutanağın en başında numuneyi alan kurum bilgileri, numune alma tarih ve saati, numune kodu ve numune ile ilgili genel bilgiler (il, ilçe, rutin veya rutin dışı, numune sahibi) yer alır. Sonra numuneye ait bilgiler (numune alma amacı, numune miktarı, numune gönderme tarih ve saati, numuneyi alan kişi, numune alma sırasında hava durumu, numunenin mühürlenip mühürlenmediğine dair bilgi, numune nakil sıcaklığı) yer alır. Daha sonra numune için talep edilen analiz türü ve numunenin gönderildiği laboratuvar bilgileri yer alır. En son olarak denetçi varsa denetçiye ait bilgiler yer alır.

Bitki Örneklemeye Hususları

Örneklemeye yaparken farklı bitkiler için farklı örneklemeye yöntemleri kullanılabilir. Laboratuvarında bitki örnekleri ile gerçekleştirilecek deneylerin sonuçlarının geçerliliğini güvence altına almak için kontrol edilmesi gereken hususları içerir. Bu hususlar örneklemeye sırasında hazır bulundurulur. Yaprak örneklemeye yönteminde dikkat edilmesi gereken hususlar şöyle sıralanır: Arazideki ağaçların yaşları farklı ise aynı yaş gruplarındaki ağaçların yaprakları örneklenir. Birçok meyve ağacı türü için numune olarak zikzak konumlu ağaçlardaki o yıla ait meyvesiz sürgünlerden yeni olgunlaşmış yapraklar toplanır. Yeni olgunlaşmış meyve ağacı yaprağı numunesi, tipik olarak Temmuz – Ağustos aylarında, taşıyıcı olmayan bir sürgünün veya taşıyıcı olmayan mahmuzun ortasından ve kanopinin ortasından alınmalıdır. Meyve ağaçlarında örneklenecek yapraklar Şekil 1a ve 1b de gösterilmiştir. Kanopi bitkide yaprak ve sürgün sistemi şeklinde bilinir. Bitkilerde fotosentez ile ışık enerjisi kimyasal enerji olan şekere dönüşmektedir. Yaprakların ışık alması, havalanması enerji

üretimini dolayısı ile verimi etkilemektedir. Bu nedenle analiz edilecek yapraklarda homojenlik sağlanabilmesi için yaprak örnekleri kaponinin ortasından alınır. Örneğin elma, armut, şeftali, kayısı, vişne, kiraz, erik ve badem ağacından yaprak örneği alırken meyve ağacının 360° etrafındaki omuz hizasındaki yeni, meyvesiz sürgünlerin ortasından her ağaçtan sapları ile birlikte 4 ile 8 adet olmak üzere yaklaşık 25 ağaçtan 100 civarında yaprak örneklenir. Zeytin yaprak örnekleri Kasım –Aralık aylarında yeni sürgünlerden alınır. Üzüm yaprak örnekleri için çiçeklenme veya renk dönümü döneminde birinci salkımın karşındaki yapraklar toplanır. Domates yaprak örnekleri sürgünün en ucundan 5. veya 6. yaprak yani gelişimini en son tamamlamış yapraklardan alınır (Geraldson & ark., 1973).

Çok taze veya önceki büyümeden yapraklar toplanılmaz. Bununla birlikte belirli bitkiler için, taze yapraklar demir içeriğini (Katyal & Sharma, 1980) ve bor içeriğini (Bell, 1997) belirlemek için örneklenir. Bu amaçla hasarlı veya hastalıklı yapraklar numune olarak alınmaz. Hava çok sıcakken veya çok nemli iken bitkilerden numune alınmamalıdır.



Şekil 1. a) Elmada yeni olgunlaşmış yaprak (Sallato, 2021) b) Vişnede yeni olgunlaşmış yaprak (Sallato, 2021)

Yaprak sapsları pamuk, şeker pancarı, üzüm, patates gibi belirli ürünler için seçilir. Tohumlar bitki örneklemek için nadiren kullanılır. Örneğın tahıllarda tohumlar bor toksisitesinin değeriendirilmesi, çinko ve fosfor miktarının belirlenmesi amacıyla yapılacak analizler için örneklenir. Bazı tek yıllık bitkilerin örneğın tahılların, fasulyenin toprak üstü tüm kısımları örneklenir. Bitki örneklerinin toplandığı arazi karışık bitkileri içeriyorsa örneğın yem bitkileri gibi, bu durumda bitki türleri birbirinden ayrılır.

Bitki örneklerken sahada iş hijyeni önemlidir. Kuş pisliğı bulunduran yapraklar örneklenmez. Bitki örneklerinin her türlü kirlenmesinden kaçınılmalıdır, depolamak amacıyla veya kurutmak amacıyla temizlik malzemelerinin ve gübrenin olduğı yerlerde bulundurulmaz.

Bitki Örneğı Alınmayacak Materyaller ve Durumlar

Hasta veya ölü bitki materyalleri, böceklerden veya mekanik olarak zarar görmüş bitki dokuları örnek olarak alınmaz. Bitkilerin toprak üstü kısımları örneklendiğinde kökleri çıkarılır ve toprak parçacıklarını uzaklaştırmak için üst kısmı yıkanır. Nem ve sıcaklık bakımından aşırı stres altındaki bitkilerden numune alınmaz. Numune alınacak arazinin yer altı ve yer üstü incelendiğinde, diğeri böcekler veya hastalıklar tarafından zarar görmüş köklerin veya solucanların varlığı, numune alma ihtiyacını ortadan kaldırır.

Örneklenecek Bitki Materyali

Bitki örnekleme için en çok gelişimini tamamlamış taşıyıcı olmayan sürgünlerdeki genç yapraklar tercih edilir. Şeker kamışı, pamuk ve mısırda yaprak sapsları örneklenir. Tahıllar ve fasulye bitkisinin toprak üstü kısımları örneklenir. Üzümde ilk salkımın karşısındaki yaprak örneklenir.

Örneklenecek Bitki Materyali Miktarı

Analiz edilmek istenilen alanı temsil eden yeterli sayıda yaprak örneğı toplanır. Yaprak toplanacak alan yeterince homojen

ise 10 dönümde ortalama 50 adet yaprak örneklenmesi önerilir. Farklı tür, çeşit, genç ve yaşlı ağaçların yaprakları ayrı ayrı örneklenir. Çok yaşlı veya çok genç yapraklardan, çok kuvvetli veya zayıf sürgünlerden ve kirli dokulu yapraklardan yaprak numunesi örneklenmez. Meyve ağaçları için her bir ağacın etrafından 4 adet olmak üzere yaklaşık 25 ağaçtan ortalama 100 adet yaprak örneklenir. Marul ve ıspanakta olgunlaşmış genç yapraklardan 35-40 adet, çilekte gelişme dönemi ortasında gelişimini tamamlamış genç yapraklardan 30-50 adet, asmada çiçeklenme sonunda ilk üzüm salkımının karşısındaki genç yapraklardan 50-100 adet örneklenir.

Numune Olarak Toplanacak Bitki Materyalinin Özel Durumları

Numune toplanacak ağaçlara besin spreyi uygulanmış ise on beş gün geçmesi beklenir. Eğer on beş gün geçmeden yaprak numunesi toplanmış ise bu konuda analizi yapacak laboratuvar bilgilendirilir. Laboratuvar analiz sonuçları yorumlanırken spreyn uygulandığı tarih dikkate alınarak sonuçlar yorumlanır. Bazı ilaçlar çinko, bakır, kükürt, kalsiyum, bor gibi elementler içerebilir. Yaprak numunesi alınacak ağaçlar yakın zamanda bu tür mineralleri içeren ilaçlar ile ilaçlanmış ise yine bu konuda laboratuvara bilgi verilir.

Arazide Bitki Örneğinin Alınacağı Yerin Seçimi

Bitkinin büyümesinin homojen dağılım gösterdiği tekdüze arazilerde bitki numunesi örneklerken, geniş alana dağılmış en az on yerden örneklenmiş bir kompozit numune alınır. Bir yerde (arazide) bitki örneklenirken, birde toprak örneği alınır. Toprak örneğinin alınmasının nedeni bitki için gerekli besin elementinin toprakta yeterliliğini ölçmektir. Yaprak analizleri ile bu elementlerin yaprağa ne kadar ulaştığı tespit edilir.

Anormal bitkilerden örnek alınacak ise anormal bölgenin içinden örnekler alınır. Örneğin mahsul büyümesinin veya bir alanın görünümünün tarlanın geri kalanından farklı olduğu alanlardan bitki örnekleri alınır. Bu bitkilerin analizi sıklıkla bu farklılıkların

nedenini belirleyebilir ve sorunu düzeltmek için en iyi yöntemi gösterebilir.

Örnek Alma Tutanağında bulunması gereken bilgiler

Örnek alma tutanağında, numunenin sahibi, numunenin cinsi, numunenin alındığı yer, numunenin alındığı tarih, numunenin alındığı saat, numunenin alındığı anda hava sıcaklığı ve nem oranı, numunenin alındığı yerin rakımı, numune alan kişi veya kişilerin adı ve imzası, varsa denetçinin adı ve imzası yer almalıdır.

Bitki Örneklerinin Laboratuvara Taşınması

Bitki örneklerinin bozulmadan mümkün olan en kısa sürede laboratuvara getirilmesi gerekir. Laboratuvara gelen her numuneye bir numara verilerek laboratuvar kayıt sistemine işlenir. Bitki örnekleri temizlenene kadar buzdolabında saklanır. Fermantasyonun oluşmamasına dikkat edilir. Bitki örnekleri laboratuvara taşınırken küçük zarfın içine bir tarih formu konulur ve bu form daha sonra kurutulmuş numuneyi içeren büyük zarfın içine yerleştirilir.

Bitki Örneklerinin Yıkaması

Yıkama ve durulamayı içeren prosedürler yalnızca taze bitki numuneleri için kullanılır. Bitkiler yıkandıktan sonra bitki dokusunu stabilize etmek ve enzimatik reaksiyonları durdurmak için örnekler hemen kurutulur. Bitki örneklerini yıkamak için deiyonize su, yüzde 0.1 ila 0,3 oranında fosfatsız deterjan çözeltisi, orta sertlikte naylon fırça ve uygun plastik yıkama kapları kullanılır.

Bitki numunesi çok kirli ise ön kuru silme işlemi yapılabilir. Bitki örnekleri çok kirliyse ve kuru silme mümkün değilse naylon torba ile yıkama yapılabilir. Numuneler uygun şekilde temizlenirken hiçbir kısmı birkaç saniyeden fazla su altında kalmamalıdır. Bitki örnekleri deiyonize su veya %0,1 – 0,3 fosfat içermeyen deterjan (%1 HCl gibi) ve ardından deiyonize su ile yıkanarak toz, pestisit ve gübre kalıntılarından arındırılır. Bitki örneklerinin her bir kısmı deiyonize su banyosunun içine daldırılıp, çalkalanıp, hemen

çıkarılarak durulanır. Suyu değiştirilir ve aynı şekilde tekrar durulanır. Elle kuvvetlice sallanarak su mümkün olduğunca uzaklaştırılır. Çözünebilir element tayini için bitki numuneleri özellikle uzun süre yıkanmamalıdır. Ancak toplam Fe analizi için bitki örneklerinin yıkanması gerekmektedir. Uzun süre yıkama, bitki örneğinin kirli olmasından daha kötüdür çünkü bor, potasyum ve azot çözünebilir elementler olduğu için dokudan sızabilir (Smith & Storey, 1976). Bitki dokularından azot, bor, potasyum ve klor sızıntısını önlemek için yıkama ve durulama süreleri mümkün olduğu kadar kısa tutulmalıdır.

Bitki Örneklerinin Kurutulması

Enzimatik reaksiyonları durdurmak ve bitki örneklerini stabilize etmek için bitki dokusundan suyu uzaklaştırılır. Bitki dokusunda bulunan enzimler 70° C'nin üzerindeki sıcaklıklarda etkisiz hale gelir. Sonuç olarak, havayla kurutma numuneleri stabilize edemeyebilir ve enzimatik ayrışmayı önleyemeyebilir. Bu nedenle numuneler, numune alındıktan sonra mümkün olan en kısa sürede uygun şekilde kurutulmalıdır. Bazı teknik yönergeler aşağıdaki gibidir:

Bitki örnekleri kurutma fırını kabı içerisine eşit ve ince bir şekilde yayılır. Kaplar iyi havalandırılan kurutma fırınına yerleştirilir. Bitki örnekleri için gereken kuruma süresi farklılık gösterebilir. Sabit ağırlığa kadar kurutulur. Bitki örneğinin cinsi ve numune boyutu kuruma süresini etkiler.

Kurutma sıcaklığı 70° C'yi aşmamalıdır çünkü daha yüksek sıcaklıklar buharlaşmadan kaynaklanan kayıplara ve yüksek sıcaklıktan kaynaklanan bozunmaya neden olabilir. Bu durum bitki örneğinin kuru ağırlığını azaltabilir.

70° C'nin altındaki sıcaklıklarda kurutma, bitki örneğindeki suyun tamamını uzaklaştıramayabilir ve zayıf homojenizasyona ve hatalı analitik sonuçlara yol açabilir.

Bitki örnekleri için normal şartlarda 70° C da 24 saatlik kuruma süresi yeterli olabilir. Bitki örneklerinin türüne ve sayısına bağlı olarak 24 saatten daha uzun süre kurutma fırınında tutmak gerekebilir. (Jones, Wolf & Mills, 1991) Kacar ve İnal çalışmalarında bitki dokularını 65±5 °C ye ayarlanmış fırında 48 saat tutarak kurutmuşlardır (Kacar & İnal 2010). Bitki örneklerinin hızlı kurutulması için mikrodalga fırın kullanılabilir ve kurutma süreci yakından takip edilebilir (Kacar & İnal 2010).

Bitki Örneklerinin Öğütülmesi ve Karıştırılması

Homojenliği sağlamak ve organik madde tahribatını kolaylaştırmak için bitki doku örnekleri 0,5 ila 1,0 mm parçacık boyutuna küçültülür.

Kurutulmuş bitki örneklerini öğütmek için 20, 40 ve 60 mesh gözenekli elekler ve paslanmaz çelik temas noktalarıyla donatılmış standart değirmenler kullanılır. Bu değirmenlere örnek olarak Şekil 2 de verilen genel amaçlı yüksek hızlı öğütücüler (Cyclotec) ve Şekil 3 de verilen Wiley değirmenleri gösterilebilir.



*Şekil 2. Genel Amaçlı Yüksek Hızlı (Cyclotec) Numune Değirmeni
(fisher scientific web sitesi)*

Test edilecek örnek miktarı 0.5 gramdan fazla ise 20 mesh gözenekli bir elek kullanılır. Bununla birlikte, test edilecek örnek miktarı 0.5 g'dan az ise 40 mesh gözenekli bir elek kullanılır. Öğütmeden sonra numune iyice karıştırılır.

Analiz ve şahit numune olarak öğütülmüş örnekten saklamak için 5 ile 8 gramlık bir kısım alınır. Bitki örnekleri öğütme sırasında önemli miktarda nem çekmiş ise, tartılmadan önce ilave kurutma işlemi gerekebilir.

Her numune öğütüldükten sonra öğütme aparatı fırça veya vakum sistemi kullanarak temizlenir. Doğru analitik sonuçların elde edilmesinde bitki örneklerinin iyi öğütülmesi ve homojen karıştırılması önemlidir.



Şekil 3. Wiley Değirmeni (wikipedia)

Çok küçük veya tüylü veya eriyen veya lifli dokuya sahip bitki örnekleri öğütülürken dikkatli olunur. Bu tür bitki örneklerinin Wiley değirmeninde öğütülmesi zor olduğundan bitki örneğinde homojenliğin sağlanması için öğütme işlemine yeterli süre verilmelidir. Şekil 2 de görünen yüksek hızlı öğütücüler bu işlem

için tercih edilebilir. İyi tme işlemi için değirmenlerin rutin bakımları yapılır. Rutin bakımda değirmenin bıçakları keskin duruma getirilir. Her tme işleminden sonra kuru fırça ile veya basınçlı kuru hava ile temizlenir. Böylelikle değirmende tlen bir önceki numune bir sonraki numuneye karışmamış olur. Bitki örneğinin miktarı fazla ise bir miktar bitki rneği değirmende tlr atılır, değirmene sonra ilave edilen bitki örnekleri tldkten sonra analiz için alınır.

(Mesh ls 1 inch = 25.4 mm uzunluğunun eşit aralıklara bölünmesiyle elde edilir. Belli bir tel kalınlığı ve dokuma sıklığıyla üretilmiş bir elekten geçebilen en büyük parçanın ölçüsüdür. 60 mesh standart elek ile öğütülmüş bitki örneğinde bulunan en büyük parçacığın ebadı 0.25 mm dir. 60 mesh standart elekte tel çapı 0.14 mm dir. $0.14 \times 60 = 8.40$ mm eleğin tel kalınlığı olarak hesaplanır. 25.4 mm den tel kalınlığı 8.40 mm çıkarıldığı zaman 17.00 mm boşlukların tamamını ifade eder. 17.00 mm boşluğu 60 a böldüğümüzde 0.283 mm olarak hesaplanır. 40 mesh standart elekte tel çapı 0.22 mm dir. $0.22 \times 40 = 8.8$ mm eleğin tel kalınlığı olarak hesaplanır. 25.4 mm den tel kalınlığı 8.8 mm çıkarıldığı zaman 16.6 mm boşlukların tamamını ifade eder. 16.6 mm boşluğu 40 a böldüğümüzde 0.415 mm olarak hesaplanır. 40 mesh elekte tel çapı 0.20 ve 0.25 mm olan eşitleri de mevcuttur. 20 mesh elekte tel çapı 0.35 mm, 0.37 mm, 0.40 mm, 0.45mm ve 0.50 mm ebatlarında olabilir. 20 mesh elekten geçen en büyük parça sırasıyla 0.90 mm, 0.90 mm, 0.87 mm, 0.82 mm ve 0.77 mm şeklinde hesaplanır.)

şahit Numune

Analizi yaptıran müşteri veya kurumlar tarafından, analiz sonuçlarına yapılabilecek itirazların sonucunda resmi olarak analizlerin tekrarlanması durumunda kullanılacak, çalışılan numune ile aynı zamanda ve aynı şartlar altına alınmış, ilgili Bakanlıkça yetki verilen laboratuvarlara yetkili kişiler tarafından gönderilen numunedir.

Yetkili Laboratuvar

Çevre Ölçüm ve Analiz Laboratuvarları Yeterlik Yönetmeliği kapsamında ilgili Bakanlıktan belge alan laboratuvardır.

Bitki Örneklerinin Depolanması

Öğütme ve karıştırma (homojenizasyon) sonrasında numuneler, bozulmayı en aza indirecek serin (4° C), karanlık ve nemsiz koşullarda bulunan dolaplarda hava geçirmez plastik kaplarda gerekli analizler tamamlana kadar saklanır.

Depolama sırasında bitki materyali nem çekebilir, bu nedenle numune analiz için tartılmadan hemen önce 70°C'de 1 saat tekrar kurutulur.

Bitki Örneklerinde Analiz Edilecek Parametreler

Bitkiler büyümek ve yaşam döngülerini tamamlamak için 14 temel minerale ihtiyaç duyar (Jones, Wolf & Mills, 1991; Rao, 2009; Marschner, 2011; Barker and Pilbeam, 2015). Bunlar azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, kükürt, çinko, demir, mangan, bakır, bor, klor, molibden ve nikel elementleridir. Bitkilerde besin maddeleri eksikliğinde gözle görülebilir değişiklikler meydana gelir.

Bitki Örneklerinde Makrobesinler

Azot eksikliğinden daha çok yaşlı yapraklar etkilenir. Yapraklar sonbahardaki durumları gibi görünür. Bitkinin verimini düşürür. Azot fazlalığında bitkiler bodur kalır ve yapraklarında şekil ve renk bozukluğu görülür (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Fosfor eksikliğinde daha çok yaşlı yapraklar dökülür. Fosfat eksikliği diğer maddelerin eksikliğini de ortaya çıkarır. Yaprakların kenar kısımlarında sarı-kahverengi-siyah benekler oluşur ve verimi düşürür (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Potasyum eksikliğinde yapraklarda pasa benzeyen lekeler oluşur. Yaşlı yapraklar daha çok etkilenir. Çiçek rengini beyazlatma etkisi görülür. Potasyum eksikliği demir eksikliğini ortaya çıkarır, fazlası azot ve magnezyum alımını engeller (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Kalsiyum eksikliği daha çok genç yaprakları etkiler. Bitkinin sürgün ucundaki yaprakları sertliğini kaybederek çengel şeklini alır. Tomurcuk döneminde verimi düşürür (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Magnezyum eksikliği de fazlalığı da verimi düşürür. Yaşlı yapraklar daha çok etkilenir. Yaprak sapı inceler (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Kükürt eksikliğinden daha çok genç yapraklar etkilenir ve sarımsı renk alır. Kükürt fazlalığında genç yapraklarda beyazlaşma oluşurken, yaşlı yapraklarda kırmızı-mor benek oluşur (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Bitki Örneklerinde Mikro Besinler

Demir eksikliğinde genç yaprakların rengi sarı- beyaza döner. Bitkinin gelişimi yavaştır. Demir fazlalığı mangan eksikliğine neden olur (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Mangan eksikliğinden daha çok genç yapraklar etkilenir. Yaprak damarları arasında benekler oluşarak yaprak ölür. Mangan fazlalığı demir eksikliğine neden olur (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Bakır eksikliğinden daha çok genç yapraklar sıcakta çok etkilenir. Eksikliğinde bitkinin gelişimi ve verimi sıcaklık ile doğru orantılı olarak olumsuz etkilenir (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Çinko eksikliğinde genç yaprakların rengi açılmakta, yaşlı yapraklarda damarlar arasında ölü kısımlar oluşmaktadır. Uzun süreli çinko eksikliğinde bu belirtiler tüm yapraklara yayılmaktadır (Jones Jr, Wolf & Mills, 1991).

Bor eksikliğinde genç yapraklar açık renkten siyah renge kadar dönüşür. Yaşlı yapraklar kalın ve kırılgan olur. Verimi düşürür

(Wojcik & Wojcik, 2006; Kacar & Katkat, 2010; Jones Jr, Wolf & Mills, 1991).

Klor eksikliği genç yapraklarda kloroza (yapraklarda klorofil yetersizliği) neden olur ve bitkiler kolaylıkla solar. Klor fazlalığında yaprak kenarlarında ve uçlarında yanma ile birlikte alt yaprakların erken sararması sonucu bitkiler kolaylıkla solar ve öncelikle odunsu bitkilerde yaprak dökülmesi meydana gelir (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Molibden eksikliğinde öncelikle yaşlı ve orta yapraklarda kloroz meydana gelir. Yaprak kenarı kıvrılır, yeni büyüme bozulur ve çiçek oluşumu azalır (Jones, Wolf & Mills, 1991).

Nikel tohumların çimlenmesi için gereklidir. Bitkiler demir absorpsiyonu için nikele ihtiyaç duyar. Nikel eksikliğinde bitki, canlı tohumlar üretemez (Rao, 2009).

Bitki Örneklerinde Yararlı Mineraller ve İşlevleri

Yararlı elementler, büyümeyi teşvik eden ancak büyüme için gerekli olmayan veya belirli koşullar altında yalnızca belirli bitki türleri için gerekli olan minerallerdir. Bazı eser elementler söz konusu olduğunda faydalı ve gerekli arasında ayırım yapmak zordur (Rao, 2009). Bunlar sodyum, silisyum, kobalt, selenyum ve alüminyumdur.

Sodyum bitkinin iyonik denge ve osmotik basınç işlevlerinde görev alır (Brownell, 1980).

Bitkide silisyumun faydalarına ilişkin birçok çalışma yapılmıştır (Balakhnina & Borkowska, 2013; Zhu & Gong, 2014; Van Bockhaven, De Vleeschauwer & Höfteark, 2013).

Kobaltın bitkideki rolü araştırılmıştır ve bitki için temel bir mikro besin olabileceği düşünülmektedir (Palit, Sharma & Talukder, 1994; Hu & ark., 2021; Akeel & Jahan, 2020)

Selenyumun bitkide antioksidan kapasitesini arttırdığı (Pilon-Smits & ark., 2009), bitki toleransını geliştirdiği gözlenmiştir

ve bazı alanlarda çeşitli selenyumlu naopartikül uygulamalı çalışmalar mevcuttur (Ahmad & ark., 2016, Hasanuzzaman, Hossain & Fujita, 2012, Pilon-Smits & ark., 2009, Peng & ark., 2023; Ma & ark., 2023; Yin & ark., 2019).

Alüminyumun asidik toprakta bitki büyümesini engellediği, ürün verimini düşürdüğü ve birçok mineral ile etkileşime girdiği bilim insanları tarafından bulunmuştur (Mahammad & ark., 2019; Wright, 1989, Ofoe & ark., 2023)

Bitki Örneklerinde Toksik Metaller

Ağır metallerin (örneğin kadmiyum, arsenik, cıva, kurşun ve krom) yüksek konsantrasyonları tüm canlılar için toksiktir (Goyal & ark., 2020; Ghani, 2010)

KAYNAKLAR

Ahmad, P., Abd Allah, E. F., Hashem, A., Sarwat, M., & Gucel, S. (2016). Exogenous application of selenium mitigates cadmium toxicity in Brassica juncea L.(Czern & Cross) by up-regulating antioxidative system and secondary metabolites. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35, 936-950.

Akeel, A., & Jahan, A. (2020). Role of cobalt in plants: its stress and alleviation. *Contaminants in agriculture: sources, impacts and management*, 339-357.

Balakhnina, T., & Borkowska, A. (2013). Effects of silicon on plant resistance to environmental stresses: review. *Int. Agrophys.* 27, 225–232. doi: 10.2478/v10247-012-0089-4

Barker, A.V., & Pilbeam, D.J. Handbook of Plant Nutrition; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2015. [[Google Scholar](#)]

Baysal, A., Aksoy, M., Besler, T., Bozkurt, N., Keçecioglu, S., Mercanlıgil, S. M., Kutluay Merdol, T., Pekcan, G., & Emine Yıldız, E. (2011). *Diyet El Kitabı*, 6.

Bell, R. W. (1997) Diagnosis and prediction of boron deficiency for plant production. *Plant Soil* 193: 149 – 168.

Brownell, P. F. (1980). Sodium as an essential micronutrient element for plants and its possible role in metabolism. In *Advances in botanical research* (Vol. 7, pp. 117-224). Academic Press.

de Saussure, N. T. (1804). *Recherches chimiques sur la vegetation*. Nyon.

Estefan, G., Sommer, R., Ryan, J. (2013). Methods of Soil, Plant, and Water Analysis: *A manual for the West Asia and North Africa Region: Third Edition*. Beirut, Lebanon: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).

European Environment Agency Report. (2023). Soil monitoring in Europe : indicators and thresholds for soil quality assessments, *Publications Office of the European Union*,

<https://data.europa.eu/doi/10.2800/956606>
<https://www.eea.europa.eu/publications/soil-monitoring-in-europe>
Erişim tarihi: 06.12.2023.

fisher scientific web sitesi
<https://www.fishersci.com/shop/products/ct-293-cyclotec-general-purpose-sample-mill/12053116#?keyword=> Erişim Tarihi:
06.12.2023.

Geraldson, C. M., Klacan, G. R., & Lorenz, O. A. (1973). Plant analysis as an aid in fertilizing vegetable crops. *Soil testing and plant analysis*, 2, 365.

Ghani, A. (2010). Toxic effects of heavy metals on plant growth and metal accumulation in maize (*Zea mays* L.).

Goyal, D., Yadav, A., Prasad, M., Singh, T. B., Shrivastav, P., Ali, A., Dantu, P.K., & Mishra, S. (2020). Effect of heavy metals on plant growth: an overview. *Contaminants in agriculture: sources, impacts and management*, 79-101.

Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., & Fujita, M. (2012). Exogenous selenium pretreatment protects rapeseed seedlings from cadmium-induced oxidative stress by upregulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Biological Trace Element Research*, 149, 248-261.

Hu, X., Wei, X., Ling, J., & Chen, J. (2021). Cobalt: an essential micronutrient for plant growth?. *Frontiers in plant science*, 12, 768523.

ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
<https://www.iso.org/standard/66912.html>

Jones Jr, J. B., Wolf, B., & Mills, H. A. (1991). *Plant analysis handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Micro-Macro Publishing, Inc..

Kacar, B., & İnal, A. (2010). *Bitki analizleri*. Nobel Yayın Dağıtım.

Kacar, B., & Katkat, V. (2010). Bitki besleme (5. Basım), Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti: Kızılay-Ankara.

Kalra, Y. (Ed.). (1997). *Handbook of reference methods for plant analysis*. CRC press. https://plantstress.com/wp-content/uploads/2020/03/Handbook_of_Reference_Methods_for_Plant_Analysis-1998.pdf

Katyal, J. C., & Sharma, B. D. (1980). A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. *Plant and Soil*, 55, 105-119.

Liebig, J., & Playfair, L. P. (1840). Organic chemistry in its applications to agriculture and physiology. (*No Title*).

Ma, Y., Yuan, W., Kan, W., Huang, C., Zhu, J., Zhang, G., ... & Wu, L. (2023). Quercetin rapidly potentiates the biogenesis of nanoselenium via orchestrating key signaling pathways in *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering Journal*, 455, 140885.

Marschner, H. (Ed.). (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.

Miller, R. O., Gavlak, R., & Horneck, D. (2013). Soil, plant and water reference methods for the western region. *Colorado State University: Fort Collins, CO, USA*, 155.

Muhammad, N., Zvobgo, G., & Zhang, G. P. (2019). A review: The beneficial effects and possible mechanisms of aluminum on plant growth in acidic soil. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(7), 1518-1528.

Munson, R. D. (1997). Plant analysis. *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*, 1.

Munson, R. D. (1998). Principles of plant analysis. *Methods for Plant Analysis*, 1.

Munson, R. D., & Nelson, W. L. (1990). Principles and practices in plant analysis. *Soil testing and plant analysis*, 3, 359-387.

Ofoe, R., Thomas, R. H., Asiedu, S. K., Wang-Pruski, G., Fofana, B., & Abbey, L. (2023). Aluminum in plant: Benefits, toxicity and tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1085998.

Palit, S., Sharma, A., & Talukder, G. (1994). Effects of cobalt on plants. *The botanical review*, 60, 149-181.

Peng, S. Y., Yan, J., Li, M., Yan, Z. X., Wei, H. Y., Xu, D. J., & Cheng, X. (2023). Preparation of polysaccharide-conjugated selenium nanoparticles from spent mushroom substrates and their growth-promoting effect on rice seedlings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126789.

Perkin-Elmer Corp. 1976. Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry. Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT.

Pilon-Smits, E. A., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M., & Schiavon, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Current opinion in plant biology*, 12(3), 267-274.

Ponder, F., 2004. Soils and Nutrition Management for Black Walnut. In: Black Walnut in a New Century: Proceedings of the 6th Walnut Council Research Symposium, eds. C. H. Michler, P. M. Pijut, J. W. van Sambeek, M. V. Coggeshall, J. Seifert, K. E. Woeste, R. Overton, and F. Ponder, pp. 71–76.

Prananto, J. A., Minasny, B., & Weaver, T. (2020). Near infrared (NIR) spectroscopy as a rapid and cost-effective method for nutrient analysis of plant leaf tissues. *Advances in agronomy*, 164, 1-49.

Rao, I. M. (2009). Essential plant nutrients and their functions.

https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/54682/essential_plant_nutrients.pdf?sequence=1

Reuter, D. J., & Robinson, J. B. (1986). Plant analysis: An interpretation manual. (Inkata Press: Melbourne, Sydney).

Reuter, D. J., Robinson, J. B., Peverill, K. I., Price, G. H., & Lambert, M. J. (1986). Guidelines for collecting, handling, and analyzing plant materials. *Plant Analysis: An Interpretation Manual*. Inkata Press, Melbourne, Australia, 11-35.

Reuter, D., & Robinson, J. B. (Eds.). (1997). *Plant analysis: an interpretation manual*. CSIRO publishing.

Sallato, B. 2021. Leaf Tissue Analysis. <https://treefruit.wsu.edu/orchard-management/soils-nutrition/leaf-tissue-analysis/> Erişim tarihi: 06.12.2023.

Smith, M. W., & Storey, J. B. (1976). The Influence of Washing Procedures on Surface Removal and Leaching of Certain Elements from Pecan Leaflets1. *HortScience*, 11(1), 50-52.

Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., & Loeppert, R. H. (Eds.). (2020). *Methods of soil analysis, part 3: Chemical methods* (Vol. 14). John Wiley & Sons.

Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H., Soltanpour, P. N., Tabatabai, M. A., ... & Sumner, M. E. (1996). *Methods of soil analysis, part 3, chemical methods No. 5. Soil Science Society of American Book Series, Madison, WI, USA*.

Tabatabai, M. A. (1998). Handbook of reference methods for plant analysis. *Crop Science*, 38(6), 1710-1711.

UN Department of Economic and Social Affairs Sustainable Development. End hunger, achieve food security and improved nutrition and promote sustainable agriculture <https://sdgs.un.org/goals/goal2> Erişim Tarihi: 06.12.2023.

Van Bockhaven, J., De Vleeschauwer, D., & Höfte, M. (2013). Towards establishing broad-spectrum disease resistance in plants: silicon leads the way. *Journal of experimental botany*, 64(5), 1281-1293.

Walsh, L. M., & Beaton, J. D. (1973). Soil testing and plant analysis.

Weinhold, A. (1862). Analyze von unkiauterm des bodens der versuchsstation chemnitz. *Landeo Vers. Sta*, 4, 188-1.

Westerman, R. L. (1991) Soil Testing and Plant Analysis, Third Edition. *Soil Science* 152(2):p 137.

Wiley değirmi https://en.wikipedia.org/wiki/Wiley_mill
Erişim Tarihi: 06.12.2023.

Wojcik, P., & Wojcik, M. (2006). Effect of boron fertilization on sweet cherry tree yield and fruit quality. *Journal of plant nutrition*, 29(10), 1755-1766.

Wright, R. J. (1989). Soil aluminum toxicity and plant growth. *Communications in soil science and plant analysis*, 20(15-16), 1479-1497.

Yin, H., Qi, Z., Li, M., Ahammed, G. J., Chu, X., & Zhou, J. (2019). Selenium forms and methods of application differentially modulate plant growth, photosynthesis, stress tolerance, selenium content and speciation in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology and environmental safety*, 169, 911-917.

Zhu, Y., & Gong, H. (2014). Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. *Agronomy for sustainable development*, 34, 455-472. doi: 10.1007/s13593-013-0194-1

BÖLÜM V

Atık Sulardan Ağır Metal Giderimi

Nurhayat Atasoy¹

GİRİŞ

Su, yeryüzündeki yaşamın devamı için en önemli unsurlardan biridir. Ancak insan faaliyetleri nedeniyle tatlı su endişe verici bir oranda kirleniyor. Endüstriyel faaliyetler sonucu atmosfere salınan metaller toprağa, havaya ve su kaynaklarına karışmaktadır (Mercan Yücel ve Atasoy, 2019). Bu elementler, bu tür alanların yakınında yaşayan organizmalara farklı yollardan girebilir; ciltte, saçta ve dokularda birikebilirler. Endüstriyel atıklardaki farklı kirletici maddelerin artırımını incelemek için dünyanın her yerinde sıkı çalışmalar yürütülmektedir. Ağır metaller toksiktir ve biyolojik olarak parçalanamazlar ve canlı hücrelerde biyolojik olarak

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Van Yüzüncü Yıl University, Van Türkiye, nurhayatatasoy@ymail.com

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO, 2017) ve Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'na (USEPA 2018) göre atık su artıma atıklarındaki çeşitli ağır metaller için izin verilen limitler .

birikebilirler. Arsenik, civa, kurşun, krom, kadmiyum, nikel, demir, bakır, çinko gibi ağır metaller canlı sağlığına ve çevre kirliliğine neden olan en yaygın kirleticilerdir (Ghorai ve ark., 2014; Mercan Yücel ve Atasoy, 2019). Ağır metallerin biyolojik olarak parçalanamaması, kanserojenliği, toksisitesi ve çevresel stabilitesi gibi özellikler nedeniyle, gıda zinciri ve çevre kontaminasyonu durumunda önemli bir tehdit unsuru olarak karşımıza çıkmaktadır (Özbolat ve Tuli, 2016). Zararsız yan ürünlere ayrıştırılamadıkları için ancak biyolojik, kimyasal ya da fiziksel yöntemlerle daha az toksik formlara dönüştürülebilir. Besin zinciri yoluyla vücuda alınan ağır metaller, yeterince metabolize edilemedikleri için vücutta birikerek sitotoksik ve mutajenik etki gösterirler (Tayang ve Songachan, 2021). Tüm bu zararların giderilmesi veya en az seviyeye indirilebilmesi için gıdalarda ve sularda (Atasoy ve ark., 2011) ve diğer metryelerde ağır metal analizleri yapılır (Al-Jobory and Yücel, 2019; Mercan Yücel, 2022). Bu nedenle yüksek miktarda ağır metallerle maruz kalmak akut zehirlenme, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar ve kanser gibi kronik hastalıklara neden olacağından canlı sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Lim ve ark., 2019).

Dünya sağlık örgütü tarafından, toksik ağır metallerin içme suları ve atık sularda bulunmasına izin verilen maksimum sınır değerleri Çizelge 1’de gösterilmiştir (Raj ve ark., 2021).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO, 2017) ve Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'na (USEPA 2018) göre atık su arıtma atıklarındaki çeşitli ağır metaller için izin verilen limitler .

Ağır metal	İzin Verilen Sınırlar (WHO) µg/L	İzin Verilen Sınırlar (USEPA) µg/L	Sağlık tehlikeleri
Arsenik	500	*	Kanserojen, karaciğer tümörleri üreten, cilt ve mide-bağırsak etkileri
Civa	1	0,03	Ciltte, gözlerde ve kas zarında aşındırıcı, dermatit, anoreksi, böbrek hasarı ve şiddetli kas ağrısı
Kadmiyum	3	10	Kanserojendir, akciğer fibrozisine, nefes darlığına ve kilo kaybına neden olur
Kurşun	10	6	Kanserojen olduğundan şüpheleniliyor, iştah kaybı, anemi, kas ve eklem ağrıları, IQ kaybı, kısırlığa, böbrek sorununa ve yüksek tansiyona neden oluyor
Krom	50	50	Akciğer tümörleri üreten, alerjik dermatite neden olan insan kanserojeni olduğundan şüpheleniliyor
Nikel	20	200	Kronik bronşite, akciğer fonksiyonlarında azalmaya, akciğer ve nazal sinüs kanserine neden olur
Çinko	5000	*	“Metal dumanı ateşi” adı verilen kısa süreli hastalığa ve huzursuzluğa neden olur
Bakır	3000	*	Uzun süreli maruz kalma burun, ağız, gözlerde tahrişe, baş ağrısına, karın ağrısına, baş dönmesine, ishale neden olur.

* Veri mevcut değil.

Ağır metallerden kaynaklanan su kirliliği, bozunmayan özelliklerinden dolayı dünya çapında en zararlı kirliliklerden biridir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerika Birleşik Devletleri

Çevre Koruma Ajansı (USEPA, 2018)) tarafından şart koşulan ulusal ve uluslararası standartlara rağmen, içme suyunun maksimum konsantrasyonunun birkaç ila birkaç on $\mu\text{g/L}$ 'yi aşmaması gerektiğini vurgulamıştır (USEPA, 2018). Ağır metaller ekosistemde birikebilir ve gıda yoluyla insan vücuduna girebilir. Tablo1'e göre Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO, 2017) ve Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'na (USEPA, 2018) göre çeşitli ağır metallerin kabul edilebilir sınırlamalarını özetlemektedir. Bu nedenle kanalizasyon sulama, egzoz emisyonları ve madencilik de dahil olmak üzere ağır metallerdeki atık sulardan tamamen uzaklaştırmak için etkili, hızlı, güvenilir ve doğru yöntemlere duyulan ihtiyaç, güvenli içme suyumuz için giderek daha önemli hale gelmiştir. Ağır metaller doğada bozunmadığı için doğal kaynakları kirletmektedir. Sularda bulunan kadmiyum, krom, arsenik, kurşun ve civa gibi ağır metaller eser düzeylerde dahi insan sağlığı açısından oldukça toksiktir (Atasoy ve ark., 2011;Vidu, 2020).

Adsorpsiyon

Adsorpsiyon prosesi, atık sudaki toksik metallerin arıtılmasında en etkili ve beğenilen prosestir. Bu süreçte toksik madde fiziksel veya kimyasal yollarla adsorbanın mevcut yüzeyine kaydırılır (Han ve ark., 2016). Adsorpsiyon işlemi ucuz bir yöntemdir ve işletme maliyeti çok düşüktür ve geleneksel yöntemlere göre toksik metalin ekstraksiyonu işlemi sırasında daha az kirlenmeye neden olur. Adsorpsiyon yöntemlerinde, sorbentler etkili bir şekilde uzaklaştırılması için birkaç kez yeniden üretilebildiği gibi yeniden de kullanılabilir ve dolayısıyla çevre dostu bir yöntem olarak kabul edilir (Raval ve ark., 2016). Adsorbanların seçimi için gereken ana özellikler, fiyat etkinliği, geniş yüzey alanı, gözenek boyutu dağılımı, fonksiyonel kısmın varlığı ve adsorpsiyon yöntemlerinin etkinliğini belirleyen sorbentin polar özellikleridir (Koedrith ve ark., 2013). Bu nedenle adsorpsiyon sürecini anlamak önemlidir. Adsorpsiyon, çözeltide bulunan ve genellikle katı bir madde olan adsorbanın yüzeyinde biriken çözünen maddenin kütle

taşıma yöntemidir (Karnitz ve ark., 2007). Adsorban ve adsorbant arasında fiziksel ve kimyasal etkileşimler olmak üzere iki tür kuvvet vardır. Fiziksel kuvvetler zayıftır ve adsorbe edilen moleküller adsorbanlara herhangi bir yerde bağlanabilir, bu da fiziksel kuvvetlerin doğası gereği spesifik olmadığı anlamına gelir. Kimyasal adsorpsiyon doğası gereği spesifiktir ve adsorbat, adsorbanlara kovalent veya elektrostatik bağlar yoluyla bağlanır. Fiziksel adsorpsiyon durumunda kuvvetler Van der Waals, dispersiyon etkileşimleri ve hidrojen bağlarıdır (Gupta ve ark., 2021).

Adsorpsiyon son yıllarda önemli bir ilgi alanı olmuştur ve en son araştırmaların çoğu düşük maliyetli adsorbanların belirlenmesine odaklanmıştır (Barakat, 2011). Yer fıstığı kabuğundan sentezlenen aktif karbonun (Naushad ve ark., 2019), alizarin kırmızısı-S yüklü amberlit IRA-400 anyon değiştirme reçinesinin (Kumar ve Kumar 2019), nişasta/SnO₂'nin kullanılmasını içeren yeni adsorbanlardaki bazı son gelişmelerle birlikte yeni adsorbanların sentezlenmesi için de araştırma çalışmaları yapılmaktadır. Nanokompozit (AL- ve Ali, 2012), Fe₃O₄ nanokompozitleri (Naushad ve ark., 2016), MOF (metal organik çerçeve) bazlı kompozitler (Naushad ve ark., 2016; Alqadami ve ark., 2017), nitrojen katkılı mezogözenekli karbon içeren nikel ferrit (NiFe₂O₄-NC), toksik ağır metallerin giderilmesi için nanokompozit katyon değiştirici sodyum dodesil sülfat akrilamid Zr(IV) selenit (SDS-AZS) (Alqadami ve ark., 2018) gibi. Bu tür adsorbanlar, onlara yüksek adsorpsiyon kapasitesi, rejenerasyon kapasitesi, yüksek yüzey alanı, mekanik ve termal stabilite gibi olumlu özellikler verecek şekilde özel olarak tasarlanmıştır (Naushad ve ark., 2017; Naushad, 2014). Şu anda aktif kömür tercih edilen adsorbandır, ancak yüksek maliyetler endişe vericidir (Gupta ve ark., 1998). Bu nedenle yenilenebilir kaynaklardan ucuz biyotürevli malzemeler uygun alternatiflerdir (Horsfall ve Spiff, 2006; Wang ve Tao, 2009). Adsorban olarak kullanılan yaygın biyo-adsorbanlar, biyotürevli ve endüstriyel atık ürünlerden bazıları bakteri (Zouboulis ve ark., 2004), mantarlar (Jianlong, 2002), algler

(Chojnacka ve ark., 2004), çay atığı (Chojnacka ve ark., 2004), pirinç kepeği (Singh ve ark., 2005), yumurta kabuğu (Arunlertaree ve ark., 2007), uçucu kül (Soo ve Kalemekiewicz, 2013) diğerleri arasındadır. Günümüzde atık sularda ağır metallerin neden olduğu ciddi sorunların azaltılması için fiziksel ve kimyasal olarak kararlı adsorban malzemelere ve/veya heterojen fotokatalizrlere dayalı yeni teknolojiler geliştirilmektedir. Aslında, ağır metal içeren atık suların arıtımı için iki ana giderim mekanizması diğerlerinin üzerinde ne çıkmaktadır: aşağıda kısaca açıklanan adsorpsiyon ve iyon indirgeme şu şekildedir.

Adsorpsiyona dayalı teknolojiler, endüstri kirliliğini azaltacak şekilde çevresel iyileştirmede, örneğin atık suyun, insan ve hayvan tüketimi için suyun ve diğer sulu atıkların saflaştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel olarak, ağır metal atomlarından veya iyonlarından oluşan bu yüzey olgusu, adsorbanın yüzeyi ile kimyasal veya fiziksel etkileşimler kurabilir; buradaki atomlar, komşu atomlar tarafından tamamen evrelenmediklerinden dolayı kütlede bulunan atomlardan daha yüksek enerjiye sahiptir (Matias ve ark., 2023).

Bu uygulama için uygun adsorban örnekleri zeolitler, metal oksitler, kil mineralleri, şelatlayıcı malzemeler, aktif karbon vb.'dir (Zamboulis ve ark., 2011). Bu tekniğin ana avantajları, operasyonel basitlik, çok yönlülük, düşük zaman tüketimi ve düşük maliyet (seçilen adsorbana bağlı olarak), belirli sayıda döngüden sonra adsorban malzemenin yeniden kullanılması için geri kazanılma olasılığı ve yüksek kapasitedir. Ağır metal iyonlarını yakalamak için bununla birlikte, bazı metal iyonları için oldukça seçicidir ve adsorban malzemeleri geri kazanma yeteneğine rağmen. Ayrıca rejenerasyon sonrasında toksik kalıntılar oluşabilmektedir (Soliman ve Moustafa, 2021). Ağır metal adsorpsiyonunun etkinliğini çeşitli faktörler etkiler. Adsorbatın başlangıç konsantrasyonu, adsorpsiyon prosesinin başlangıç aşamasında genel olarak hızın yüksek olmasını ve kararlı duruma ulaşılıncaya kadar azalmasını etkiler (Senberber ve ark., 2017). Sreedhar ve Reddy (2019), biyosorbent karışımları kullanarak endüstriyel atık sulardan ağır metallerin

uzaklaştırılmasında, bir elektrokimya endüstrisinden gelen atık sudan, ağır metal iyonlarını (Fe, Ni, Cu, As, Zn, Cd) çıkarmak için farklı bileşimlerdeki kalsiyum bentonit, uçucu kül ve buğday kepeği karışımlarıyla arıtılmışlardır. Metal iyonları arsenik, çinko ve kadmiyum tamamen uzaklaştırmayı başarmışlardır. Kısa bir dengede optimum koşullarda (Fe, Ni, Cu) metal iyonlarının giderilme yüzdesi $\text{Fe(II)}(\%96,73) > \text{Ni(II)}(\%74,03) > \text{Cu(II)}(\%70,70)$ sırasına göre olmuştur. Kirleticilerin uzaklaştırılması için en uygulanabilir yöntemin belirlenmesinde eklenen kimyasallar, adsorbanlar, başlangıç konsantrasyon, pH değeri ve diğer çalışma koşulları gibi parametreler oldukça önemlidir (Qasem ve ark., 2021). Ağır metal iyonlarının ekstraksiyonu için çok sayıda doğal adsorban sentezlenmiştir. Doğal adsorbanların adsorpsiyon verimleri aşağıda belirtilmiştir (Çizelge 2) (Gupta ve ark., 2021).

Çizelge 2 Toksik metal iyonlarının uzaklaştırılması için doğal adsorbanların adsorpsiyon kapasitelerinin karşılaştırılması.

Çizelge 2

Toksik metal iyonlarının uzaklaştırılması için doğal adsorbanların adsorpsiyon kapasitelerinin karşılaştırılması.

S.No.	Adsorban	Metal İyonu/Adsorpsiyon Kapasitesi
1	Lignin	$\text{Pb}^{2+} = 1865 \text{ mg/g}$, $\text{Zn}^{2+} = 95 \text{ mg/g}$
2	Kitosan (toz)	$\text{Cd}^{2+} = 420 \text{ mg/g}$
3	Kitosan (boncuklar)	$\text{Cd}^{2+} = 518 \text{ mg/g}$
4	Deniz yosunu kahverengi algler	$\text{Cd}^{2+} = 67 \text{ mg/g}$
5	<i>A. nodosum</i> deniz yosunu	$\text{Cd}^{2+} = 215 \text{ mg/g}$
6	Nişasta ksantat	$\text{Cd}^{2+} = 33,3 \text{ mg/g}$ $\text{Cr}^{2+} = 17,6 \text{ mg/g}$ $\text{Hg}^{2+} = 1,15 \text{ mg/g}$
7	Selüloz ksantat	$\text{Cd}^{2+} = 19,9 \text{ mg/g}$ $\text{Cr}^{2+} = 19,7 \text{ mg/g}$ $\text{Hg}^{2+} = 0,64 \text{ mg/g}$
8	Ksantatlı talaş	$\text{Cd}^{2+} = 21,4 \text{ mg/g}$ $\text{Hg}^{2+} = 30,1 \pm 40,1$
9	Zeolitler	$\text{Pb}^{2+} = 155,4 \text{ mg/g}$ $\text{Cd}^{2+} = 84,3 \text{ mg/g}$ $\text{Cr}^{3+} = 26,0 \text{ mg/g}$ $\text{Hg}^{2+} = 150,4 \text{ mg/g}$

Kimyasal Çöktürme Yöntemi

Kimyasal çöktürme, hidroksitler, karbonatlar, sülfürler, sülfatlar, fosfatlar, klorürler ve sodyum borohidrit gibi çeşitli çöktürücü maddeler kullanılarak çözünür metal iyonlarını çözünmeyen metal bileşiklerine dönüştürme işlemidir ve bunu genellikle bir ayırma adımı (sedimentasyon, çöktürme, çöktürme) filtreleme, çöktürme ve santrifüjleme) (Serrano ve ark., 2021; Howe ve ark., 2012) takip eder.

Kimyasal Çöktürme Yöntemi atık sudaki iyonik bileşenleri uzaklaştırmak için kimyasal çöktürme yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem; çöktürücü maddelerin eklenmesiyle, çözünür bileşiği çözünmez bir forma dönüştüren kimyasal bir reaksiyonla sonuçlanır. Çoğu metal uygun çökelme pH'ında hidroksit olarak çöktürülür, ancak sülfür ve karbonat çöktürmesi gibi diğer yöntemler de yaygın olarak kullanılmaktadır (Tseng ve ark., 2018; BrbootI ve ark., 2011). Fe(III), Cr(III), Cu(II), Pb(II), Ni(II) ve Cd(II)'nin giderilmesi için kireç (CaO) and kostik soda (NaOH) yerine magnezyum oksit (MgO) kullanımının etkinliğini araştırmışlardır. Çöktürücü ajan olarak MgO kullandıklarında; çamurun taneli, yoğun, kolayca çökebilir ve suyu alınmış durumda olduğunu, CaO kullandıkları durumunda ise düşük çökelme hızı ve susuzlaştırma zorluğu gözlemlendiğini bildirmişlerdir (BrbootI ve ark., 2011). Bir başka çalışmada, asitli toprak tuzlu su sızıntı suyundan ağır metallerin uzaklaştırılması için kimyasal çöktürme yöntemi uygulanmıştır. Ca(OH)₂ kullanılarak yapılan kimyasal çöktürme işleminin Cr, Cu, Ni ve Zn metallerini azaltmada etkili olduğu ancak Cd ve Pb'yi azaltmadığı tespit edilmiştir (Meunier ve ark., 2006). Kimyasal çöktürme tekniği, basit ve kolay çalıştırılabilir ekipman gerektiren en ucuz teknolojilerden biri olarak 5 görünse de yöntemin büyük miktarda toksik çamur üretmesi olumsuz sorunlar teşkil etmektedir. Ayrıca düşük konsantrasyonlu metallerin uzaklaştırılması için de yetersiz kalmaktadır (Shrestha ve ark., 2021).

Atık sudaki iyonik bileşenlerin uzaklaştırılması, kimyasal çöktürme kullanılarak gerçekleştirilir. Bu method; Bir maddenin

çözünür durumdan çözünmez duruma dönüştürülmesi işlemine kimyasal işlem denir. Bu dönüşüm, çöktürücü maddelerin kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Bir reaksiyon meydana geldiğinde, genellikle sonuçta ortaya çıkan bir etkiye yol açar. Belirli bir çökelme pH değerinde metallerin çoğunluğu hidroksit olarak çökelecektir. Ancak hem kükürt hem de yaygın olarak kullanılan karbonat çöktürmesinin yanı sıra kullanılan çeşitli yöntemler de vardır (Tseng ve ark., 2018). BrbootI ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışma araştırma alanına önemli bir katkı sağlamaktadır. Fe(III), Cr(III), Cu(II), Pb(II), Ni(II) ve Cd(II)'nin eliminasyonu kireç (CaO) ve kostik soda (NaOH) kullanılarak sağlanabileceği ve çöktürücü olarak magnezyum oksidin (MgO) ikame edilmesinin etkinliği, araştırmalarının konusunu oluşturmaktadır. Çamur, kullanıldığında tipik olarak granüler ve yoğun olarak karakterize edilir, kolayca çökelme eğilimi gösterirken aynı zamanda dehidrasyona da eğilimlidir. CaO genellikle karışıma katılan ilave bir bileşendir. Çalışmalarına göre (BrbootI ve ark., 2011), bu yöntemin kullanılması, düşük sedimentasyon hızının gözlemlenmesine ve susuzlaştırma ile ilişkili komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Meunier ve ark. (2006)'da bir araştırmada, asidik toprak tuzlu su sızıntısının, kimyasal maddeler kullanılarak ağır metallerin başarılı bir şekilde çıkarılabileceğini keşfetmişlerdir. Bu süreçte çöktürme yöntemi kullanılmıştır. Kimyasal çöktürme için Ca(OH)_2 kullanılarak Cr, Cu, Ni çökeltmesine yol açtığı ve çalışmada, Cd ve Pb üzerinde aynı etkiye sahip olmasa da, Zn metallerinin seviyelerini azaltmada etkili olduğunu keşfetmişlerdir (Meunier ve ark., 2006).

Ters Osmoz

Ters osmoz Oldukça hassas bir membran filtrasyon yöntemidir. Genel olarak endüstriyel atıksu arıtımında çözünmüş Sudaki organik ve inorganik maddelerin uzaklaştırılması veya geri dönüştürülmesi amacıyla kullanılır. Basınçlı sistemlerdir. Selüloz, polietir ve poliamid gibi çeşitli membranlar filtrasyonu kullanılır. Bu süreçte serbest enerji, basınç, pH değeri ve çalışma süresi gibi bir

çok parametre (İnce ve Kaplan-İnce, 2019) vardır. Bu sistemde su, membrandaki gözeneklerden yüksek basınç iletilir. Su molekülleri ve bazı inorganik moleküller gözeneklerden geçebilirken sudaki birçok madde gözeneklerden geçemediği için konsantre su olarak dışarı atılır. Bu süreç sayesinde yüksek kalite ve gerekli miktarda su elde edilir (Gupta ve ark., 2012; Acar, 2022).

İyon Değişimi

İyon Değişimi düşük enerji içeriği gerektiren bir prosestir. Bu nedenle organik ve inorganik maddelerin düşük derişimlerinin (250 mg/L'e kadar) uzaklaştırılmasında etkin olarak kullanılmaktadır. İyon değiştirme yöntemi, içme ve endüstriyel atık suların arıtılması, suların yumuşatılması ve deiyonizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Çevre ve sağlık açısından toksik olan kromun endüstriyel atık sulardan gideriminde kullanılan bir yöntem olmasının yanı sıra, iyon değiştirici reçinelerdeki yağ, gres, silika, organik madde birikimi ve mikroorganizmalardan kaynaklanan kirlilikten dolayı fazla tercih edilmemektedir (Gupta ve ark., 2012). Bu yöntemin dezavantajı; değişim matrisinin atıktaki organik ve diğer katılar tarafından kolayca kirlenmesi nedeniyle konsantre metal çözeltisi kullanılması durumunda etkili olamamasıdır (Baysal ve ark., 2013).

İyon değişimi sürecinde kullanılacak iyon değiştiricilerin kimyasal, fiziksel ve ısıl kararlılık, kontrollü ve etkin değişim kapasitesi, homojenlik, hidrofilik yapı, hızlı iyon değişim özellikte olmalarının yanı sıra, maliyetinin de makul seviyelerde olması oldukça önemlidir. En sık kullanılan iyon değiştiriciler arasında sodyum silikatlar, zeolitler, polistiren sülfonik asit, akrilik ve meta-akrilik reçineler yer almaktadır (Gupta ve ark., 2012; Soylu ve Gökkuş, 2017).

Nanofiltrasyon

Nanofiltrasyon (NF), molekül ağırlığı >1000 Da olan bileşenleri konsantre etmek ve boyutu 0,0005–0,007 µm olan ve

molekül ağırlığı >200 Da60 olan çözünen maddeleri uzaklaştırmak için kullanılır. Bu nedenle, NF'nin çalışma aralığı UF ile ters ozmoz (RO) işlemleri (Fu ve Wang) arasındadır. NF membranları, negatif yüklü kimyasal grupların çok katmanlı ince filmlerinden oluşan polimer kompozitlerden oluşur. Nanomalzemeler, yüksek yüzey alanları, geliştirilmiş aktif bölgeleri ve yüzeylerinde bulunan fonksiyonel gruplar nedeniyle ağır metallerin atık sudan uzaklaştırılmasında etkili adsorbanlardır (Gopalakrishnan ve ark. 2015). Grafen, iki boyutlu yapıya, yüksek spesifik yüzey alanına ve iyi kimyasal stabiliteye sahip, karbon bazlı bir nanomateriyaldir. Saf grafen, grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit gibi çeşitli formlarda mevcuttur. Grafen, ağır metallerin uzaklaştırılması için hidrofilik gruplar eklemek üzere oksitlenebilir (Thangavel ve Venugopal 2014).

Benzersiz özellikleri nedeniyle nanomalzemeler günümüzde ulaşım endüstrisi, inşaat malzemeleri, enerji depolama, elektronik cihazlar, çevre, tıp, kozmetik vb. gibi çok çeşitli sektörleri kapsayan farklı pratik uygulamalar bulmuştur. Bu olağanüstü özellikler, yığın fazlara kıyasla Nanometre ölçeğinde en az bir boyuta sahip olan nanomalzemelerin küçük boyutundan ve yüksek spesifik yüzey alanından kaynaklanmaktadır. Tıbbi ve farmakolojik uygulamalar nanoteknolojinin en alakalı kullanımlarından biridir. Son yıllarda, nanomalzemeler hem daha küçük numunelerden biyolojik molekülleri tespit etmek için minyatürleştirilmiş yüksek hassasiyetli biyosensörlerin geliştirilmesinde hem de yenilikçi tedavilerin geliştirilmesine katkıda bulunan optimize edilmiş ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılmıştır. Örneğin, ilaç taşıma, ilaç yönetim sistemlerini optimize etme ve DIANA bölgesinde ilacın daha yüksek biyoyararlanımını sunma amacıyla çeşitli polimerik nanomateriyaller uygulanmıştır (Damodharan, 2021). Ayrıca nitrik oksit salgılayan nanopartiküller, umut verici yara iyileştirme ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı büyük ilgi görmüştür (Matías ve ark. 2023). Nanomateriyaller aynı zamanda yüksek reaktivite, güçlü mekanik özellik, nano boyut, gözeneklilik karakterleri, geniş yüzey alanı, hidrofobiklik, dağılılabilirlik ve güçlü çözelti hareketliliği gibi

ağır metallerin adsorpsiyon işlemleriyle sudan uzaklaştırılması için birçok olağanüstü özelliğe sahiptir (Vidu ve ark., 2020; Yaqoob ve ark.2020). Bunlar sadece ağır metalleri verimli bir şekilde adsorbe etmekle kalmaz, aynı zamanda ağır metallerin iyonik indirgenmesi ve redoksa duyarlı organik kirleticilerin fotokatalitik mekanizmalar yoluyla eş zamanlı bozunması için yararlı olan olumlu redoks özelliklerine de sahiptirler (Liu ve ark., 2015). Ancak nanopartiküllü malzemelerin yeniden kullanımı veya bu mümkün olmadığında nihai imhası hakkında çok az bilgi mevcuttur. Adsorpsiyon süreci geri dönüşümlü olduğundan, çoğu durumda nanopartiküllü adsorbanlar desorpsiyon yoluyla yeniden üretilebilir (Sharma ve ark., 2019). Emici malzemenin kullanım döngüleri boyunca kirleticilerin adsorpsiyon kapasitesinin kabul edilebilir değerlerde tutulması gerektiği göz önüne alındığında, bu hususun araştırılması özellikle önemlidir. Ayrıca kullanım ömrü sona erdiğinde zehirli ve tehlikeli bir atık haline gelmeyecek şekilde arıtılması gerekmektedir (Matias ve ark., 2023).

Ultrafiltrasyon

Ultrafiltrasyon (UF), düşük transmembran çalışma basıncında kullanılır. UF membran gözenekleri ağır metal iyonlarından daha büyük olabileceğinden, metal iyonlarının boyutunu büyütme için metal iyonlarına katkı maddeleri bağlanabilir. Bu nedenle, misel ile güçlendirilmiş ultrafiltrasyon ve polimerle güçlendirilmiş ultrafiltrasyon önerilmektedir. MEUF, UF ve yüzey aktif maddenin bağlanmasıyla oluşur. MEUF'un yüksek akım ve yüksek seçiciliği vardır, bu da düşük enerji tüketimine, yüksek temizleme verimliliğine ve daha az alan talebine yol açar. MEUF, ağır metallerin düşük konsantrasyonlarda olduğu atık sular için en uygun olanıdır (Rahmati ve rk., 2017; Huang ve ark., 2017).

Mikrofiltrasyon

Mikrofiltrasyon (MF), mikron boyutundaki parçacıkları, bakterileri, virüsleri, protozoaları, kirletici maddeleri, kirletici maddeleri vb. bir solvent/sıvı/çözültiden 60 çıkarmak için mikro

gözenekli bir membran kullanır. MF işlemi aynı zamanda membran gözenekleri 0,1-10 µm60 aralığında olan, düşük basınçla çalışan bir membran işlemidir. MF membranlarının bazıları silika, seramik, zirkonya, alümina, PVC, polisülfon, PTFE, polipropilen, PVDF, poliamidler, polikarbonat, selüloz asetat, selüloz esterler veya kompozit malzemelerden yapılmıştır. MF'nin ticari uygulaması farmasötik ve biyolojik endüstrilerde yaygın olarak uygulanır. Bununla birlikte, MF sisteminin uygulaması, yarı iletken endüstrisinde durulama suyundaki partiküllerin uzaklaştırılmasında, diğer meyve suları ve atık su arıtımında bulunabilir. MF'nin ağır metal gideriminde uygulanması, gideriminin düşük olması nedeniyle yeterince ilgi görmemiştir. Bununla birlikte, besleme çözeltisinin membranını değiştirerek veya kimyasal ön işleme tabi tutarak da kullanılmıştır (Wang ve ark., 2011; Qasem ve ark., 2021).

Elektrokimyasal ayırma işlemleri

Su ortamına uygun elektrotlar ile verilen elektrik akımı sayesinde gerçekleşen bir arıtım yöntemidir. Elektrokimyasal arıtmanın etkinliği, suyun iletkenliği, akımın yoğunluğu, kullanılan elektrotların türü ve söz konusu elektrotların yüzey alanı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Elektrotların, özellikle Alüminyum (Al^{3+}) ve Demir'in (Fe^{3+} , Fe^{2+}) elektrokimyasal aktivitesi gösterilmiştir. Saflaştırma işlemlerinde en sık kullanılan elektrotlar, elektrokimyasal arıtma yöntemlerinde kullanılan elektrotlardır. Bu yöntemler özellikle ağır metallerin uzaklaştırılmasında etkilidir. Bu özel araç, organik madde, yağ, fenol ve nitrat kirliliğinin ortadan kaldırılmasının yanı sıra içme suyu ve evsel atık suyun arıtılması da dahil olmak üzere çok sayıda uygulamada kullanım alanı bulmaktadır. Bu uygulamanın faydaları birden fazla alana yayılmaktadır (Özyonar ve Karagözoğlu, 2012; Acar ve Acar 2022). Bu avantajlar arasında olağanüstü metal seçiciliği, tamamlayıcı kimyasallara gerek olmaması ve yüksek düzeyde etkinlik sayılabilir. Yüksek temizleme verimliliği, hassas operasyonel kontrol ve azaltılmış çamur üretimi gibi özellikler bu sistemin dikkate değer özelliklerinden bazılarıdır. Faydaları olsa da, pH seviyelerine duyarlı

olan süreç, pahalı elektrotların kullanılmasını gerektirir. Bu yöntemin kullanılmasıyla elektriğin maliyeti artar. Ayrıca yalnızca yüksek konsantrasyonlarda etkilidir ve aynı zamanda tehlikeli bileşiklerin oluşma riski de vardır.

Elektrokimyasal arıtma işlemleri ilk olarak mineraloji endüstrisinde cevherlerin elektro rafinasyonu için kullanıldı. Araştırmacılar, enerji tüketimi ihtiyacı ve özel ekipmana ilk yatırım yapılması nedeniyle işlem maliyetlerinin artmasına neden olması nedeniyle bunları kullanmak konusunda endişeliydi. Verimliliğini ve ekipmanın az bakım gerektirdiğini ortaya koyan çalışmalardan sonra, bu yöntemlerin metal iyonları içeren su arıtma proseslerinde kullanımı giderek daha umut verici hale geldi. Suyun metal iyonları içeriğiyle arıtılmasına yönelik elektrokimyasal işlemler, elektrokoagülasyon, elektroflokülasyon ve elektrodpozisyon olarak ayrılabilir.

Elektrokoagülasyon işlemi, aynı veya farklı malzemelerden olabilen seçici elektrotları içeren basit bir elektroliz hücresinde gerçekleşir. Çoğu durumda elektrotlar Fe^{3+} veya Al^{3+} dan oluşur. Elektrokoagülasyon işlemi, anotun çözünmesi, katotta H^2 ve HO^- oluşumu, pıhtılaştırıcı ($Al(OH)_3$) oluşumu, elektrik akımı verilerek metal iyonlarının kararsızlaştırılması ve nötrleştirilmesi, kararsızlaştırılmış metal iyonlarının ve kümelerin toplanmasından oluşur (Jagwani ve Dohare, 2018; Mao ve ark., 2021). Bu prosesin ana avantajı ilave reaktiflere ihtiyaç duyulmaması ve pıhtılaştırıcının oluşmasıdır.

Elektroflotasyon durumunda, kararsız hale gelen ağır metaller, elektrotlardan gelen reaksiyonlarla açığa çıkan oksijen ve hidrojen moleküllerine yapışarak sıvının yüzeyine doğru yüzerek uzaklaştırılırlar. Oluşan çamur bu durumda daha iyi stabilite sunar ve işlem daha kısa sürer. Çoğu zaman elektrokoagülasyon ve elektroflokülasyonun bir kombinasyonu kullanılır (Belkacem ve ark., 2008). Elektrodpozisyon, çözülmüş metallerin geri dönüştürülmesi ve yeniden kullanılması amacıyla seçici olarak geri kazanılmasında etkili bir yöntemdir. İlave reaktif gerektirmemesi ve çamur

oluşmaması nedeniyle avantajlıdır. Atık sudan çözünmüş metaller reaksiyona göre katotta biriktirilir. Bu durumda geri kazanılan metallerin kirlenmemesi için anodun çözünmez olması tercih edilir (Howe ve ark., 2012). Proses, reaksiyon sırasında hidrojen gazı oluşumu gibi yan reaksiyonlar meydana gelebilir (Zhang ve Duan, 2020). Bu yöntem seçicidir ancak arıtılacak suyun bileşimine duyarlıdır ve verim, hidrojen oluşumunun yan reaksiyonundan olumsuz etkilenir (Howe 2012).

Pıhtılaşma – flokülasyon

Pıhtılaşma – flokülasyon, metal iyonlarının su ve atık sudan uzaklaştırılmasının üç adımdan oluşan fiziksel-kimyasal bir işlemdir. İlk adımda, kolloidal maddenin stabilitesini bozma rolüne sahip olan bir pıhtılaşma maddesi kuvvetli bir şekilde karıştırılarak eklenir. Kuvvetli karıştırma, metal iyonları ile pıhtılaştırıcı arasındaki teması kolaylaştırır. İkinci aşamada, hafifçe karıştırılarak, kolayca ayrılabilen büyük topakların oluşturulması amacıyla dengesizleştirilmiş parçacıkların birleşmesini sağlama rolüne sahip bir topaklaştırıcı eklenir. Parçacıklar arasındaki çarpışma ve topakların büyümesi, reaksiyon kütlelerinin hafifçe karıştırılmasıyla kolaylaştırılır. Üçüncü aşamada ortaya çıkan çamur ve arıtılmış atık sular ayrıştırılır. Ayırma çöktürme, yüzdürme veya filtreleme yoluyla yapılabilir (Mishra ve Singh, 2021; Qasem ve ark., 2021).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Ağır metaller canlının türüne, beslenmesine, sağlık durumuna, genetik yapısına, metal iyonunun yapısına, kimyasal özelliklerine, maruz kalma şekline ve konsantrasyonuna bağlı olarak toksik etki göstermektedir (Hughes, 2006). Ağır metaller yalnızca insan sağlığına zarar vermekle kalmaz, aynı zamanda çevreyi ve deniz ekosistemlerini de etkiler ve sudaki yaşam için önemli bir sağlık tehdidi oluşturur (Sousa ve ark., 2010; Tunalı ve ark., 2006).

Tüm kirleticiler arasında ağır metaller suda bulunan en yaygın kirletici maddedir. Ağır metaller, özel yoğunluğu 5 g/cm³'ün

üzerinde olan elementler olarak tanımlanır (Jaishankar ve ark., 2014). Bu sınıflandırma eser konsantrasyonlar için kritik elementleri kapsar (örneğin demir, vanadyum, kobalt ve bakır, manganez, çinko, stronsiyum ve molibden). Ancak eşik miktarın aşılması durumunda canlı sistemlerde birden fazla hasara rastlanabilmektedir (Luo ve ark., 2011). Ağır metaller atmosferde hem doğal (örneğin toprak erozyonu, yer kabuğunun aşınması, volkanik patlamalar) hem de antropojenik kaynaklardan (örneğin madencilik ve mineral (Morais ve ark., 2012), kömürün yakılması, kanalizasyon atık suları, otomobillerden zehirli gazların salınması, akü imalat sanayileri, maden çıkarma faaliyetleri, deri sanayileri, alaşım sanayileri ve yenilenemeyen enerji tüketimi gibi çeşitli yollarla doğaya sızmaktadır. (Bratjer ve Dabek-Zlotorzynska 1990). Ağır metaller atmosferde çürümediğinden, çevresel bölümlerde (hava, toprak ve su gibi) birikimleri uzun vadede bunların insan tüketimine yönelik gıda ve suya geçişine katkıda bulunabilir (Escudero ve ark., 2018). Bu önemli bir çevre sorunudur ve bilim adamlarını, ağır metallerin kirli çevre kaynaklarından uzaklaştırılmasını sağlayacak yeni teknolojilere odaklanmaya teşvik etmektedir. Ağır metaller metabolik aktivitelere ve enzim inhibitörlerine karşı zehir görevi görür (Jan ve ark., 2015). Bu toksik metaller biyolojik olarak parçalanmaz ve canlılarda birikerek farklı hastalık ve rahatsızlıklara neden olur. Birçok endüstriden deşarj edilen atık sulardaki ağır metal iyonlarını bağlamak için filtrasyon, kimyasal yöntemlerle çöktürme, nötrleştirme, iyon değişimi ve adsorpsiyon gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Beauvais ve Alexandratos, 1998; Kantipuly ve ark., 1990; Reed ve ark., 1997; Mishra ve ark., 2021). Son yirmi yılda, ağır metallerin tarımsal, endüstriyel veya kentsel kalıntılar gibi çevre dostu ve ekonomik malzemelerle adsorpsiyonu, kirleticilerin sulu deşarjdan uzaklaştırılmasında umut verici bir teknoloji ortaya çıkarmıştır (Kumar ve ark., 2016). Günümüzde araştırmacılar, ağır metaller, sentetik renkler, çökeltiler, kimyasallar, radyoaktifler, farmasötikler ve diğer atık maddeler gibi çeşitli kirleticilerin doğal döngülerden etkili bir şekilde uzaklaştırılması üzerinde çalışıyorlar (Reddy ve Lee, 2013). Literatür taramasına bakıldığında metal

iyonlarını sudan uzaklaştırmaya yönelik her yöntemin avantaj ve dezavantajları vardır. Birinin veya diğerinin seçimi, teknikteki bilgi, özel işlemle ilgili deneyim, giriş maddesinin bileşimi, arzu edilen uzaklaştırma verimliliği ve çalışma koşulları gibi çeşitli koşullara dayalı olarak yapılır. Bazen istenen sonucu elde etmek için iki veya daha fazla yöntem birleştirilir. Kimyasal çöktürme genellikle yüksek düzeyde ağır metal içeren suları arıtmak için kullanılır. Düşük sermaye maliyeti, basit çalışma koşulları, yüksek işleme verimliliği vardır ve otomatikleştirilmesi kolaydır. Bununla birlikte, bazı durumlarda, daha yüksek bir uzaklaştırma derecesi elde edilse bile, kalan konsantrasyon yine de izin verilen maksimum konsantrasyonun altına ulaşmaz, bu nedenle ileri düzenleyici yöntemlere ihtiyaç vardır. Koagülasyon-flokülasyon işlemlerinin kullanılması durumunda da aynı dezavantajlarla karşılaşmaktadır. Kimyasal çökeltme veya pıhtılaşma-topaklama işlemlerinin verimliliği aynı zamanda ortaya çıkan çamurun uzaklaştırılmasında kullanılan yöntemin etkinliğine de bağlıdır. İyon değiştirme işlemleri ve adsorpsiyon işlemleri, düşük miktarda metal iyonu içeren büyük hacimli atık suyun arıtılması için kullanılır. Adsorpsiyon prosesleri, düşük maliyetleri, kolay çalışması ve mevcut adsorban materyallerin, özellikle de düşük maliyetli adsorbanların çokluğu nedeniyle sulu çözeltilerden ağır metallerin uzaklaştırılmasında en umut verici arıtma prosesidir. Ayrıca bu durumda adsorban malzemelerin yenilenmesi ve yeniden kullanılması sorunu ortaya çıkmaktadır. Elektrokimyasal prosesler, metal iyonlarının seçici olarak uzaklaştırılması ve kimyasal reaktiflerin ilave tüketimine gerek kalmadan bunların geri kazanılması ve yeniden kullanılması olasılığına sahip olma avantajına sahiptir. Aynı zamanda yüksek enerji tüketimi dezavantajını da beraberinde getiriyor. Nanomateryaller de aynı zamanda yüksek reaktivite, güçlü mekanik özellik, nano boyut, gözeneklilik karakterleri, geniş yüzey alanı, hidrofobiklik, dağılıbilirlik ve güçlü çözelti hareketliliği gibi ağır metallerin adsorpsiyon işlemleriyle sudan uzaklaştırılması için birçok olağanüstü özelliğe sahiptir. Belirtildiği gibi, sulu atıkların

iyileştirilmesi için nanopartikülat yarı iletken oksitlerin uygulanması birçok avantaja sahiptir ve çeşitli geçiş veya soy metallerin ve diğer kirleticilerin konsantrasyonunda önemli azalmalarla sonuçlanır. Yarı iletken oksit bazlı fotokatalizörler, toksik olmama, mükemmel fotokimyasal stabilite, mükemmel oksitleme gücü, kimyasal inertlik, yüksek bolluk, düşük maliyet ve çevre dostu doğa nedeniyle çevresel konulardaki çeşitli potansiyel uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Atık sulardan ağır metallerin uzaklaştırılması için uygun maliyetli malzeme ve yöntemlerin tanıtılmasına yönelik daha fazla araştırma yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Acar B. Ç., Acar M. B. (2022). Kimyasal Yöntemlerle Atık Sulardan Ağır Metal Giderimi. GÜFFD, 3(1), 1-13.
2. AL-Othman, Z.A., Ali, R., Naushad, M. (2012). Hexavalent chromium removal from aqueous medium by activated carbon prepared from peanut shell: adsorption kinetics, equilibrium and thermodynamic studies. Chem Eng J, 184, 238-247.
3. Al-Jobory, A.A.S., Yücel, U.M. (2019). Analysis of some heavy metals accumulation in water, sediment and tissues of different fish species from the razzaza lake, Iraq. Fresenius Environ Bullet 28(7), 5041-5051
4. Alqadami, A.A., Naushad. M., Abdalla, M.A., Ahamad, T., ALOthman, Z.A., Alshehri, S.M., Ghfar, A.A. (2017) Efficient removal of toxic metal ions from wastewater using a recyclable nanocomposite: a study of adsorption parameters and interaction mechanism. J Clean Prod, 156, 426-436.
5. Arunlertaree, C., Kaewsomboon, W., Kumsopa, A., Pokethitiyook, P., Panyawathanakit, P. (2007). Removal of lead from battery manufacturing wastewater by egg shell. Songklanakarin J Sci Technol, 29, 857-868.
6. Atasoy N, Mercan U, Alacabey I, Kul AR (2011) Levels of heavy metals and certain macro elements in potable and tap water at Van City Center. Hacettepe J Biol Chem, 39, 391-96.
7. Barakat, M.A. (2011). New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. Arab J Chem, 4, 361-377.
8. Baysal, A., Ozbek, N., Akman, S. (2013). Determination of trace metals in waste water and their removal processes. Waste Water-Treatment Technologies and Recent Analytical Developments, 1, 145-171.
9. Belkacem, M., Khodir, M., Abdelkrim, S. (2008). Treatment characteristics of textile wastewater and removal of heavy

metals using the electroflotation technique. *Desalination*, 228, 245-254.

10. Beauvais, R.A., Alexandratos, S. D. (1998). Polymer-supported reagents for the selective complexation of metal ions: An overview. *React. Funct. Polym*, 36, 113-123.

11. Bratjer, K., Dabek-Zlotorzynska, E. (1990). Separation of Metal Ions on a Modified Aluminum Oxide. *Talanta*, 37-613.

12. Brbooti, M.M., Abid, B.A., Al-Shuwaiki, N. M. (2011). Removal of heavy metals using chemicals precipitation, *Eng. Technol. J.*, 29, 595-612.

13. Chojnacka, K., Chojnacki, A., Górecka, H. (2004). Trace element removal by *Spirulina* sp. from copper smelter and refinery effluents. *Hydrometallurgy*, 73, 147-153.

14. Damodharan, J. (2021). "Nanomaterials in medicine-an overview," *Materials Today: Proceedings*, 37, 383-385.

15. Escudero, L.B., Quintas, P.Y., Wuilloud, R.G., Dotto, G.L. *Green Adsorbents for Pollutant Removal*. Springer; Cham, Switzerland: 2018. Biosorption of metals and metalloids, 35-86.

16. Gopalakrishnan, A., Krishnan, R., Thangavel, S., Venugopal, G., Kim, S. J. (2015). Removal of heavy metal ions from pharma-effluents using graphene-oxide nanosorbents and study of their adsorption kinetics . *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 30, 14-19.

17. Gupta, V.K., Srivastava, S.K., Mohan, D., Sharma, S. (1998). Design parameters for fixed bed reactors of activated carbon developed from fertilizer waste for the removal of some heavy metal ions. *Waste Manag*, 17,517-522.

18. Gupta, V.K., Ali, I., Saleh, T.A., Nayaka, A., Agarwal, S. (2012). Chemical treatment technologies for wastewater recycling-an overview. *The Royal Society of Chemistry*, 2, 6380-6388.

19. Gupta, A., Sharma, V., Sharma, K., Kumar, V., Choudhary, S., Mankotia, P., Kumar, B., Mishra, H., Moulick, A., Ekielski, A., & Mishra, P. K. (2021). A Review of Adsorbents for Heavy Metal Decontamination: Growing Approach to Wastewater Treatment. *Materials*, 14(16).
20. Ghorai, S., Sarkar, A.K., Pal, S. (2014). Rapid adsorptive removal of toxic Pb^{2+} ion from aqueous solution using recyclable, biodegradable nanocomposite derived from templated partially hydrolyzed xanthan gum and nanosilica. *Bioresour Technol*, 170, 578-582.
21. Han, W., Fu F., Cheng Z., Tang B., Wu S. (2016). Studies on the optimum conditions using acid-washed zero-valent iron/aluminum mixtures in permeable reactive barriers for the removal of different heavy metal ions from wastewater. *J. Hazard. Mater*, 302, 437-446.
22. Horsfall, M., Abia, A.A., Spiff, AI. (2006). Kinetic studies on the adsorption of Cd^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} ions from aqueous solutions by cassava (*Manihot sculenta* Cranz) tuber bark waste. *Bioresour Technol*, 97, 283-291.
23. Howe, K.J., Hand, D.W., Crittenden, J.C., Trussell, R.R. (2012). *Su aritma prensipleri*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
24. Huang, J., Qi, F., Zeng, G., Shi, L., Li, X., Gu, Y., & Shi, Y. (2017). Repeating recovery and reuse of SDS micelles from MEUF retentate containing Cd^{2+} by acidification UF. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 520, 361-368.
25. Hughes, M.F. (2006). Biomarkers of exposure: a case study with inorganic arsenic. *Environ. Health Perspect*, 114, 1790-1796

26. İnce, M., Kaplan-İnce, O. (2019). Heavy Metal Removal Techniques Using Response Surface Methodology: Water/Wastewater Treatment. *Toxicity of Nanomaterials*, 1, 1-15
27. Jan, A., Azam, M., Siddiqui, K., Ali, A., Choi, I., Haq, Q. (2015). Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. *Int. J. Mol. Sci*, 16, 29592-29630.
28. Jaishankar, M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N. (2014) Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip. Toxicol*, 7,60.
29. Jagwani, M., Dohare, E.D. (2018). Electro Coagulation Applications in Water and Wastewater Treatment: A Review. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 9, 1430-1436.
30. Jianlong, W. (2002). Biosorption of copper (II) by chemically modified biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochem*, 37, 847-850.
31. Kantipuly, C., Katragadda S., Chow A., Gesser H.D. (1990). Chelating polymers and related supports for separation and preconcentration of trace metals. *Talanta*, 37, 491-517.
32. Karnitz, O., Jr., Gurgel, L.V.A., De Melo, J.C.P., Botaro, V.R., Melo, T.M.S., de Freitas Gil, R.P., Gil, L.F. (2007). Adsorption of heavy metal ion from aqueous single metal solution by chemically modified sugarcane bagasse. *Bioresour. Technol*, 98, 1291-1297.
33. Koedrith, P., Kim, H., Weon, J.-I., Seo, Y.R. (2013). Toxicogenomic approaches for understanding molecular mechanisms of heavy metal mutagenicity and carcinogenicity. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 216, 587-598.
34. Kumar, B., Smita, K., Sánchez, E., Stael, C., Cumbal, L. (2016). Andean Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) shell biomass

as new biosorbents for Pb ²⁺ and Cu ²⁺ ions. *Ecol. Eng*, 93, 152-158.

35. Kumar, P., Kumar, P. (2019). Removal of cadmium (Cd-II) from aqueous solution using gas industry-based adsorbent. *SN Appl Sci*, 1, 1-8.

36. Lim, J.T., Tan, Y.Q., Valeri, L., Lee, J., Geok, P.P., Chia S.E., Ong, C.N., Seow, W.J. (2019). Association between serum heavy metals and prostate cancer risk – A multiple metal analysis. *Environment International*, 132, 105-109.

37. Luo, C., Liu, C., Wang, Y., Liu, X., Li, F., Zhang, G., Li, X. (2011). Heavy metal contamination in soils and vegetables near an e-waste processing site, south China. *J. Hazard. Mater*, 186, 481-490.

38. Mao, M., Yan, T., Shen, J., Zhang, J., Zhang, D. (2021). Capacitive Removal of Heavy Metal Ions from Wastewater via an Electro-Adsorption and Electro-Reaction Coupling Process. *Environmental Science & Technology*, 55, 3333-3334.

38. Matías, H., S Lissarrague, Sameer Alshehri, Abdullah Alsalihi, Verónica L. Lassalle, Ignacio López Corral. (2023). "Heavy Metal Removal from Aqueous Effluents by TiO₂ and ZnO Nanomaterials", *Adsorption Science & Technology*.

39. Mishra, J., Saini, R., Singh, D. (2021). Review paper on removal of heavy metal ions from industrial wastewater effluents, *IOP Conf. Sherry. Material science and engineering*, 1168, 012027.

40. Morais, S., Costa, F.G., Pereira, M.D.L. (2012). Heavy metals and human health. *Environ. Health Emerg. Issues Pract*, 10, 227-245.

41. Meunier, N., Drogui, P., Montan' e, C., Hausler, R., Blais, J.F., Mercier, G. (2006). Heavy metals removal from acidic and saline soil leachate using either electrochemical coagulation or chemical precipitation, *J. Environ. Eng.*, 132, 545-554.

42. Mercan Yücel, U. (2022). Determination of Aflatoxin and Heavy Metal Levels in Some Spices Sold as Unpackaged in Van Province and Health Risks Assessment of Heavy Metals. *Balikesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 11(Supplement 1), 7-14.

43. Mercan U. Yücel, Atasoy N. (2019). Comparison of sample preparation methods for determination of heavy metals in cattle hair by ICP-OES. *Fresenius Environ. Bull.*, 28, 9620-9626.

44. Naushad, M., Ahamad, T., AlOthman, Z.A., Al-Muhtaseb, A.H. (2019). Green and eco-friendly nanocomposite for the removal of toxic Hg(II) metal ion from aqueous environment: adsorption kinetics & isotherm modelling. *J Mol Liq*, 279, 1-8.

45. Naushad, M., Vasudevan, S., Sharma, G., Kumar, A., Alothman, Z.A. (2016). Adsorption kinetics, isotherms, and thermodynamic studies for Hg²⁺ adsorption from aqueous medium using alizarin red-S-loaded amberlite IRA-400 resin. *Desalin Water Treat*, 57, 18551-18559.

46. Naushad, M., Ahamad, T., Al-Maswari, .BM., Alqadami, A.A., Alshehri, S.M. (2017). Nickel ferrite bearing nitrogen-doped mesoporous carbon as efficient adsorbent for the removal of highly toxic metal ion from aqueous medium. *Chem Eng J*, 330, 1351-1360.

47. Özbolat, G., Tuli, A. (2016). Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4), 502-521.

48. Qasem, N.A.A., Mohammed, R.H., Lawal, D.U. (2021). Removal of heavy metal ions from wastewater: a comprehensive and critical review. *Npj Clean Water*, (4), 36-41.

49. Rahmati, N. O., Pourafshari Chenar, M. & Azizi Namaghi, H. (2017). Removal of free active chlorine from synthetic wastewater by MEUF process using polyethersulfone/titania nanocomposite membrane. *Sep. Purif. Technol*, 181, 213-222.

50. Rahmati, N. O., Pourafshari Chenar, M. & Azizi Namaghi, H. Removal of free active chlorine from synthetic

wastewater by MEUF process using polyethersulfone/titania nanocomposite membrane. *Sep. Purif. Technol.* 181, 213–222 (2017).

51. Raj, A., Yadav, A., Rawat, A.P., Singh, A.K., Kumar, S., Pandey, A.K., Sirohi, R., Pandey, A. (2021). Kinetic and thermodynamic investigations of sewage sludge biochar in removal of Remazol Brilliant Blue R dye from aqueous solution and evaluation of residual dyes cytotoxicity. *Environmental Technology&Innovation*, 23, 101556..

52. Raval, N.P., Shah, P.U., Shah, N.K. (2016). Adsorptive removal of nickel (II) ions from aqueous environment: A review. *J. Environ. Manag*, 179, 1-20

53. Reed, B.E., Lin, W., Matsumoto, M.R., Jensen, J.N. (1997). Physicochemical processes. *Water Environ. Res*, 69, 444-462.

54. Reddy, D.H.K., Lee, S.M. (2013). Application of magnetic chitosan composites for the removal of toxic metal and dyes from aqueous solutions. *Adv. Colloid Interface Sci*, 201, 68-93.

55. Senberber, F. T., Yildirim, M., Mermer, N. K., and Derun, E. M. (2017). “Adsorption of Cr (III) from aqueous solution using borax sludge,” *Acta Chimica Slovenica*, 64, (3), 654-660.

56. Serrano, L.Z., Lara, N.O., Vera, R.R., Cholico-González, D. (2021). Yağış-Flotasyon Sistemi ile Fe(III), Cd(II) ve Zn(II)'nin Hidroksit Olarak Giderilmesi. *Sürdürülebilirlik*, 13, 11913.

57. Sousa, F.W., Oliveira, A.G., Ribeiro, J.P., Rosa, M.F., Keukeleire, D., Nascimento, R. F. (2010). Green coconut shells applied as adsorbent for removal of toxic metal ions using fixed-bed column technology. *J Environ Manag*, 91, 1634-1640.

58. Sočo, E., Kalemekiewicz, J. (2013). Adsorption of nickel (II) and copper (II) ions from aqueous solution by coal fly ash. *J Environ Chem Eng*, 1, 581-588.

59. Soliman, N. and Moustafa, A. (2020).“Industrial solid waste for heavy metals adsorption features and challenges; a review,” *Journal of Materials Research and Technology*, 9, (5), 10235-10253.

60. Soylu, M. ve Gökkuş, Ö. (2017). Türkiye'deki Doğal Zeolitler ve İyon Değişimi Uygulamaları. *Ömer Halis Demir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 6(1), 11-20.

61. Sharma, M., Singh, J., Hazra, S., and Basu, S. (2019). “Adsorption of heavy metal ions by mesoporous ZnO and TiO₂@ZnO monoliths: adsorption and kinetic studies,” *Microchemical Journal*, 145, 105-112.

62. Shrestha, R., Ban, S., Devkota, S., Sharma, S., Joshi, R., Tiwari, A.P., Kim, H.Y., Joshi, M.K. (2021). Technological trends in heavy metals removal from industrial wastewater: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105688-105697.

63. Sreedhar, I., Reddy, N.S. (2019). Heavy metal removal from industrial effluent using bio-sorbent blends. *SN Appl. Sci*, 1, 1021.

64. Tayang, A., Songachan, L.S. (2021). Microbial bioremediation of heavy metals. *Current Science*, 120(6), 1013-1025.

65. Tunali, S., Çabuk, A., Akar, T. (2006). Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. *Chem Eng J*, 115, 203-211.

66. Thangavel, S. Venugopal, G. (2014). Understanding the adsorption property of graphene-oxide with different degrees of oxidation levels. *Powder Technology*, 257, 141-148.

67. Tseng, C.H., Lei, C., Ying-Chu Chen, Y.C. (2018). Evaluating the health costs of oral hexavalent chromium exposure from water pollution: A case study in Taiwan. *Journal of Cleaner Production*, 172, 819-826.

68. USEPA. (2018). Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories Tables. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency (usepa); Washington, DC, USA: 2018. Epa 822-f-18-001.

69. Wang, L. K., Chen, J. P., Hung, Y.-T. & Shammas, N. K. (2011). Membrane and Desalination Technologies. Membrane and Desalination Technologies, 13, Springer.

70. Wang, X.S., Li, Z.Z., Tao, S.R. (2009). Removal of chromium (VI) from aqueous solution using walnut hull. J Environ Manag, 90, 721-729.

71. WHO. (2017). Guidelines for Drinking Water Quality. 4th ed. World Health Organization; Geneva, Switzerland.

72. Vidu, R., Matei, E., Predescu, A. M., Alhalaili, B., Pantilimon, C., Tarcea, C., & Predescu, C. (2020). Removal of Heavy Metals from Wastewaters: A Challenge from Current Treatment Methods to Nanotechnology Applications. Toxics, 8(4).

73. Yaqoob A. A., Parveen T., Umar K., Mohamad Ibrahim M. N. (2020). Role of nanomaterials in the treatment of wastewater: a review. Water, 12, 2-495.

74. Zamboulis, D., Peleka, E. N., Lazaridis, N. K., and Matis, K. A. (2011). "Metal ion separation and recovery from environmental sources using various flotation and sorption techniques," Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 86, (3), 335-344.

75. Zouboulis, A.I., Loukidou, M.X., Matis, K.A. (2004). Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. Process Biochem, 39, 909-916.

76. Zhang, Y., Duan, X. (2020). Chemical precipitation of heavy metals from wastewater by using the synthetical magnesium hydroxy carbonate. Water Science and Technology, 81, 1130-1136.

BÖLÜM VI

1,2,3-Triazoller: Özellikleri ve Sentez Yöntemleri

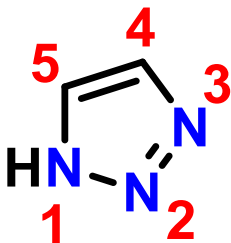
Sultan ONUR¹
Ferhan TÜMER²

Giriş

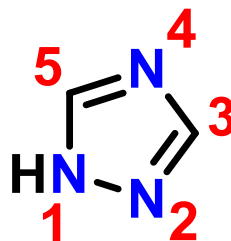
Yapısında üç azot atomu içeren ve beş üyeli olan heterosiklik halkalar, triazol olarak tanımlanır. $C_2N_3H_3$ halkası ilk kez 1885'te Bladin tarafından 'triazol' olarak adlandırılmıştır. Ayrıca Bladin, karbon azot halka sistemine triazol adını vermekle birlikte triazol türevlerini de tanımlayan ilk bilim adamı olmuştur [1]. $C_2H_3N_3$ kapalı formülü ile 1,2,3-triazol ve 1,2,4-triazol olmak üzere iki izomerik forma sahip heterosiklik bileşiklerdir [2–6].

¹ Dr., KSÜ, sultanakarr@gmail.com

² Prof. Dr., KTMÜ, KSÜ, ferhan.tumer@manas.edu.kg, ftumer@ksu.edu.tr



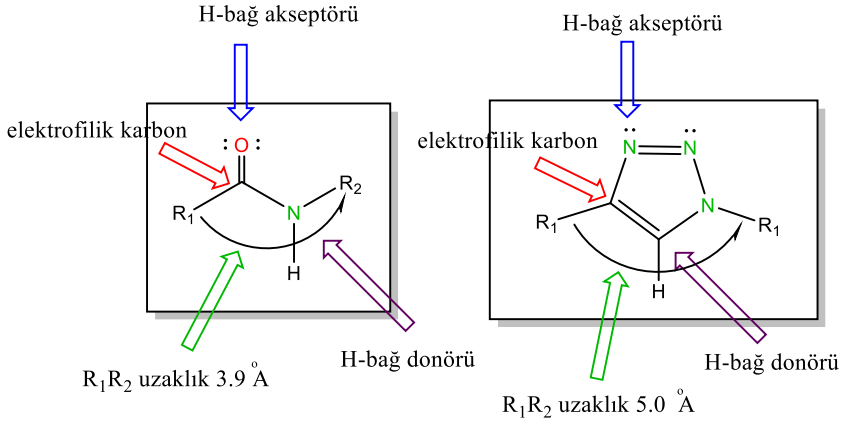
1,2,3-triazol



1,2,4-triazol

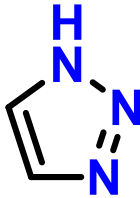
Şekil 0. Triazol bileşiklerinin izomerik formları.

1,2,3-triazoller, dikkat çeken fizikokimyasal özellikleri, çeşitli biyolojik aktiviteleri, ve kolay sentezlenebilir olmaları nedeniyle bilim dünyasında büyük ilgi görmüş bileşiklerdir [7–9]. Metabolik bozunmaya karşı da kararlı bir yapıya sahip olduklarından dolayı bu yapılar, amid bağı, disülfid bağı, ester bağı, karboksilik asit, aromatik halkalar ve olefin sert analogları için bir biyoizoster olarak da kullanılırlar [10–12]. Geliştirilmiş çözünürlükleri nedeniyle biyolojik hedefe yüksek afinite ile bağlandıkları, yapısındaki hetero atomlar ile hidrojen bağı oluşturması, yüksek dipol momente sahip olması ve π istifleme etkileşimleri gibi bazı benzersiz özellikleri ile tıbbi kimyada dikkat çeken bileşikler olarak yer almaktadırlar. Genel olarak, 1,4-disüstitüe 1,2,3-triazollerin moleküler spesifikasyonları, mesafe ve düzlemsellik açısından amid bağlarına benzemektedir. Hem yapısal hem de elektronik olarak bu benzerlik nedeniyle amid bağlarının biyoizosterleri olarak bilinirler [13–16].

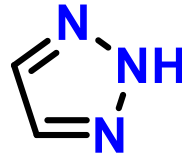


Şekil 2. Amid ve 1,2,3-triazol halkasının elektronik benzerliği.

Güçlü dipol momente sahip olmasıyla hidrojen bağı ve dipol-dipol etkileşimlerine aktif olarak katılabilen bu bileşikler, hidroliz ve oksidatif/indirgeyici koşullara karşı son derece kararlı yapılardır [16,17]. 1,2,3-triazoller, 1H-1,2,3-triazol ve 2H-1,2,3-triazol olmak üzere iki farklı tautomerik formda bulunmaktadır.



1



2

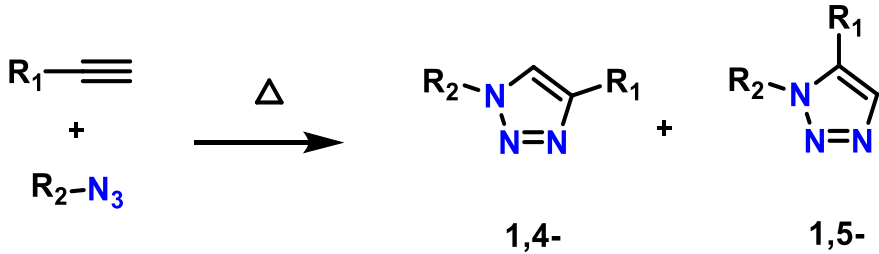
1H-1,2,3-triazol

2H-1,2,3-triazol

Şekil 3. 1,2,3-triazol halkasının tautomerik formu.

Sentez Sürecinin Gelişimi

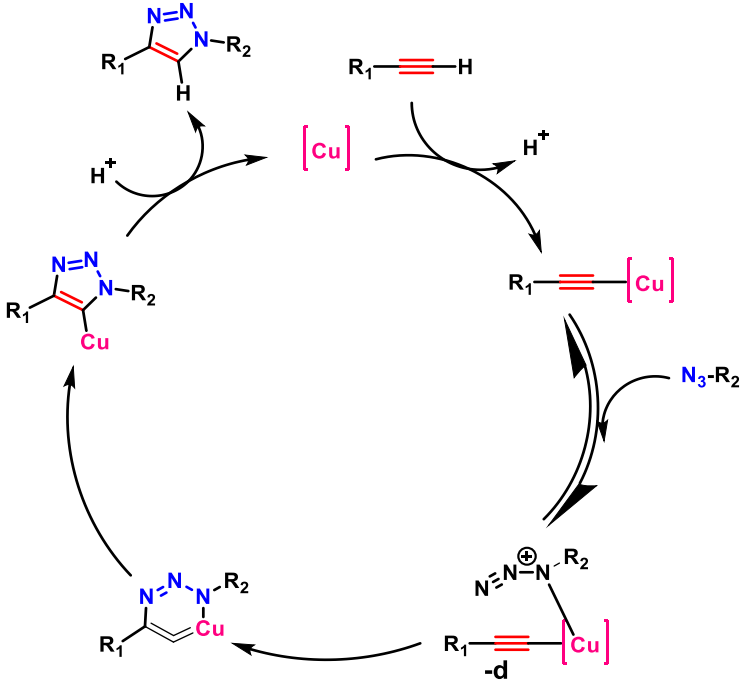
1,2,3-triazol halkasını elde etmek için bir azid kısım ile terminal alkin grubu arasında CuAAC eşliğinde azid-alkin siklokatılması gerçekleşmektedir ve bu katılma Huisgen siklokatılması olarak bilinmektedir [2,18,19]. Bir asırdan fazla zamandır devam eden 1,2,3-triazollerin sentezi, 20. yüzyılın başlarında Arthur Micheal tarafından keşfedilmiştir. Ancak, bu reaksiyonun asıl potansiyeli ve mekanizması 1960'lı yıllarda Huisgen ve arkadaşları tarafından ortaya çıkarılmıştır. Huisgen'in bu çalışması, olağanüstü biyolojik özelliklere sahip çeşitli kimyasal yapıları kısa bir süre içinde sağlayabilmiş olması ile modern ilaç keşfi çalışmalarına müthiş bir enerji veren birçok sentetik uygulamaların gelişmesine olanak sağlamıştır [2,20]. Ancak, bir terminal alkin ve azit arasında 1,2,3-triazol parçasını üretmek için en popüler reaksiyon 1,3-dipolar siklokatılma olan Huisgen siklokatılması olarak bilinse de, 1,4- ve 1,5-disüstitüe şeklinde 1,2,3-triazol karışımını vererek bölge seçici olmamasından, yüksek sıcaklık ile basınç gerektirdiğinden ve regioizomer karışımının verim düşüklüğüne sebep olmasından dolayı bu reaksiyon çoğunlukla göz ardı edilen ve başlangıçta organik sentezde pek uygulanmayan bir reaksiyon olmuştur [11,13].



Şekil 4. Huisgen reaksiyonu.

2001 yılında Tornøe ve Meldal tarafından Cu(I) katalizinin tanıtılması ile büyük ilgi gören Huisgen 1,3-dipolar siklokatılma reaksiyonu hem hız hem de bölgesel seçicilikte büyük bir iyileşmeye ışık tutarak literatüre “Klik kimyası” adı altında katkı sağlamıştır

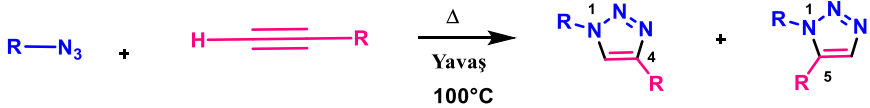
[21]. Stereokimyasal korumayı iyileştirmeye yönelik çalışmalar ile hafif reaksiyon koşulları altında gerçekleşen klik reaksiyonu, etkili ve kemo-seçici bir sentetik yöntem olarak birçok alanda geniş çapta kullanılmaktadır. Bir terminal alkin ile azitlerin 1,2,3-triazollerini verdiği 1,3-dipolar siklokatılması, hiç şüphesiz klik reaksiyonunun önde gelen bir örneğidir [11,14,22]. 2002 yılında Meldal ve arkadaşları, oda sıcaklığında organik ortamda katalitik miktarlarda Cu(I) katalizörü varlığında oldukça hızlı, yüksek verimli ve bölgesel seçici azid-alkin siklokatılmanın gerçekleştiğini rapor etmişlerdir [2,11,23]. Kısa bir süre sonra Sharpless ve Fokin' de, Cu(I) katalizli azid-alkin siklokatılma reaksiyonunun t-butil alkol, etanol veya saf su gibi polar ortamlarda da başarıyla gerçekleştirilebileceğini bildirmiştir [11,24].



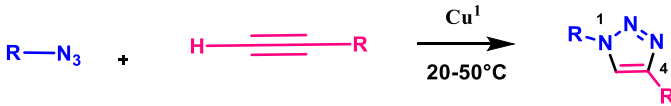
Şekil 5. Bakır katalizli Huisgen 1,3-dipolar siklokatılma reaksiyon mekanizması [25].

Sharpless ve Meldal laboratuvarlarında birbirlerinden bağımsız olarak keşfedilen bu metal katalizli reaksiyon, 1,4- ve 1,5-disübstitüe triazollerin karışımlarını veren klasik Huisgen tipi termal 1,3-dipolar siklokatılmanın geliştirilmesine muazzam bir katkı sağlamıştır. Bu Cu(I) katalizli reaksiyon ile 1,4 regio izomer ürünü elde edilmektedir. Son birkaç yılda bu reaksiyonun kullanımında kayda değer bir artış ile CuAAC, organik sentez, inorganik kimya, polimer kimyası ve biyokimyada katlanarak araştırılmaya devam etmektedir [11,12,23,26]. 1,3-dipolar siklokatılma reaksiyonu vasıtasıyla sentezlenebilen en yaygın triazoller 1,4-disübstitüe 1,2,3-triazol türevleridir [2].

Huisgen 1,3-dipolar siklokatılma



CuAAC katalizli siklokatılma



Şekil 6. Katalizli ve katalizsiz azid-alkin siklokatılmanın karşılaştırılması [27,28].

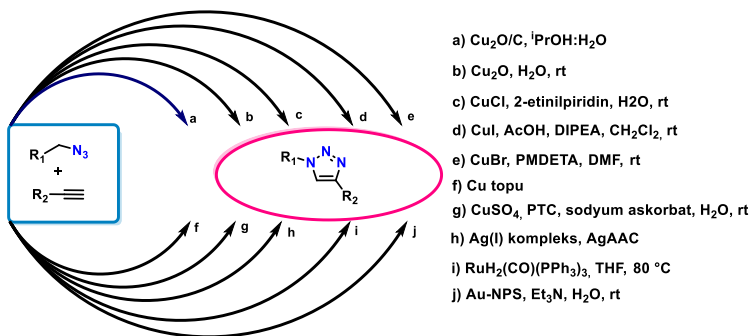
Triazollerin sentez yöntemleri

Günümüzde tıbbi kimya ve ilaç keşif sürecindeki en etkili yaklaşımlardan biri mevcut ilaçların analoglarının sentezidir. Aktif moleküllerin modifikasyonuna bir biyoizosterik ikamenin uygulanması yaygın olarak kullanılan bir yöntem olmakla birlikte, biyoaktif bileşiklerde temel yapı taşları olan triazoller de önemli biyoizosterler olarak bilinmektedir. İlaç direncini minimize etme ihtiyacı, daha az toksik ve daha seçici ilaç arayışı ile farmakokinetik profillerini iyileştirme çalışmaları gibi çeşitli konular, sürekli bir

optimizasyona ihtiyaç duyulmasına sebep olmaktadır. Bu sebeplerden ötürü triazollerin tıbbi kimya alanında kullanımı yoğun ilgi görmüş ve bu alanda yeni sentetik yollar geliştirilmiştir [12,14, 27, 29]. 1,2,3- triazollerin sentezi için metal katalizör eşliğinde ve metal katalizör kullanmadan geliştirilen sentetik dönüşümler aşağıda belirtilmiştir.

Metal katalizli 1,2,3-triazol sentezi

Huisgen ve arkadaşları azit-alkin siklokatılma metodunu geliştirmiş ve bu metot yapısal olarak çok çeşitli triazoller elde etmede önemli bir adım olmuştur. Ancak, bu yöntem yüksek sıcaklık gerektirdiği ve regioizomer karışımı gibi bazı sınırlamalara yol açtığı gerekçesiyle ılıman koşullar altında bölgesel seçiciliğe sahip yeni metodların geliştirilmesi kaçınılmaz hale gelmiştir. 2002 yılında Sharpless ve Meldal'ın bölgesel seçici 1,4-regio izomer ürününü veren Cu(I) katalizli reaksiyonu (CuAAC) ile başlayan bu serüven yıllar geçtikçe çeşitli araştırmalar ile yeni katalizörlerin gelişmesine öncülük etmiştir [13]. 1,4-regioizomer ürününü elde etmek için Ru, Pd, Ag, Au ve Zn gibi çeşitli metaller kullanılmakta olup çoğunlukla Cu(I) tuzları tercih edilmektedir. Çünkü, CuAAC reaksiyonlarının öncelikli olmasının sebebi yüksek bölge seçiciliğine sahip olmaları, kolay kullanılmaları, yüksek verimli olmaları ayrıca oksijene ve suya karşı duyarsızlık göstermeleridir. Bu alandaki gelişen benzer metal katalizli reaksiyonlar aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 7. Bazı metal katalizli 1,2,3-triazol sentez yöntemleri.

- a) İlk olarak 2013 yılında tanımlanmış olan mangal kömürü üzerinde bulunan bakır oksit, mükemmel bir verimle 1,4-disübstitüe 1,2,3-triazollerini oluşturmuştur [30].
- b) Wang ve arkadaşları Cu katalizli reaksiyonu oda sıcaklığında ve su içerisinde gerçekleştirerek 1,2,3-triazollerini sentezlemeyi başarmışlardır [31].
- c) Hiroki ve arkadaşları, CuAAC reaksiyonunun etkinliğini artırmak için bakır klorür eşliğinde stabilize edici ligand olarak 2-etinilpiridin kullanarak triazol bileşiklerini elde etmiştir [32].
- d) N,N'diizopropiletilamin ve asetik asit kullanarak oda sıcaklığında bakır iyodür eşliğinde çeşitli triazoller elde edilmiştir [33,34].
- e) Siklokatılma reaksiyonu için oda sıcaklığında DMF içinde başka bir metal katalizör olan bakır bromürün PMDETA ile kombinasyon halinde kullanılması 1,2,3-triazol sentezi için farklı bir metottur [35].
- f) CuAAC reaksiyonlarını kaydadeğer biçimde katalize eden bir oksitleyici madde ile birlikte bakır topun Cu(0) formunda kullanımı triazol eldesinde başarılı bir yöntem olmuştur [36].
- g) “One-pot” reaksiyonu şeklinde bilinen tek kap içerisinde bakır sülfat ve sodyum askorbat eşliğinde elde edilen 1,2,3-triazol bileşiklerinin sentez yöntemi birçok kişi tarafından tercih edilen bir metot olmuştur [37].
- h) Kimyasal olarak kararlı bir homojen gümüş (I) katalizörü kullanılmak suretiyle Ag-AAC reaksiyonu, oda sıcaklığında veya ısıtma ile gerçekleşen reaksiyon şartları altında çeşitli triazol bileşikleri sentezlenmiştir [38,39].
- i) Terminal alkinler ve azitlerin siklokatılma reaksiyonları için etkili bir katalizör olduğu düşünülen $\text{RuH}_2(\text{CO})-(\text{PPh}_3)_3$ şeklindeki rutenyum kompleksi varlığında, çeşitli

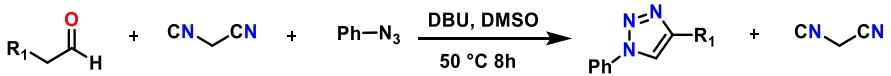
azidler, kaydadeğer verimlerle ve %100 seçicilikle 1,4-disübstitüe 1,2,3-triazoller elde etmede başarılı bir yöntem olmuştur [40,41].

- j) Sıralı bir reaksiyon modu ile bölgesel seçiciliğe sahip trietilamin varlığında altın nanokatalizörleini kullanılarak yüksek verimlerle 1,2,3-triazol bileşikleri elde edilmiştir [42].

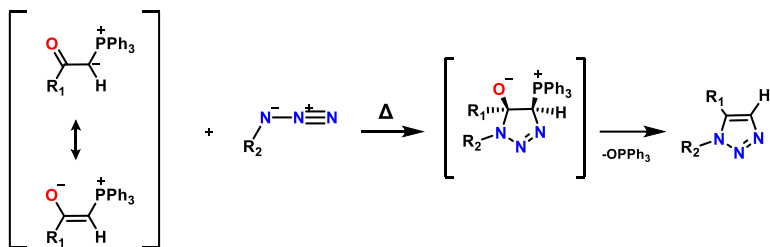
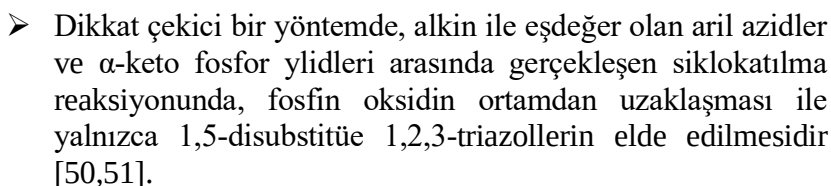
Metal içermeyen 1,2,3-triazol sentez yöntemleri

Hafif koşullar altında 1,2,3-triazoller sentezleme yolunda metal içermeyen prosedürlerin geliştirilmesi için kaydadeğer araştırmalar yapılmıştır [13,43,44]. İşlevsel olarak çok çeşitli 1,2,3-triazoller elde etmek için günümüze kadar metal içermeyen bazı [3+2]-siklokatılma yöntemleri geliştirilmiştir. Aktif hale getirilen alkenler, triazol sentezinde faydalı bir substrat görevi görmektedir. Enamin ve enolatların kullanıldığı organokatalitik reaksiyonlar da 1,2,3-triazollerin sentezinde büyük ilgi gören gruplar arasındadır. 1,2,3-triazol sentezi için metal içermeyen yaklaşımlar alanında geliştirilen çeşitli yöntemler aşağıda belirtilmiştir [85–87].

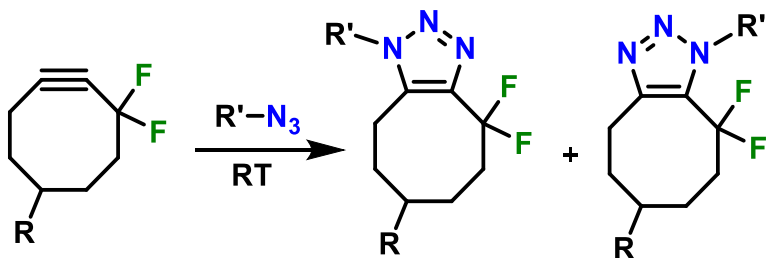
- Metal içermeyen tek kap içerisinde bir baz varlığında bölgesel seçici olarak 1,4-disübstitüe-1,2,3-triazoller sentezlenmiştir. Ters elektron talebi 1,3-dipolar siklokatılma yaklaşımı uygulanan bu metot basit ve etkili bir yöntem olarak literatüre sunulmuştur [48].



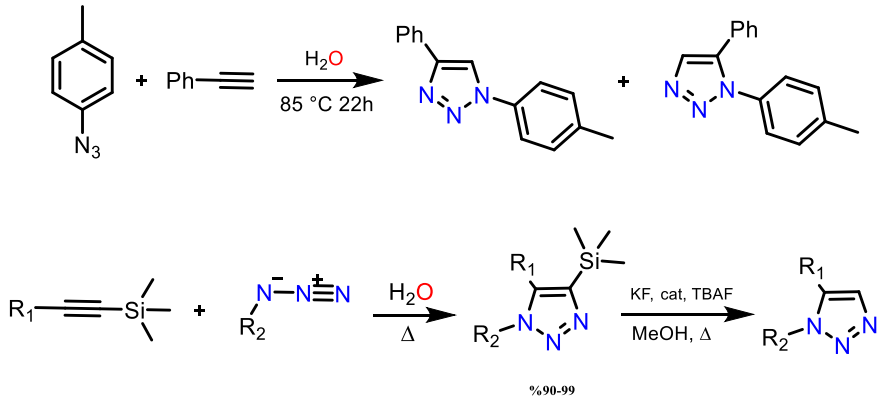
- Westermann ve arkadaşları asetonitril ve etanol çözücü karışımında a,a-diklorotosilhidrazon bileşiğini çeşitli birincil aminlerle reaksiyona sokarak N,N-diizopropiletilamin (DiPEA) varlığında basit reaksiyon koşulları ile oda sıcaklığında yaklaşık 16 saat karıştırıldığında, oldukça yüksek verimlerle çeşitli triazoller sentezlenmiştir [49].



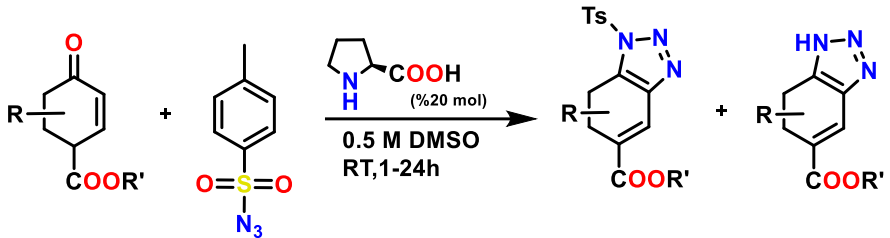
- Bertozzi ve grup arkadaşlarının biyokonjugasyon için araştırdığı ve geliştirdiği gerinim destekli azid-alkin siklokatlama (SPAAC) reaksiyonu ile herhangi bir katalizör olmadan fizyolojik koşullar ile ortam sıcaklığında 1,2,3-triazol bileşikleri sentezlenebilmektedir [45].



- Schubert ve ekibi, aromatik azitler ile fenilasetilenin sulu ortamda 85°C’de 1,4 ve 1,5-regioizomer karışımı triazollerini verdiğini ancak, silillenmiş alkin kullanıldığında ise seçici olarak 1,5-disubstitüe ürününü verdiğini rapor etmişlerdir. Trimetilsilil yönlendirmeli bu azit-alkin siklo katılma metodu 1,5-disubstitüe triazollerini seçici olarak sentezlemede önemli bir yöntem olarak literatürde yerini almıştır [52].

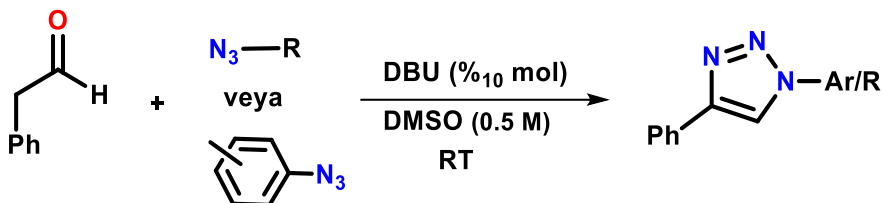


- Ramachary ve arkadaşları, bakır içermeyen yeni ve yeşil bir teknoloji keşfederek organokatalitik bir yaklaşım öne sürmüşlerdir. Bu bağlamda katalizör olarak prolin varlığında enamin aracılı [3+2]-siklokatılma reaksiyonu ile 1,2,3-triazol bileşiklerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir [53].

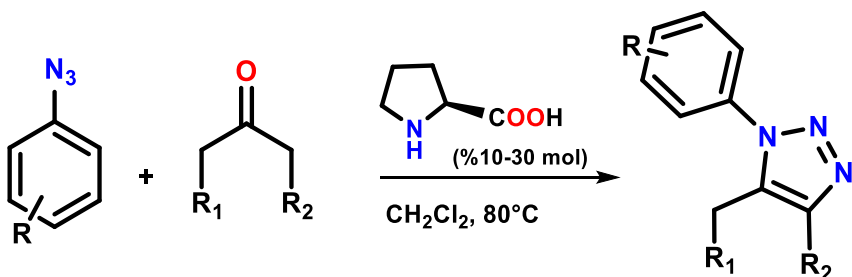


- Ramachary grubu, enolat aracılı organokatalitik azit-aldehit [3+2] siklokatılma reaksiyonu kullanılarak 1,4-disubstitüe 1,2,3-triazollerin hazırlanması için etkili bir metodoloji tasarlamışlardır. Ticari olarak temin edilebilen çeşitli enolize edilebilir aldehytlerin aril azidler ile [3+2] siklokatılma

reaksiyonundan bölgesel seçici 1,4-disüstitüe 1,2,3-triazol türevlerini yüksek verimler ile elde etmeyi başarmışlardır [54].



- Bressy grubu, mikrodalga koşullarında kapalı bir tüp içerisinde iyi bir organokatalizör olarak bildikleri pirolin varlığında aktive edilmemiş keton ve aromatik azidden yüksek derecede bölgesel ve kemoseçiciliğe sahip trisüstitüe 1,2,3-triazollerin sentezini rapor etmişlerdir [55].



Sonuç

Hedeflenen molekülün yapısına göre kullanılacak sentez yöntemleri olan triazoller, özellikle “click chemistry” adı verilen reaksiyonun kullanılmaya başlanmasıyla birlikte birbirinden çok farklı uygulama alanlarında kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde ilaç araştırmalarında yaygın olarak kullanılan ve üzerinde çok fazla sayıda araştırma grubunun çalışmalar yaptığı 1,2,3-triazollerin ilk elde edilişinden günümüze kadar olan sentez yöntemleri hakkında kısa bilgiler verilmiştir.

KAYNAKÇA

- [1] K.T. Potts, The Chemistry of 1,2,4-Triazoles., Chem Rev. 61 (1961) 87–127. <https://doi.org/10.1021/cr60210a001>.
- [2] A. Lauria, R. Delisi, F. Mingoia, A. Terenzi, A. Martorana, G. Barone, A.M. Almerico, 1,2,3-Triazole in Heterocyclic Compounds, Endowed With Biological Activity, Through 1,3-Dipolar Cycloadditions, European J Org Chem. 2014 (2014) 3289–3306. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201301695>.
- [3] J.K. Sahu, S. Ganguly, A. Kaushik, Triazoles: A valuable insight into recent developments and biological activities, Chin J Nat Med. 11 (2013) 456–465. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60084-9](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60084-9).
- [4] H.H. Kinf, Y.H. Belay, Synthesis and biological evaluation of novel thiosemicarbazone-triazole hybrid compounds as antimalarial agents, 2013.
- [5] D. Dixit, P.K. Verma, R.K. Marwaha, A review on ‘triazoles’: their chemistry, synthesis and pharmacological potentials, Journal of the Iranian Chemical Society. 18 (2021) 2535–2565. <https://doi.org/10.1007/s13738-021-02231-x>.
- [6] S.I. Kotelevskii, O. V. Prezhdo, Aromaticity indices revisited: Refinement and application to certain five-membered ring heterocycles, Tetrahedron. 57 (2001) 5715–5729.
- [7] S. Kumar, S.L. Khokra, A. Yadav, Triazole analogues as potential pharmacological agents: a brief review, Futur J Pharm Sci. 7 (2021). <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00241-3>.
- [8] S. Haider, M.S. Alam, H. Hamid, 1,2,3-Triazoles: Scaffold With Medicinal Significance, Inflamm Cell Signal. 1 (2014) 95. <https://doi.org/10.14800/ics.95>.
- [9] I.B. Obot, A. S. Johnson, Ab initio, DFT and TD-DFT electronic absorption spectra investigations on 3,5-diamino-1,2,4-triazole, (2012).

https://www.researchgate.net/publication/261725304_Ab_initio_DFT_and_TD-DFT_electronic_absorption_spectra_investigations_on_35-diamino-124-triazole (accessed October 4, 2023).

[10] H.F. Ashour, L.A. Abou-zeid, M.A.A. El-Sayed, K.B. Selim, 1,2,3-Triazole-Chalcone hybrids: Synthesis, in vitro cytotoxic activity and mechanistic investigation of apoptosis induction in multiple myeloma RPMI-8226, *Eur J Med Chem.* 189 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112062>.

[11] H. Li, R. Aneja, I. Chaiken, Click chemistry in peptide-based drug design, *Molecules.* 18 (2013) 9797–9817. <https://doi.org/10.3390/molecules18089797>.

[12] E. Bonandi, M.S. Christodoulou, G. Fumagalli, D. Perdicchia, G. Rastelli, D. Passarella, The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry, *Drug Discov Today.* 22 (2017) 1572–1581. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.05.014>.

[13] D. Dheer, V. Singh, R. Shankar, Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments, *Bioorg Chem.* 71 (2017) 30–54. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.01.010>.

[14] H.C. Kolb, K.B. Sharpless, The growing impact of click chemistry on drug discovery, *Drug Discov Today.* 8 (2003) 1128–1137. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(03\)02933-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(03)02933-7).

[15] V.D. Bock, D. Speijer, H. Hiemstra, J.H. Van Maarseveen, 1,2,3-Triazoles as peptide bond isosteres: Synthesis and biological evaluation of cyclotetrapeptide mimics, *Org Biomol Chem.* 5 (2007) 971–975. <https://doi.org/10.1039/b616751a>.

[16] M. Whiting, J. Muldoon, Y.C. Lin, S.M. Silverman, W. Lindstrom, A.J. Olson, H.C. Kolb, M.G. Finn, K.B. Sharpless, J.H. Elder, V. V. Fokin, Inhibitors of HIV-1 protease by using in situ click chemistry, *Angewandte Chemie - International Edition.* 45 (2006) 1435–1439. <https://doi.org/10.1002/anie.200502161>.

- [17] S. Ferreira, A.C.R. Sodero, M.F.C. Cardoso, E.S. Lima, C.R. Kaiser, F.P. Silva, V.F. Ferreira, Synthesis, Biological Activity, and Molecular Modeling Studies of 1H-1,2,3-Triazole Derivatives of Carbohydrates as α -Glucosidases Inhibitors, *J Med Chem.* 53 (2010) 2364–2375. <https://doi.org/10.1021/jm901265h>.
- [18] M. Breugst, H.U. Reissig, The Huisgen Reaction: Milestones of the 1,3-Dipolar Cycloaddition, *Angewandte Chemie - International Edition.* 59 (2020) 12293–12307. <https://doi.org/10.1002/anie.202003115>.
- [19] Rolf Huisgen, Gunter Szeimies, Leander Mobius, Rolf Huisgen, Gunter Szeimies) und Leander Mobius 2) Kinetik der Additionen organischer Azide an CC-Mehrfach-bindungen, 1967.
- [20] A. Michael, Ueber die Einwirkung von Diazobenzolimid auf Herrn Stoeckh zur Erwiderung, 1893.
- [21] C.W. Tornøe, M. Meldal, Peptidotriazoles: Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions on Solid-Phase, in: *Peptides: The Wave of the Future*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2001: pp. 263–264. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0464-0_119.
- [22] O.I. Artyushin, E. V. Sharova, N.M. Vinogradova, G.K. Genkina, A.A. Moiseeva, Z.S. Klemenkova, I.R. Orshanskaya, A.A. Shtro, R.A. Kadyrova, V. V. Zarubaev, O.I. Yarovaya, N.F. Salakhutdinov, V.K. Brel, Synthesis of camphene derivatives using click chemistry methodology and study of their antiviral activity, *Bioorg Med Chem Lett.* 27 (2017) 2181–2184. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.03.051>.
- [23] C.W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-Triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides, *Journal of Organic Chemistry.* 67 (2002) 3057–3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>.
- [24] V. V. Rostovtsev, L.G. Green, V. V. Fokin, K.B. Sharpless, A stepwise huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed

regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes, Kluwer Academic Publishers, 2002. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4).

[25] B.T. Worrell, J.A. Malik, V. V. Fokin, Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions, *Science* (1979). 340 (2013) 457–460. <https://doi.org/10.1126/science.1229506>.

[26] S.G. Agalave, S.R. Maujan, V.S. Pore, Click chemistry: 1,2,3-triazoles as pharmacophores, *Chem Asian J.* 6 (2011) 2696–2718. <https://doi.org/10.1002/asia.201100432>.

[27] J. Totobenazara, A.J. Burke, New click-chemistry methods for 1,2,3-triazoles synthesis: Recent advances and applications, *Tetrahedron Lett.* 56 (2015) 2853–2859. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.03.136>.

[28] D. Astruc, L. Liang, A. Rapakousiou, J. Ruiz, Click dendrimers and triazole-related aspects: Catalysts, mechanism, synthesis, and functions. A bridge between dendritic architectures and nanomaterials, *Acc Chem Res.* 45 (2012) 630–640. <https://doi.org/10.1021/ar200235m>.

[29] P.R. Clark, G.D. Williams, J.F. Hayes, N.C.O. Tomkinson, A Scalable Metal-, Azide-, and Halogen-Free Method for the Preparation of Triazoles, *Angewandte Chemie - International Edition.* 59 (2020) 6740–6744. <https://doi.org/10.1002/anie.201915944>.

[30] H. López-Ruiz, J.E. De La Cerda-Pedro, S. Rojas-Lima, I. Pérez-Pérez, B.V. Rodríguez-Sánchez, R. Santillan, O. Coreño, Cuprous oxide on charcoal-catalyzed ligand-free synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles via click chemistry, 2013. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0014.312>.

[31] K. Wang, X. Bi, S. Xing, P. Liao, Z. Fang, X. Meng, Q. Zhang, Q. Liu, Y. Ji, Cu₂O acting as a robust catalyst in CuAAC

reactions: Water is the required medium, *Green Chemistry*. 13 (2011) 562–565. <https://doi.org/10.1039/c0gc00848f>.

[32] H. Hiroki, K. Ogata, S.I. Fukuzawa, 2-Ethynylpyridine-Promoted Rapid Copper(I) Chloride Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction in Water, *Synlett*. 24 (2013) 843–846. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1318488>.

[33] C. Shao, X. Wang, Q. Zhang, S. Luo, J. Zhao, Y. Hu, Acid-base jointly promoted copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, *Journal of Organic Chemistry*. 76 (2011) 6832–6836. <https://doi.org/10.1021/jo200869a>.

[34] C. Shao, X. Wang, J. Xu, J. Zhao, Q. Zhang, Y. Hu, Carboxylic acid-promoted copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, *Journal of Organic Chemistry*. 75 (2010) 7002–7005. <https://doi.org/10.1021/jo101495k>.

[35] E. Jubeli, L. Moine, G. Barratt, Synthesis, Characterization, and Molecular Recognition of Sugar- Functionalized Nanoparticles Prepared by a Combination of ROP, ATRP, and Click Chemistry, *J Polym Sci A Polym Chem*. 48 (2010) 3178–3187.

[36] T.L. Cook, J.A. Walker, J. Mack, Scratching the catalytic surface of mechanochemistry: A multi-component CuAAC reaction using a copper reaction vial, *Green Chemistry*. 15 (2013) 617–619. <https://doi.org/10.1039/c3gc36720g>.

[37] J.A. Shin, Y.G. Lim, K.H. Lee, Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction in water using cyclodextrin as a phase transfer catalyst, *Journal of Organic Chemistry*. 77 (2012) 4117–4122. <https://doi.org/10.1021/jo3000095>.

[38] J. McNulty, K. Keskar, Discovery of a robust and efficient homogeneous silver(I) catalyst for the cycloaddition of azides onto terminal alkynes, *European J Org Chem*. (2012) 5462–5470. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201200930>.

[39] J. McNulty, K. Keskar, R. Vemula, The first well-defined silver(I)-complex-catalyzed cycloaddition of azides onto terminal

alkynes at room temperature, *Chemistry - A European Journal*. 17 (2011) 14727–14730. <https://doi.org/10.1002/chem.201103244>.

[40] P.N. Liu, H.X. Siyang, L. Zhang, S.K.S. Tse, G. Jia, RuH₂(CO)(PPh₃)₃ catalyzed selective formation of 1,4-disubstituted triazoles from cycloaddition of alkynes and organic azides, *Journal of Organic Chemistry*. 77 (2012) 5844–5849. <https://doi.org/10.1021/jo3008572>.

[41] P.N. Liu, J. Li, F.H. Su, K.D. Ju, L. Zhang, C. Shi, H.H.Y. Sung, I.D. Williams, V. V. Fokin, Z. Lin, G. Jia, Selective formation of 1,4-disubstituted triazoles from ruthenium-catalyzed cycloaddition of terminal alkynes and organic azides: Scope and reaction mechanism, *Organometallics*. 31 (2012) 4904–4915. <https://doi.org/10.1021/om300513w>.

[42] S. Rej, K. Chanda, C.-Y. Chiu, M.H. Huang, Control of Regioselectivity over Gold Nanocrystals of Different Surfaces for the Synthesis of 1,4-Disubstituted Triazole through the Click Reaction, *Chemistry - A European Journal*. 20 (2014) 15991–15997. <https://doi.org/10.1002/chem.201403958>.

[43] L. Gonnet, M. Baron, M. Baltas, Synthesis of biologically relevant 1,2,3-and 1,3,4-triazoles: From classical pathway to green chemistry, *Molecules*. 26 (2021). <https://doi.org/10.3390/molecules26185667>.

[44] M.F. Debets, S.S. Van Berkel, J. Dommerholt, A.J. Dirks, F.P.J.T. Rutjes, F.L. Van Delft, Bioconjugation with strained alkenes and alkynes, *Acc Chem Res*. 44 (2011) 805–815. <https://doi.org/10.1021/ar200059z>.

[45] J.A. Codelli, J.M. Baskin, N.J. Agard, C.R. Bertozzi, Second-generation difluorinated cyclooctynes for copper-free click chemistry, *J Am Chem Soc*. 130 (2008) 11486–11493. <https://doi.org/10.1021/ja803086r>.

[46] N.J. Agard, J.A. Prescher, C.R. Bertozzi, A strain-promoted [3 + 2] azide-alkyne cycloaddition for covalent modification of

biomolecules in living systems, *J Am Chem Soc.* 126 (2004) 15046–15047. <https://doi.org/10.1021/ja044996f>.

[47] E.M. Sletten, C.R. Bertozzi, A hydrophilic azacyclooctyne for cu-free click chemistry, *Org Lett.* 10 (2008) 3097–3099. <https://doi.org/10.1021/ol801141k>.

[48] A. Ali, A.G. Corrêa, D. Alves, J. Zukerman-Schpector, B. Westermann, M.A.B. Ferreira, M.W. Paixão, An efficient one-pot strategy for the highly regioselective metal-free synthesis of 1,4-disubstituted-1,2,3-triazoles, *Chemical Communications.* 50 (2014) 11926–11929. <https://doi.org/10.1039/c4cc04678a>.

[49] S.S. Vanberkel, S. Brauch, L. Gabriel, M. Henze, S. Stark, D. Vasilev, L.A. Wessjohann, M. Abbas, B. Westermann, Traceless tosylhydrazone-based triazole formation: A metal-free alternative to strain-promoted azide-alkyne cycloaddition, *Angewandte Chemie - International Edition.* 51 (2012) 5343–5346. <https://doi.org/10.1002/anie.201108850>.

[50] B. Schulze, U.S. Schubert, Beyond click chemistry-supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles, *Chem Soc Rev.* 43 (2014) 2522–2571. <https://doi.org/10.1039/c3cs60386e>.

[51] P. Ykman, G. L'abbé, G. Smets, Reactions of aryl azides with α -keto phosphorus ylides, 1971. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)92481-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)92481-0).

[52] F. Kloss, U. Köhn, B.O. Jahn, M.D. Hager, H. Görls, U.S. Schubert, Metal-free 1,5-regioselective azide-alkyne [3+2]-cycloaddition, *Chem Asian J.* 6 (2011) 2816–2824. <https://doi.org/10.1002/asia.201100404>.

[53] D.B. Ramachary, K. Ramakumar, V. V. Narayana, Amino acid-catalyzed cascade [3+2]-cycloaddition/hydrolysis reactions based on the push-pull dienamine platform: Synthesis of highly functionalized NH-1,2,3-triazoles, *Chemistry - A European Journal.* 14 (2008) 9143–9147. <https://doi.org/10.1002/chem.200801325>.

- [54] D.B. Ramachary, A.B. Shashank, S. Karthik, An organocatalytic azide-aldehyde [3+2] cycloaddition: High-yielding regioselective synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles, *Angewandte Chemie - International Edition*. 53 (2014) 10420–10424. <https://doi.org/10.1002/anie.201406721>.
- [55] M. Belkheira, D. El Abed, J.M. Pons, C. Bressy, Organocatalytic synthesis of 1,2,3-triazoles from unactivated ketones and arylazides, *Chemistry - A European Journal*. 17 (2011) 12917–12921. <https://doi.org/10.1002/chem.201102046>.

BÖLÜM VII

Kontakt Sert Lens Potansiyeline Sahip Polimerlerin Kimyası

Gülşah KURT

1.Giriş

Günümüzde, gözlükten daha doğal bir dış görünüş ve derinlik algısı sağlayan lensler gözlük yerine tercih edilmektedir. Kontakt lensler birçok nedenden dolayı kullanılmaktadır. Örneğin, miyopiyi düzeltmek için görme amacıyla lens takılmaktadır. Bazı araştırmalar, kontakt lenslerin miyopinin ilerlemesini yavaşlattığını göstermektedir. Uzun yıllar süresince, yumuşak lens ile başladığım numaralı lens kullanımına sert lens ile devam eden bir polimer araştırmacısı olarak, bu konuyu kimya açısından ele almanın önemli olduğu kanaatindeyim. Herhangi bir maddenin kimyasal özellikleri, uygulamalar açısından, maddelerin potansiyel lerini ortaya çıkaran basit bir kılavuzdur. Bu amaçla; bu bölümde, sert lens yapımında yer alan polimerlerin kimyasal yapısı ve özellikleri hakkında, bilgi verilecektir.

Bilim adamları veya analistlere göre, kimya açısından elementler, bileşikler, moleküller veya makro moleküller, varlıklarını kanıtlayan bazı niteliklere sahiptirler. Bu niteliklere örnek olarak renk, koku, doku, kaynama noktası, erime noktası, yoğunluk, elastiklik, kristallik verilebilir. Bunlar fiziksel özelliklerdir. Madde modifiye olabilir yada yeni biçimde farklı niteliğe sahip yeni bir maddeye dönüşebilir. Bu ise kimyasal özelliktir. Polimerler, hem fiziksel hem de kimyasal olarak mutlaka tartışılmalıdır.

Lens deyince aklımıza optik bilimi gelmektedir. Optik bilimi, tıp, saf bilim, astronomi ve mühendislik de dahil olmak üzere birçok disiplinle alakalıdır ve incelenmektedir. Lensler, mikroskoplar, lazerler, fiberler ve polimerler bu içeriklerden birkaçıdır. Herhangi bir maddenin optik aktivitesi o malzemenin ışıkla etkileşime girdiğinde sergilediği sonuçtur ve kırılma indisi bu aktivitenin ölçüsüdür. Polimerin, optik uygulamalarında, kırılma indisi, UV ışığına karşı iyi direnç, kimyasal dayanıklılık ve iyi mekanik özellikler önemlidir.

Polimer kimyası, kontakt lens endüstrisinin gelişimine büyük katkı sağlamıştır. Her ne kadar bazı kontakt lensler polimer biliminin gelişmesinden önce kullanılmış olsa da, PMMA (polimetilmetakrilat) ve p(HEMA) (2-polihidroksietilmetakrilat)'ın ticari olarak bulunabilirliği kontakt lens pazarının genişlemesini kolaylaştırmıştır.

Biyomedikal uygulamaların en büyüleyici konularından biri, belirli amaçlara yönelik malzemelerin tasarımı ve geliştirilmesidir. Kontakt lens yapımında polimerlerin kullanılması, sentetik malzemelerin biyomedikal uygulamalarına bir örnektir. Sert ve yumuşak yüzeylerde yaygın olarak kullanılan çeşitli polimerik malzemeler vardır. Burada, kontakt sert lens eldesin de kullanılan polimerlerin özellikleri analiz edilerek değerlendirilecektir.

Mekanik özelliklerine göre lens materyallerini sınıflandırmada "sert" ve "yumuşak" terimleri kullanılmaktadır. Uzmanlara göre; polimerlerin kontakt lens uygulamaları için en az

altı tane temel özelliğe sahip olması gerekmektedir. Bu temel özellikler, kimyasal, biyolojik, optik, yüzey, mekanik ve yayılma şeklinde sıralanabilir. Bunlardan sert kontakt lens yapımında kullanılan polimerlere, PMMA (polimetilmetakrilat), selüloz asetat butirat (CAB), silikon reçine, siloksan/metakrilat, alkilstiren, yarı sert olanlara ise florokarbon, elastomerlere silikon ve akrilik türevleri ve biyopolimerlere ise kolajen ve protein örnek olarak verilebilmektedir.

Yumuşak bir kontakt lens, hem korneayı hem de limbusu (kornea ve skleranın kesiştiği bölgeyi) kaplamakta ve gözün şekline göre kalıplanmaktadır. Lensin yumuşak ve esnek olması nedeniyle bu mümkündür. Mercek, gözün üst kısmında bulunan gözyaşı tabakasının içinde yüzer. Göz kapağı ve polimer ile gözyaşı filmi arasındaki çekim merceği yerinde tutmaktadır.

Sert kontakt lensler esnek değildir ve bu da onların göze tam oturacak şekilde taşlanması gerektiği anlamına gelmektedir ve yalnızca korneayı kaplarlar. Sert temas noktaları göze tam oturmazsa hareket edecek ve düzgün çalışmayacaktır. Hassas uyum ve gözyaşı filmine olan ilgileri sayesinde yerinde tutulurlar. Sert ve yumuşak temaslar benzer şekilde çalışır; çünkü ışık polimerden geçerken kırılır. Lensin kalınlığı ve şekli değiştirilerek, farklı miktarlarda görsel düzeltme elde etmek için kırılma miktarı değiştirilebilmektedir.

2.Kontakt Lensler

Kontakt lens, korneaya yada skleranın üzerine takılarak göz bebeğini tamamen kaplayan, göz yaşı tabakası üzerine yerleştirilen, kırma kusurlarını iyileştirerek, görme keskinliği sağlayan yada göz hastalıklarını tedavi etmek amacıyla kullanılan, gözlüğe alternatif, kavisli, transparan bir optik mercek veya bir çeşit protezdir. Gözlük yerine kullanılan lenslere düzeltici lensler de denilmektedir. Burada lensin iki yüzeyi vardır. Birincisi, lensin, korneaya temas ettiği arka yüzey, diğeri ışığı kıran ön yüzeydir. Ön yüzey, korneaya temas etmemekle birlikte, kırma kusurlarının iyileştirilmesini ve ışığın

kırılmasının düzgün bir şekilde olmasını sağlayan bir eğime sahiptir. Gözde batma hissinin olmaması için ön ve arka yüzey eğimlerinin denk olması gerekmektedir. Kontakt lensler, polimerik materyal türüne göre sert veya yumuşak olabilmektedir. Yumuşak lensler, hidrojel veya hidrojel olmayan ya da hidrofilik veya hidrofobik olanlar şeklinde sınıflandırılmaktadır. Yumuşak lensler, oksijen veya karbondioksit gazı geçiren lenslerdir. Gaz geçirme özelliğine yumuşak lenslerde sahip olmakla birlikte, gaz geçirgenlik terimi sadece sert lensler için kullanılmaktadır. Şekil 1’de kontakt lens örneği görülmektedir.[Türk Oftalmoloji Derneği]



Şekil 1. Lens örneği

Lenslerin, birikme ve mikrobiyal kontaminasyondan kaynaklanan bazı sorunları da vardır. Örneğin, hibrit (sert ve yumuşak yapının bir arada bulunduğu lensler) lens kullanımında, proteinin birikme sorunu olabilmektedir. Kontakt lensler, gözde üç bölgeye temas edebilmektedir. Bunlar;

- Sklera,
- Kornea
- Gözyaşı filmidir.

Sklera (gözakı): Elastin, kollajen gibi proteinlerin yanı sıra % 65 oranında su içeren, sert, göz küresine şekil veren ve göz dokularını koruyan, göz küresinin en dış kılıfıdır ve su oranının azlığı nedeniyle de saydam değildir.

Kornea: Transparan, damarsız, parlak yüzeyli ve bombeli bir yapı olan kornea, skleranın öndeki devamıdır. Kollajen, mukopolisakkarit, lipid gibi yapılara ek olarak % 75-80 oranında su içermektedir. Burada, su dengesi, optik özelliklerini sağlama açısından çok önemlidir.

Gözyaşı filmi: Göz yaşı filmi, göz bezlerinin çeşitli sekresyonlarının karışımıdır. Göz yaşı filminin, mikroorganizma büyümesinin engellenmesi, korneanın ıslak tutulması ve oksijen alması ve kaygan bir optik yüzey oluşturması gibi işlevleri vardır. Bileşiminde, proteinler, lipidler, enzimler, K^+ , N^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^- , HCO_3^- gibi iyonlar, glikoz, sitrik asit, üre, glikoz ve askorbik asit yer almaktadır.

2.1.Sert Lensler

Sert lens ya da gaz geçirgen lens, göze yüksek seviyede oksijenin aktarılmasını sağlayan, oldukça dayanıklı bir yapıya sahip olan optik bir mercektir. Sert lensler, her kırma kusurunda kullanılsa bile, genel olarak astigmatı bulunan kişiler ve keratokonus hastaları tarafından tercih edilmektedir. Sert lenslerin korneaya tam olarak oturmama, en önemli nedenidir. Sert lenslerin diğer bir kullanım alanı da keratokonus hastalığıdır. Bu hastalıkta, kornea öne doğru kubbeleşmiştir. Korneada bulunan enzimlerin dengesizliği sonucu ortaya çıkan keratokonus, korneanın zaman içinde sivrileşmesine neden olmaktadır. Bu hastalıkta görme kusurunun tedavisi için genellikle sert lens kullanımı önerilmektedir.



Şekil 2. *Gaz geçirgen sert lens örneği*

Şekil 2’de gaz geçirgen sert lens örneği verilmektedir [Bilgihan, K., Keratakonus Bilgi Bankası]. Sert lensler, yumuşak lenslere göre daha hassas bir görüş sağlamaktadır. Burada, sert lensin uzun süre kullanılmasını sağlayan en önemli parametre, lensin oksijen geçirgenliğinin yüksek olmasıdır. Bunun yanı sıra; kontakt lensin sürtünme katsayısı, kontakt lensin ıslanma açısı, kontakt lensin su içeriğide önemlidir. Bu özelliklerinden biri düşük olan lensin oksijen geçirgenliğinin yüksek olması pek bir anlam taşımaz. Çünkü bu lens gözde uzun süre kalamaz. Lens çapı, kenar dizaynı, optik bölgenin genişliği gibi fiziksel özellikler değişince aynı kalmaz. Sert lensin genel özellikleri arasında, oksijen geçirgenliği, lensin ıslanabilirliği, hidrofilik sertlik (stabilite, kırılma, kırma indisi, yüzey reaksiyonu, yoğunluk, görünür ışık geçirgenliği) sayılabilmektedir. Örneğin; metakrilik asit kırılma indisi azaltılmaktadır. Kırma indisi arttıkça, kırma gücünde artar ve lens inceltilebilir. Birçok sert lensin kırılma indisi 1,35-1,49 arasındadır. Ayrıca kontakt lens materyali için düşük yüzey aktiviteside (non-iyonik olma durumu) önemlidir. Yani protein moleküllerini kendine çekmemesi gerekir. Bu durum elektriksel yükün varlığı ile ilgilidir. Negatif olan bu yük, pozitif protein moleküllerini kendine çekmektedir. Materyalin yoğunluğuna bakıldığında, yüksek yoğunluklu lensler aşağı düşebilirken, düşük yoğunluklular ise bakım solüsyonunda yüzerek, temizlenmesi zor olabilmektedir. Görünür ışık geçirgenliği önemlidir. Materyal

hafifçe renklendirildiğinde bu özellik biraz azalabilir. Rockwell skalasına göre yapılan sertlik ölçümü ile çizilmelere olan direnç ölçülmektedir. Lensin elle ya da birikintilerin neden olduğu mekanik stresle çizilme riski vardır. Örneğin, silikon yumuşaklığı artırır, çizilmeye direnci azaltır. Metakrilik asit polimeri ise sertliği artırarak direnci artırır. Sert lens materyalleri hidrofobiktir. %2'nin altında su içerir. %4 den daha az su absorbe edenler hidrofobik, %54 den fazla absorbe eden materyaller ise hidrofiliktir. Su ya da gözyaşının materyal üzerinde yayılabilme ölçüsüne ıslanabilirlik denmektedir. Bu şekilde muazzam bir gözyaşı tabakası oluşmaktadır. Kontakt açısı azaldıkça, ıslanabilirlik de azalır. Kötü ıslanan lens daha az performans sağlar ve birikinti oluşumuna eğilimi artmaktadır. [Casini, M.,;Efron, N., 2024; Akyol, N., Kontakt Lens Materyallerinin Özellikleri]

2.1.1.Sert Lens Yapımında Kullanılan Başlıca Polimerler

- a) Sellüloz asetat bütirat
- b) Silikon akrilat(Siloksan)
- c) Floro silikon akrilatlar
- d) Floropolimerler
- e) Polimetilmetakrilat (PMMA) (Gaz geçirgen değil)

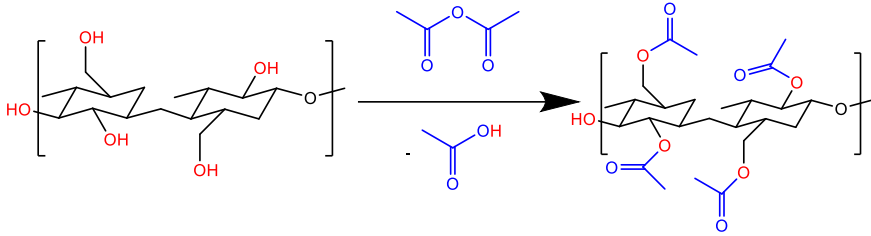
Kontakt lens yapımında kullanılan ilk plastik materyal PMMA dır. Hafifliği, ışık geçirgenliği, dayanıklılığı, ıslanabilirliği, çizilmelere karşı dayanıklılığı iyi olmakla birlikte, gaz ve oksijen geçirmediği için yerini başka materyaller almıştır. Gaz geçirgen olarak kullanılan ilk materyal ise selüloz asetat bütirattır. Ancak kolay çizilmektedir ve ıslanabilirliği de iyi değildir. Silikon akrilat materyallerine baktığımızda, silikon kısmı hidrofobik olduğu için ıslanabilirliğinin düşük olduğunu, PMMA kısmının optik şeffaflığı ve sertliği verdiğini söyleyebiliriz. Dk değeride (oksijen geçirgenliği) 15 ile 55 arasındadır. Floropolimerler, silikon içermemektedir ve ıslanabilirliği yüksektir. Oksijen geçirme değeride (Dk=190) oldukça yüksektir. Eğrilebilme özelliğide vardır. Bunun yanı sıra, silikon yapıların oksijen geçirgenliğinin yüksek olduğu, oksijen geçiriminin, su geçiriminin bir fonksiyonu olduğunu söyleyebiliriz.

Bu bilgiler ışığı altında, sert lens yapımında kullanılan polimerler ayrıntılı olarak açıklanmıştır. [Türk Oftalmoloji Derneği]

a)Selüloz Asetat Bütiratın (CAB) Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Günümüzde nadir kullanılan selüloz asetat bütirat (CAB), hem asetat hem de butirat fonksiyonel grupları içeren, karışık selüloz ester yapılarıdır. İlk, 1977 de kullanılmaya başlanmış olup, bu lens metaryalinin, lensin şekil, büyüklük ve yüzey durumundan bağımsız olarak oksijen geçirgenliği (Dk) değeri düşüktür. Selüloza baktığımızda, biyokütleden elde edilen, dünyada en çok bulunan rejenere bir biyopolimer ve etkili bir materyaldir. Yıllık üretimi yaklaşık 5×10^{11} metrik tondur. Selülozun büyük bir kısmı sanayide hammadde olarak kağıt üretiminde kullanılmaktadır. Yıllık üretilen kağıt hamurunun 108 milyon tondan sadece 4'ü, kimyasal madde üretiminde kullanılmaktadır. Selülozun doğada bol bulunmasına rağmen, termal plastisiden yoksun olduğunu söylenmektedir.[Yıldız, vd.,2021;Binias, vd., 2014;Wang, vd.,2017; Çakmakçı, vd.,2012]. Çeşitli uygulamalar için, selülozda ki hidroksil gruplarının reaksiyona girmesi ile farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip eterler veya ester türevleri elde edilmektedir. Endüstride selüloz türevlerinin, elyaflar, tekstiller, kaplamalar, termoplastik filmler, gıda katkı maddeleri ve farmasötik teknolojiler gibi önemli rolleri vardır. Selüloz türevleri, reaktantlara göre, esterler ve eterler olmak üzere iki ana sınıfta toplanmaktadır. Selüloz türevleri, genellikle, karışık esterlere dönüştürülebilecek serbest hidroksil grupları içermektedir. Karışık selüloz türevleri ile hem ester hem de eter gruplarına da ulaşılabilir. Örneğin, düşük sübsitasyon derecesi ve yüksek hidrolitik stabilite nedeniyle, organik asit anhidritleri ile karboksimetil selüloz, esterleştirilebilmektedir. Selüloz asetat propiyonat (CAP) ve selüloz asetat bütirat (CAB) karboksimetil selüloz asetat bütirat ticari olarak en çok kullanılan, önemli karışık esterler arasındadır. Tüm selüloz türevleri arasında selüloz asetat bütiratın (CAB), yüksek çizilme direnci ve ekonomik olması gibi bazı üstün özellikleri vardır. CAB'nin kristaller erimiş halde iken, CAB'nin elastik olmayan çubuk benzeri yapısı, yüksek CAB viskozitesine neden olmaktadır.

Buda; CAB'nin işlenebilirliğini kısıtlayan bir durumdur. CAB yapılarının erime ve ayrışma arasındaki sıcaklık aralığı, dar bir işlenebilirliğe yol açarken, termal stabiliteyi düşürmektedir [Yıldız, vd., 2021; Qui, vd.,2013; El-Sakhawy, vd.,2014; Shanbhag, vd.,2007]. Şekil 3'de selüloz asetat bütiratın, selülozdan elde ediliş reaksiyonu verilmiştir.

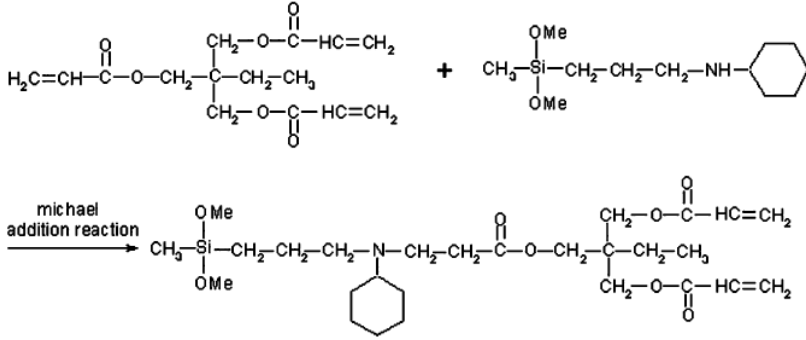


Şekil 3. Selüloz asetat bütiratın, selülozda elde ediliş reaksiyonu

b)Silikon Akrilatlar (Siloksan)

Silikon akrilatlar, polimetilmetakrilat (PMMA) ve silikonun belli oranda birleşiminden oluşmaktadır. Burada, silikon lense oksijen geçirgenliği, akrilat ise lens sertliği sağlamaktadır. Silikon akrilatlar, düşük molekül ağırlıklı, çoklu fonksiyonel gruba sahip polimerlerdir. Ayrıca, silikon içeren akrilat, N-sikloheksil-c-aminopropilmetildimetoksisilanın (CAMS) tarafından, TMPTA ile Michael tipi ekleme reaksiyonu ile sentezlenebilmektedir. Burada, silikon içeren akrilat, bir mol triakrilat molekülü başına bir mol amin oranında, TMPTA'nın CAMS'nin karıştırılması ile hazırlanmıştır. Bu reaksiyonun şeması ve moleküler yapı Şekil 4'de

gösterilmektedir Karışım 70°C'ye ısıtılarak, bir süre muhafaza edilmiştir. 12 saat sonra CAMS' ın –NH grubu tamamen ortadan kaybolmuştur. [Mousavi, vd., 2016; Liu, vd., 2004]



Şekil 4. Silikon içeren akrilatın moleküler yapısı ve reaksiyonu

Si-O-Si bağı içeren silisyum polimerlerini belirtmek için silikon sözcüğü kullanılır. Silikonların özelliklerini incelediğimizde, silikon malzemelerin benzersiz Si-O-Si kimyasal yapıları nedeniyle düşük yüzey enerjilerinin yanı sıra mükemmel ısı direncine ve yaşlanma direncine sahip olduğunu söyleyebiliriz. Silikonlar, çalışma sıcaklık aralığının genişliği, üstün kimyasal direnci ve mükemmel elektrik yalıtımı ile farklı sektörlerde yaygın olarak kullanılan polimerlerdir.

Polisiloksan(silikon), siloksan'dan ($-R_2Si-O-SiR_2-$, **R=organik grup**) oluşan, silisyum atomu içeren inorganik polimerdir. Silikonlar, silisyum atomlarının en az bir değerlik elektronu ile oksijen atomları ile birbirine bağlanması ile oluşan polimerik yapılardır. Öncelleri, silisyum atomu karbon atomuna, kimyası da karbon kimyasına benzediği düşünülmekteydi ancak silikon kimyasında aslında böyle bir benzerliğin olmadığı görülmüştür. Karbon atomları birbiriyle birleşebildiği halde silisyum atomlarında böyle bir birleşme durumu yoktur. Silisyum atomları ancak oksijen köprüsü ile birleşir ve silikonlarda silisyum atomu çift bağ oluşturmamaktadır. Silikon (siloksan), ilk olarak, II. Dünya Savaşı sırasında, askeri tatbikatında istenen yüksek ısı dayanımı gereksinimini karşılamak için kullanılmıştır. Tercih edilmesinin

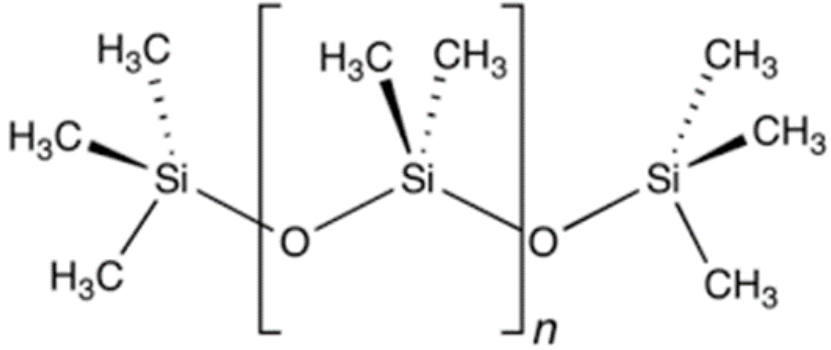
nedeni ise, askeri malzemelerin üretiminde geniş sıcak aralığında kullanımı ve kolay işlenebilirliğinden dolayıdır. İlerleyen yıllarda, mekanik ve kimyasal özellikleri iyileştirilmiştir. Silikon (yada silikon kauçuk) vulkanizasyon tiplerine göre iki kısımda incelenmektedir: [Mazurek, vd.,2000]

- Yüksek sıcaklıkta vulkanize olanlar
- Oda sıcaklığında vulkanize olanlar

Vulkanizasyon, polimeri çapraz bağlama ve sertleştirme aşamasıdır. Sonraki yıllarda siloksanlar üzerine çalışmalar devam ederek ve malzemenin esneme, direnç özellikleri, sarkma, gerilme mukavemeti sürekli geliştirilmiştir. Üzerinde çalışılarak, geliştirilen geniş sıcaklık aralıklarına dayanımı ve buna bağlı olarak fiziksel özellikleri, siloksanları sentetik organik polimerlere göre daha üstün kılmaktadır. Polisiloksanlar organik ve inorganik polimerler arasında önemli bir yere sahiptir ve ticari bakımından en önemli yapılardır. Si-O iskeleti yada bağ yapısı polimerlere merak uyandıran bir özellik kazandırmaktadır. Örneğin bu bağların uzunluğu, siloksan polimerlerine büyük ölçüde termal kararlılık kazandırır. Bu özellikleri sayesinde ısısal işlemlerle ilgili alanlarda kullanılabilirler. Uygulamaları yüksek performans akışkanları, elastomerler ve kaplayıcılar, yüzey değiştiriciler, ayırım membranları, yumuşak kontakt lensler, yapay organlar gibi sıralanabilmektedir.

Silikonların, diğer polimerlere göre üstün özellikleri;

- Geniş sıcaklık aralığı kullanımı (-55 °C ve 250 °C)
- Elektrik yalıtkanlığı
- Esnek ve şeffaf olması
- Kolay işlenebilirlik
- İyi mekanik özellikleri



Şekil 5. *Polidimetilsiloksanın genel yapısı*

Yukarıdaki şekilde (Şekil 5) polidimetilsiloksanın genel yapısı görünmektedir. Bağlanmanın yapısı nedeniyle, Si-O bağ uzunluğunun 1.64 Å olduğu bulunmuştur. Bu değer, organik polimerlerde bulunana 1.53 Å uzunluğundaki C-C bağından, önemli ölçüde uzundur. Sonuç olarak, moleküller arası kalabalıktan kaynaklanan, sterik engeller burada azaltılmıştır. Bu durum, inorganik polimerler için doğru bir tespittir. İskeletteki oksijen atomları yan gruplar tarafından yüksüz hale getirilerek, zincir yapısını devam ettirebilmek için iki değerlik elektronuna ihtiyacı olan bir atom kadar küçüktürler. Bu şekilde Si-O bağ açısı, 143° ile normal bir tetrahedral açıdan büyüktür, bu durum ile burulma dönmeleri gerçekleşebilmektedir. Bu yapısal özellikler, zincirin dinamik esnekliğini artırma etkisine de sahiptirler, hatta bu özellikler, gelişmiş güzel bir zincir oluştuğunda zincirin sık bir şekil alma kabiliyeti olan denge esnekliğini de artırır. Geri kalan valansları ise en az bir organik grup ile doyurulmuş biçimdedir.

Silisyum bileşiklerindeki sadece tek bağlardan oluşmasının sebebi, silisyumun yarıçapının karbon atomunun yarıçapından çok daha büyük olmasındandır. Önceleri, çifte bağ oluşturabilecek p orbitallerinin, Π bağı için üst üste bineceği öngörülmüyordu. Ancak Mulliken bu varsayıma karşı gelmiştir ve p-orbitalleri örtüşmesinin daha az olmadığını ancak d orbitallerinde bağa katılması ile bir çift bağ yerine iki tek bağ oluşmasının daha uygun olduğunu savunmuştur [İşpir, vd., 2006; Rochow, 1987]. Bu şekilde silisyum

tek bağlar ile lineer polimerik yapılar oluşturmaktadır. Silisyumun silikon olarak tanımlanan bileşikleri için poliorganosiloksan veya siloksan adlandırması daha doğrudur. Bu adlandırmada Si-O-Si bir silisyum-oksijen bağlanma biçimi olduğu varsayılmaktadır. Polisiloksanlar inorganik polimerler arasında önemli bir yere sahiptirler. Siloksan” kelimesi “silikon, oksijen ve alkan” dan türetilmiştir ve siloksan bileşiğinin yapısı lineer yada halkalı olabilmektedir. Siloksan bileşik isimlerinin kısaltılmasında kullanılan L ve D harfleri sırasıyla, lineer ve halkalı yapıları organik silisyum (Si) bileşiklerini belirtmektedir. Polisiloksan grubu polimerler, ticari öneme sahip yapılardır. Silikonlar ve polisiloksanlar Si-O bağı ile silikat yapılarına benzemektedirler. Si-C bağı ile de yapının organik birimler tarafından modifiye edilmesi sağlanmaktadır. Bu sebeple siloksanlar, inorganik ve organik bileşikler arasında bir konuma sahiptirler.

Bu polimerlere, Si-O bağ yapısı önemli özellikler vermiştir. Örneğin bu bağın kuvvetli oluşu, siloksan polimerlerine hatırı sayılır derece termal kararlılık vermektedir. Bağlanma yapısı ve yan grupların kimyasal özellikleri polimerik yapıya çok düşük bir serbest yüzey enerjisi vermesinden dolayı son derece çekici yüzey özelliklerine sahiptirler. Polimerlerin bazı ilginç yapısal nitelikleri, bilimsel ilgi uyandıran fiziksel özelliklere yol açmaktadır. Polisiloksanların özellikleri aşağıda ki şekilde sıralanmaktadır.

- Kararlılık, güvenilirlik ve çevresel etki
- Geçirgenlik
- Termal Kararlılık (Isıya ve soğuğa dayanıklılık)
- Hava şartlarına (ozono) dayanıklılık
- Film oluşturma yeteneği
- Dinamik esneklik
- Denge esnekliği
- Hidrofobik davranış ve yüzey aktiviteleri
- Konformasyonlar ve uzaysal konfigürasyonlar
- Polimer zincirlerinin esneklikleri

Polisiloksanlar, termal ve oksidatif bozunmaya karşı oldukça dirençli, kararlı bileşiklerdir. Özellikle -50°C ile +70°C sıcaklık

aralığında mekaniksel ve elastik özelliklerini korumaktadırlar. Hem ısıya hem de soğuğa karşı oldukça dayanıklıdırlar. Özellikle Si-O bağ yapısı, siloksanlara termal kararlılık kazandırmaktadır. Bu özellik sayesinde siloksanlar, ısı transfer araçları ve yüksek performanslı elatomerler gibi, yüksek sıcaklık uygulamalarında kullanılmaktadırlar. Bu polimerlerin kararlılığının sebebi, zincirin her zaman yüksek oksidasyon basamağında olması ve indirgenmenin ancak çok yüksek sıcaklıklarda oluşmasındandır. Diğer önemli bir özelliği de denge ve dinamik esneklik olarak incelediğimiz, esnekliktir. Gelişigüzel bir zincir oluştuğunda, zincirin sık bir şekil alma kabiliyeti denge esnekliğidir. Polimerin erime noktası üzerine, esnekliğin denge tipi etkilidir. Bu bağlamda yüksek esneklik, yüksek konformasyonel düzensizlik ve böylece birleşmede yüksek entropi ve düşük erime noktası anlamına gelir. Bir polimeri daha fazla sert yada daha az esnek yapabilmek mümkündür. Aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi iki zincirin bir merdiven yapısı vermesi için, fenilen gruplarının zincir iskeletine katılması veya hacimli yan grupların bağlanması gerekmektedir. Bu katılık, erime noktasının azalmasına sebep olmaktadır. Si-O iskelet bağının C-C bağından önemli ölçüde uzun olması, zincirin dinamik ve denge esnekliğini de artırmaktadır. Dinamik esneklik, bir molekülün iskelet bağları etrafındaki dönmeler ile uzaysal düzenini değiştirme yeteneğine karşılık gelmektedir. Bağ rotasyonu sadece 0.8 kJ/mol'lük bir bariyer ile oldukça esnek iskelete sahiptirler. Buna göre zincir daha esnek oldukça, zincirler esnekliğini kaybetmeden daha fazla soğutulabilir ve böylece tüm madde camsı yapıya dönüşür. Bu polimerler uçaklarda ön camlarda ve gölgeliklerde güvenliği artırmak için kullanılan plastik veya cam tabakaların iç kısımlarında kullanılmaktadır. Elastomer materyallere göre, siloksan polimerleri iyi bir geçirgenliğe sahip olması sebebiyle gaz ayırma zarı olarak ilgi çekmektedirler. Yapay deri kaplaması şeklinde tasarlanan zarlarda, iç tabaka protein içerirken ve dış tabaka ise silikon polimeri tabakasıdır ve bu gaz ayırma zarına önemli bir örnektir. Dış tabaka sadece mekanik destekle sınırlı kalmayarak, zararlı bakterilerin içeri girmesini de engellemektedir. Ayrıca, içerde oluşan aşırı nemin

dışarı çıkmasına izin veren bir yapıdadır. [İşpir, vd.,2006: Quyang, 2004; Mourgues, vd.,2005]. Polidimetilsiloksanlar, çapraz bağlı, mükemmel biyoygunluk gösteren, iyi mekaniksel ve optiksel özellik sergileyen yapılardır. Bu modifiye siloksanlar, kontakt lens ortamında başarı ile kullanılmaktadırlar. Burada, gözün metabolik prosesi için ihtiyaç duyduğu oksijen, kan damarlarından ziyade hava ortamından içeriye difüzyon ile sağlanmaktadır. Kısaca, polidimetilsiloksanlar lensler için ideal polimerlerdir. .Lenslerin iç tarafı hidrofobik olup ve oksijen geçirgenliğine sahiptirler. Burada, siloksanların optiksel özelliği de önemlidir. Bu optiksel özellik sebebiyle siloksan polimerleri, oto ön camlarının iç tabakasında da uygulama alanına sahiptir. Aynı zamanda, protezlerde, yapay organ yapımında, estetik operasyonlarda, ilaç salınım sistemlerinde, bu polimerlerinin hem geçirgenlik hem de optik özelliklerinden faydalanılmaktadır. [İşpir, vd., 2006] Uzun yıllar kullanımdan sonra bile hidroliz olmaya ve oksidasyona karşı oldukça dayanıklıdırlar. Bundan dolayı, polisiloksan yapılan vücut implantları gibi kullanılmaktadır. Çünkü, hidrolitik veya diğer şekilde çok az bozunmaya uğramaktadırlar. Çizelge 1’de silikonun mekanik özellik karşılaştırmaları gösterilmiştir. [Jerschow, 2001].

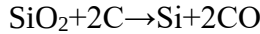
Çizelge 1.

Sıcaklık	Mekanik Özellik	Silikon Kauçuk (SR)	Doğal Kauçuk (NR)	Etilen Propilen Dien Kauçuk (EPDM)
25 °C	Yırtılma Direnci (N/mm)	22	42	17
	Kopmadaki Uzama (%)	720	610	670
	Kopma Dayanımı (MPa)	9,6	15,2	15,4
100 °C	Yırtılma Direnci (N/mm)	17	15	-
	Kopmadaki Uzama (%)	530	330	270
	Kopma Dayanımı (MPa)	8,5	9,4	9,8
150 °C	Yırtılma Direnci (N/mm)	11	10	-
	Kopmadaki Uzama (%)	490	210	200
	Kopma Dayanımı (MPa)	7,6	5	5

Polisiloksanların sentezine baktığımızda,

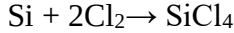
Silikon veya polisiloksan monomerinin hazırlanması elementel silisyum eldesi ile başlamaktadır. Elementel silikon,

mineral silikanın karbon ile yüksek sıcaklıkta indirgenme reaksiyonu ile elde edilmektedir. Şekil 6’da bu reaksiyon verilmiştir.



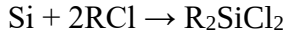
Şekil 6. Silisyum elde reaksiyonu

Elde edilen bu silisyum daha sonra Şekil 7’de ki reaksiyon ile SiCl_4 ’e çevrilmektedir.



Şekil 7. Silisyum tetraklorür eldesi

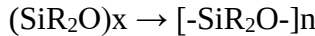
SiCl_4 ise bir organosilan oluşturmak üzere Grignard reaksiyonu verir. Bu reaksiyon “Rochow Prosesi” olarak adlandırılan bir yöntem ile elementel silisyumdan çıkarak ta yapılabilir



Şekil 8. Organosilan eldesi

R_2SiCl_2 monemerinin hidrolizi ile $[-\text{SiR}_2\text{O}-]$ polimeri elde edilmektedir.

Bu gün, polisiloksan sentezinde hidroliz yaklaşımı yerini, iyonik başlatıcılar ile organosilikon siklik trimer ve tetramerlerin halka açılma polimerizasyonuna bırakmıştır. Bu siklik mono merler dimetildiklorosilanın hidrolizinden üretilmektedirler Siklik siloksanlar, halka büyütme yöntemi olan halka açılma polimerizasyonuna uğrayabilirler. Siloksan bağının yapısından dolayı serbest radikaller başlatıcı türü gibi, kullanışlı değil iken anyonik ve kationik başlatıcılar oldukça etkindirler. Reaksiyon Şekil 9’da gösterilmiştir. [İşpir, vd.,2006]



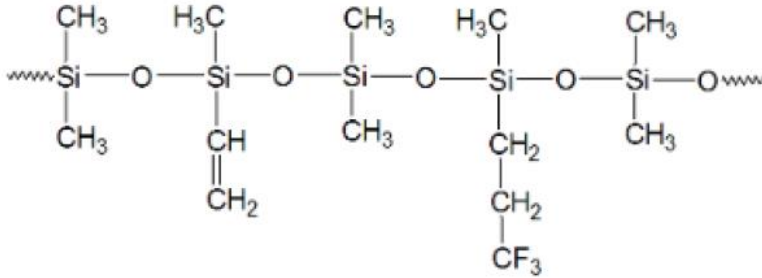
R, aril veya alkil olabildiği gibi x de polimerizasyon derecesidir.

Şekil 9. Halka açılma polimerizasyonu ile polisiloksanların eldesi

c) Florosilikon akrilat

Florosilikon akrilat polimeri, yüzey ıslanmasını, göz yaşı stabilitesi ve birikintilere olan direnci artırmaktadır. Florosilikonlar, fenilmetil silikonlar ve dimetilsilikonların bir uzantısı olarak, 1960’larda geliştirilen bir polimer türevidir. Özellikle, havacılık ve otomobil sektöründe üstün mekanik özelliklere sahip olan florosilikonların önemi de artmaya başlamıştır. Florosilikonlar düşük yüzey gerilimi, yağ ve çözücü direnci, oksidasyon, yüksek

sıcaklıkta bozulmama ve termal kararlılık açısından önemli yapılardır. Çözücü ve glikol gibi güçlü kimyasallara karşı, silikonlardan daha fazla güçlü direnç gösterirler. Ayrıca, florosilikon -50°C ile 300°C arasındaki geniş kullanım sıcaklık aralığına sahiptir [Köse, 2022]. Florosilikonun genel yapısı, Şekil 10'da verilmektedir.



Şekil 10. Florovinilmetil silikon yapısı

Florlu elastomerlerin yerine daha ucuz olan Silikon (MVQ) elastomeri kullanılmaktadır. Florosilikon, silikon gibi, stabil ve aşırı sıcaklıklara ve basınca karşı dayanıklı uzun ömürlü bir elastomerdır, ancak silikondan farklı olarak florosilikon trifloropropil grupları çermektedir. Bu gruplar, polar olmayan çözücülere, yağlara, asitlere ve alkalilere karşı kimyasal direncini artırmaktadır. Elastomerler, çekme ve basma gibi kuvvetler altında şekil değişikliğine uğradıktan sonra kuvvetlerin etkisinin ortadan kalkması ile orijinal boyutlarına geri dönebilen malzemelerdir. Elastomerlerin molekül arası bağ kuvvetleri zayıftır ve düşük elastik modüle sahip olmalarından dolayı yüksek oranda uzama gösterirler. Elastikiyet yetenekleri uzun polimer zincirlerinin, kendilerini yeniden yapılandırabilme özelliklerinden gelmektedir. Vulkanizasyon ile elastomer malzemelerin reolojik ve mekanik özelliklerinde düzelme sağlanabilmektedir. Isı, basınç ve kürleştirici malzemeler ile gerçekleşen vulkanizasyon işleminde çapraz bağlı polimer zincirleri oluşmaktadır. Bu işlem sonrasında malzemelerin elastikiyetleri artmaktadır Dolgu ve katkı malzemeleri ile de mekanik özellikler üzerinde iyileşme yapılabilmektedir [Köse, 2022; Jerschow, 2001;

Dawir, 2008]. Çizelge 2’de silikon ve florosilikonun özellikler karşılaştırılması verilmiştir.

Çizelge 2. Silikon ve florosilikonun özellikleri

Polimer	Mn (kg/mol)	Mw (kg/mol)	%mol vinil grup	Tg °C	Tc °C	Tf °C
Silikon	380	600	0,22	-126	90/-84	46/-41
Florosilikon	63	434	1	-70	-	-

d) Floropolimerler

Floropolimerler, yüksek oksijen geçirme değerine sahiptir. Birikintilere karşı dirençli olup, yüksek oranda yüzey ıslanma özelliği vardır. Lensin kırılma olmas ve yüksek maliyet üretimi kısıtlamıştır. Floropolimerler, 1940’lardan bu yana çeşitli tüketici ve endüstriyel ürünlerde kullanılan bir sentetik kimyasal ailesidir. Ayrıca çevrede ve vücudumuzda son derece kalıcı oldukları için kalıcı kimyasallar olarak da bilinmektedirler. PFAS (floropolimerler gibi sonsuza kadar kimyasal) kimyasalları, yapışmaz mutfak eşyaları, halılar, içme suyu ve bazı kontakt lensler gibi birçok tüketici ürününde mevcuttur. Vücutta aşırı miktarda PFAS bulunması, sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. PFAS kimyasalları kontakt lensler için yararlı özelliklere sahiptir, göz sağlığı açısından önemli olan oksijenin göze geçmesini ve yüzeyin pürüzsüz ve ‘ıslanabilir’ olmasını sağlamaktadır. Bu da kontakt lensleri rahatça kullanabileceğiniz anlamına gelir. Şu anda kontakt lenslerde PFAS ile ilgili doğrudan zararlı etkilere ilişkin rapor edilmiş herhangi bir vaka bulunmamaktadır. Ayrıca PFAS’ın kontakt lenslerden sızıntı yapıp yapamadığı ve eğer öyleyse gerçekten göz tarafından emilip emilmediği konusunda yayınlanmış bir araştırma ile karşılaşılmamıştır. Ancak kontakt lenslerde kullanılan PFAS’ın, PFAS’ın daha az hareketli bir formu olan floropolimerler olduğu ve aynı zamanda korneanın da cildiniz gibi güçlü ve etkili bir bariyer olduğu bilinmektedir. PFAS ile formüle edilmemiş bazı yumuşak kontakt lensler vardır; bu, PFAS’ın kontakt lenslerin içeriğinde olmadığı anlamına gelir ancak yine de PFAS’ın üretim sürecine dahil olduğu anlamına gelmektedir. Ayrıca yumuşak kontakt lenslerdeki

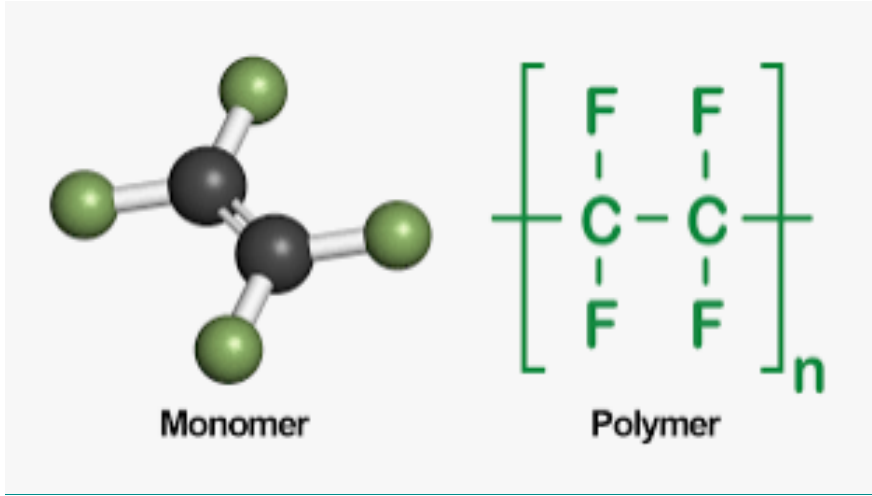
farklı PFAS seviye listeleri, çevrimiçi olarak da bulunabilmektedir. Ancak seviyelerin çok küçük olması ve ölçülmesi zor olması nedeniyle bunları karşılaştırırken dikkatli olunması gerekmektedir <https://lookafteryoureyes.org/news-and-views/fluoropolymers-pfas-and-contact-lenses/> Bununla birlikte; ABD'deki yeni araştırma lar, birçok yumuşak kontakt lensin büyük oranda floropolimer adı verilen ve tanımı gereği PFAS "sonsuz kadar kimyasal" olan bileşiklerden oluştuğunu öne sürmektedir. Bir floropolimer, çoklu karbon-flor bağlarına sahip, florokarbon bazlı bir polimerdir. Çözücülere, asitlere ve bazlara karşı yüksek direnç ile karakterize edilmektedir. En iyi bilinen floropolimer, DuPont Company'nin ticari markası olan "Teflon" markası altındaki politetrafloroetilendir. Diğer floropolimerlere, aşağıdaki polimerler örnek olarak verilmektedir.

- Poliviniliden florür (PVDF)
- Politetrafloroetilen (PTFE)
- Poliklorotrifloroetilen (PCTFE)
- Perfloroalkoksi polimer (PFA)
- Polyethylenetetrafluoroethylene (ETFE)...

Çizelge 2

Polimer	Erime noktası °C	Sertlik	Oksijen indeksinin sınırlandırılması	Gerilim modülleri (Mpa)
PTFE	327	60	>95	600
PFA	200	62	>95	700
PCTFE	220	90	-	1500
ETFE	265	75	30-36	1500
PVDF	175	79	-	2400

Çizelge 2’de bu polimerlerin özelliklerinden, Şema 1’de PTFE’nin kimyasal yapısı verilmiştir.

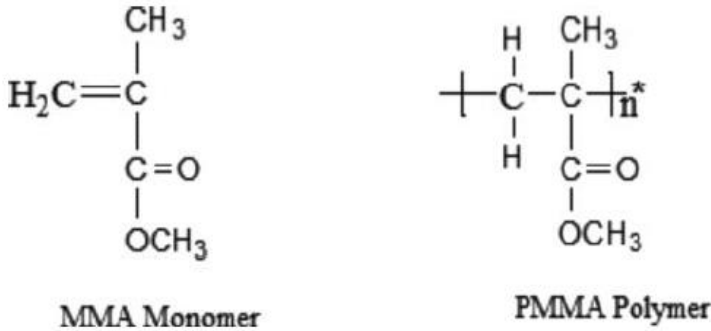


***Şema 1.** Tetrafloroetilen monomeri ve politetrafloroetilen (teflon) yapısı*

Poli(metilmetakrilat) (PMMA)

Poli (metil metakrilat) (PMMA) (Şekil 11), IUPAC'ta hidrokarbon açısından bakıldığında poli [1-(metoksi karbonil)-1-metiletilen] ve ester açısından bakıldığında poli(metil 2-metilpropenoat) adını taşımaktadır. PMMA, erken dönemlerde, 1930'lar da İngiliz kimyagerler Rowland Hill ve John Crawford tarafından keşfedilmiştir. Ardından ilk uygulaması, Alman kimyager Otto Rohm tarafından 1934'te gerçekleştirilmiştir. PMMA optik olarak berrak (şeffaf) bir maddedir, termoplastiktir ve inorganik camın yerine yaygın olarak kullanılır, çünkü yüksek darbe dayanımına sahiptir, hafiftir, kırılmaya karşı dayanıklıdır ve uygun işleme özelliğine sahiptir. Olağanüstü özellikleri arasında hava koşullarına dayanıklılık ve çizilme direnci de bulunmaktadır. Polimer yapısında bitişik metil grubunun (CH₃) varlığı, kristal bir biçimde birbirine yakın bir şekilde paketlenmesini ve C-C etrafında serbestçe dönmesini engellemektedir. PMMA'nın amorf bir termoplastik olmasının nedeni ise tam olarak budur. Polimerin ilk büyük uygulanması, uçak ta silah taretleri için pencereler ve kabarcık kanopiler. olarak kullanıldığı II. Dünya Savaşı sırasında

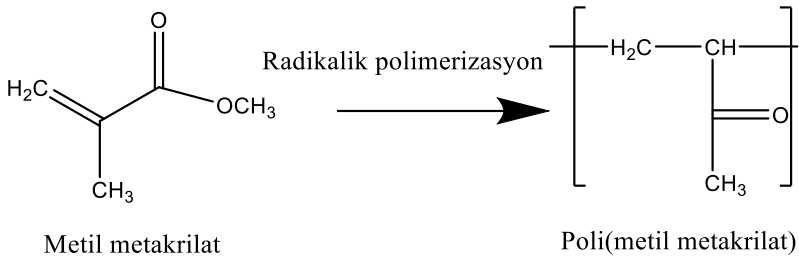
gerçekleşmiştir. PMMA, optik, sensör, analitik ayırma ve iletken cihazlar gibi uygulamalar açısından, umut verici bir polimerdir. Diğer uygulamalar arasında, biyomedikal, polimer elektrolitler, polimer viskozitesinde ve elektro-difüzyon veya elektro-ozmotik akış kullanılarak dağıtım gibi ilaçta kullanımı sayılabilmektedir. Uyumluluğu ve bir polimer parçası olarak kolay işlenebilir olması oldukça önemlidir. [Ali, vd., 2015; Hashim, vd., 2010; Lee, vd., 2001; Henry, vd., 2000; Shah, vd., 2006; Adhikari, vd., 2004]



Şekil 11. MMA monomeri ve PMMA polimerinin yapısı

Lens uygulamalarında; gaz geçirgenlik sorunu ($Dk=0$) nedeniyle günümüzde kullanımı sınırlandırılan polimetil metakrilat, aslında 1940 lı yıllardan itibaren yaşamımızdadır. 1930'ların sonlarında tanıtılan PMMA lensleri hala kullanılmaktadır. Polimer, metilmetakrilat monomerinin (MMA), yığın polimerizasyonu ile elde edilmektedir. Her polimerin eldesinde, başlama sıcaklığı, tepkime hızı, vizkozite artışı gibi parametreler uygun proses seçimi açısından önemlidir. Zincir polimerizasyonunda, yığın, çözelti, emülsiyon ve süspansiyon polimerizasyon prosesleri kullanılmaktadır. Yığın polimerizasyonunda, momomere başlatıcı eklendikten sonra belli sıcaklık ve basınç altında doğrudan polimerleştirilmektedir. Bu prosesle oldukça saf polimerler üretilebilmektedir. Sonuçta, PMMA, oda sıcaklığında sertleşen doğrusal bir polimerdir. Asimetrik karbon atomlarının rastgele konfigürasyonu ve hacimli yan gruplarla, görünür ışığa karşı yüksek bir şeffaflığa sahip olan oldukça amorf bir yapı oluşmaktadır. Çoğu

PMMA lense dallanmış polimerden veya dimetakrilat komonomeri ile hafifçe çapraz bağlanmış polimerlerden oluşmaktadır. PMMA'a küçük miktarlarda katkı maddeleri ile karıştırılması mukavemet, sertlik ve çizilme direnci sağlanabilmektedir. En sık kullanılan çapraz bağlama maddesi ise etilen glikol dimetakrilattır. Ortaya çıkan sert malzeme mükemmel işlenebilirliğe ve dayanıklılık özelliklerine sahip olup başarıyla kullanılmaktadır [Casini, 1987] Poli(metil metakrilat)'ın sentez reaksiyonu Şekil 11'de verilmiştir.



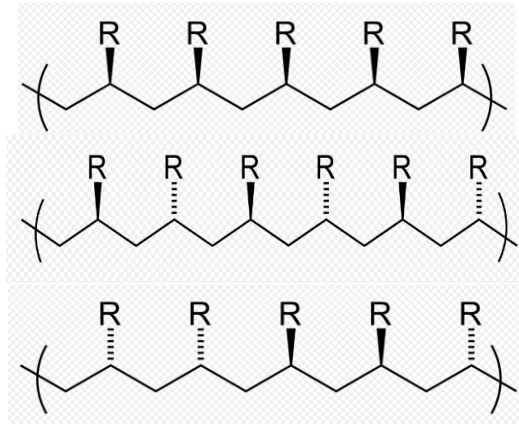
Şekil 11. Poli(metil metakrilat)'ın sentez reaksiyonu

PMMA, akrilat ailesine ait amorf polimerlerden biridir. 100 °C ila 120 °C arasında cam geçiş sıcaklığı aralığına ve oda sıcaklığında 1,20 g/cm³ yoğunluğa sahip renksiz bir polimerdir. Erime noktası 130°C'dır.%0,3 su emiciliğine, dengede %0,3 ila %0,33 nem emme kapasitesine sahiptir. Doğrusal büzülme kalıbı ise, 0,003 ila 0,0065 cm arasındadır. PMMA, UV radyasyonunun etkisi altında küçük bir değişime sahip olduğu için, güneş ışığına karşı direnci yüksek olan polimerler arasındadır. Çok iyi termal özelliğe ve termal stabiliteye sahiptir ve 100 °C kadar yüksek ve 70 °C kadar düşük sıcaklıklara kadar dayandığı bilinmektedir. Aynı zamanda 1.490 kırılma indisi ile çok iyi optik özelliklere sahiptir ve insan dokusuyla iyi derecede uyumluluk göstermektedir [Ali, vd.,2015].

Mekanik dayanım alanında PMMA yüksek Young Modülüne ve kırılmada düşük uzama değerine sahiptir. Bu nedenle koptuğunda parçalanmaz ve tek parça halinde olur. Çizilme direnci yüksek olan en sert termoplastiklerden biridir. Bu polimer, kimyasallara karşı makul bir dirence sahiptir. Laboratuvarın, çoğu sulu kimyasal çözeltisinden etkilenmez. Ancak esterler, ketonlar ve

klorlu ve aromatik hidrokarbonlara karşı direnci düşüktür. Polimer taktisitesi, bir yapı içindeki bitişik kiral merkezlerin göreceli stereokimyasıdır (Şekil 12) Bir polimerin fiziksel özellikleri camı geçiş sıcaklığı (Tg), çözünürlüğü, kristallik ve hidrolizidir. Bu özellikler, yalnızca, onu oluşturan monomerin türüne bağlı değil, aynı zamanda ikincil ve üçüncül yapılar üzerinde bağlantının stereo kimyasınada bağlıdır. Bu temel kimya bilgilerine dayanarak PMMA izotaktik, sindiyotaktik veya ataktik olabildiğini söyleyebiliriz. PMMA'nın amorf doğası, taktikselliği tarafından yönetilmektedir. Taktisellikte artan sıra; sindiyotaktik > ataktik > izotaktik, Tg de azalan sıra ise 130 °C > 120 °C > 55 °C bu şekildedir. Saf PMMA izotaktik, sindiyotaktik ve ataktik taktik formlarında olabilir. Bu durum, başlatıcının akıllıca seçilmesiyle, radikal ve anyonik polimerizasyonla üretilmesiyle, çözücü ve monomer beslemesine göre değişkenlik göstermektedir. Ticari PMMA ise, aşağıdakilerin çapraz bağlanan bir karışımıdır:

- izotaktik PMMA/sindiyotatik PMMA
- ataktik PMMA/sindiyotaktikPMMA
- ataktikPMMA/izotaktikPMMA.
- En yüksek PMMA yüzdesine sahip bir plastikleştirici/PMMA kopolimeri

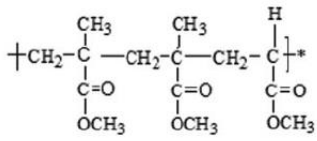


Şekil 12. Sırasıyla, izotaktik, sindiyotaktik ve ataktik yapılar (yan gruo düzenlenmeleri farklı)

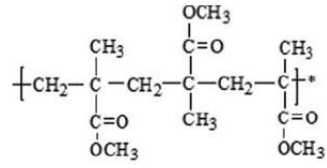
Bu nedenle; ticari malların özellikleri, camsı geçiş sıcaklığı (T_g), çözünürlük ve kristallik seviyesi büyük ölçüde farklılık göstermektedir. [Ali, vd.,2015; Charles, vd.,2006;Chang, vd.,2010; Chen, vd.,1995; İsthitake, vd.,2012;Mark, vd.,2007]

Genel olarak çözünürlük, bir çözünenin (katı, sıvı veya gaz) yeteneğidir. Homojen bir çözelti (karışım) oluşturmak için, çözünenin bir çözücü içinde çözünmesi demektir. Temel olarak bir maddenin çözünürlüğü, aslında hem çözünen maddenin ve hem çözücünün fiziksel , kimyasal özelliklerine ve sıcaklığa bağlıdır. Benzer benzeri çözer aforizmasında, polarite önemli bir rol oynamaktadır. Madde, kendisine benzer kimyasal yapıya sahip bir çözücüde en iyi şekilde çözünür fakat çözücünün çözme kapasitesi öncelikle polaritesine bağlıdır. PMMA organik bir polimerdir ve çözünürlüğünün kurallara tabi olması beklenmektedir. PMMA'nın çözünürlüğü aslında karmaşıktır. Öncelikle, çözücüde, PMMA'nın şişmesi ve ardından yüzeyinde çok yumuşak bir tabakanın oluşması görülür. Ardından, çözücü, homojen bir çözelti vermeden önce, tüm polimere difüze olmaktadır. Sonuç olarak, PMMA'nın, en iyi çözücüde tamamen çözünmesi birkaç dakikayı almaktadır. PMMA için en iyi çözücünün trikloretilen olduğu en fakir olanının ise triklorometan olduğu bildirilmiştir. Etil asetat, sikloheksanon gibi polar çözücülerde çözünürlüğünün iyi, fakat DMF gibi daha polar çözücüde yavaş çözüldüğünün olması ilginç bulunmuştur.

Kimyasallara karşı dirence bakıldığında, kimyasallar, polimerik malzemenin gücünü, esnekliğini ve yüzey görünümünü etkileyebilmektedir. Bu durum, emilim nedeniyle polimer zincirine saldırı şeklindedir. Bu saldırılar sıcaklık, basınç, zaman, stres gibi faktörlere de bağlıdır. PMMA'nın sergilediği normalden sapma bazı nedenlere bağlanabilmektedir. Bunlar, polimerin yüksek moleküler ağırlığı ve zincir çapraz bağlanması, PMMA'nın ataktik, izotaktik veya sindiyotaktik olma durumudur(Şekil 13) [Evchuk, vd.,2005; Ban, vd.,2009;Jian, vd.,2010; Pan, vd.,2013]



Isotactic PMMA



Syndiotactic PMMA

Şekil 13. İzotaktik ve sindiyotaktik PMMA'nın yapısı

Kaynaklar

1. Cakmakcı E., Gungor A., Kayaman-Apohan N., Kuruca S.E., Cetin M.B., Dar K.A.2012. "Cell growth on in situ photo-cross-linked electrospun acrylated cellulose acetate butyrate" Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. 2012;23(7):887-99.
2. Wang X, Huang S, Wang Y, Wei P, Chen Y, Xia Y, et al.2017." Eco-friendly cellulose acetate butyrate/poly (butylene succinate) blends: crystallization, miscibility, thermostability, rheological and mechanical properties" Journal of Polymer Research., 24(2):16.
3. Biniaś W, Biniaś D. 2014. "Formation of Microfibres from Cellulose Acetate Butyrate by Electrospinning with a Surface Modified in Low-temperature Plasma" Fibres & Textiles in Eastern Europe.
4. Yıldız, Z., Önen, H.A., Dehmen, O.G., Güngör, A. 2021. "Usage of Cellulose Acetate Butyrate Based Oligomeric Structures on Cotton Fabric Coatings. 8(1),303-310.
5. El-Sakhawy, M., Kamel, S., Salama, A., and Sarhan, H. 2014, "Journal of Drug Delivery, Article ID 575969, 1-6, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/575969>.
6. Qiu, X., Hu, S. 2013. "Smart materials based on cellulose: a review of the preparations, properties, and applications," Materials, 6, 3, 738–781.
7. Shanbhag, A., Barclay, B.,Koziara, J., and Shivanand, P.2007 "Application of cellulose acetate butyrate-based membrane for osmotic drug delivery," Cellulose, 14,1,65–71.
8. Mousavi, S.M.,Arjmand, O., Hashemi, S.A., and Banaei, N. 2016. " Modification of the Epoxy Resin Mechanical and Thermal Properties with Silicon Acrylate and Montmorillonite Nanoparticles"Polymers from Renewable Resources, 7, 3.

9. Liu, H., Chen, M., Huang, Z., Xu, K., Zhang, X. 2004. "The influence of silicon-containing acrylate as active diluent on the properties of UV-cured epoxydiacrylate films" European Polymer Journal 40, 609–613.
10. Mark, L.E., Allcock, H.R., West, R. 2005 "Inorganic Polymers". Oxford University Press
11. İşpir, S., Serin, S. 2006. "Polisilioksanlar ve kullanım alanları" KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2).
12. Jerschow, P. 2001 "Silicone Elastomers, 1st ed., Rapra Technology Limited, Shawbury "
13. Dawir, M. 2008. "Sealing in the automotive industry with liquid fluoro-silicone elastomers" Seal. Technol. 7, 10-14.
14. Köse, E. 2022. "Floro silikon kauçuğun kür koşullarının optimizasyonu" Hacettepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi
15. <https://lookafteryoureyes.org/news-and-views/fluoropolymers-pfas-and-contact-lenses/>
16. Casini, M., 1987. "Structural properties of contact lens materials" Ophthalmic Drug Delivery. Biopharmaceutica, Technological and Clinical Aspects 11, Liviana Press, Padova
17. İskeleli, G., Kanpolat, A., Fırat, E., Can, İ., Toker, E., Şengör, T., Çoşar, B., Or, H., Canan, G. Kontakt Lens, Türk Oftalmoloji Derneği
18. Bilgihan, K., Keratokonüs Bilgi Bankası. https://www.keratokonus.com.tr/konus_lenstedavisi.html
19. Akyol, N., Kontakt Lens Materyallerinin Özellikleri. <https://www.nurayakyol.com/kontakt-lenslerin-materyal-ozellikleri>
20. Efron, N. 2024. Chapter 11 - Rigid Lens Materials, Contact Lens Practice, 122-130, press

21. Hashim, H., Adam, N. I., Zaki, N.H.M., Mahmud, Z.S., Said, C.M.S.,Yahya, M.Z.A., Ali,, A.M.M.2004 “Natural rubber-grafted with 30% Poly (methylmethacrylate) characterization for application in lithium polymer battery”, Conference on Science and Social Research, Kuala Lumpur, Malaysia, 485–488.
22. Henry, A.C.; Tutt, T.J., Galloway, M.,Davidson, Y.Y.,McWhorter, C.S.,Soper, S.A., McCarley, R.L.2000. “Surface modification of poly(methyl methacrylate) used in the fabrication of microanalytical devices”, *Analytical Chemistry*, 72(21), 5331–5337.
23. Lee, L.H.; Chen, W.C. 2001. "High-refractive-index thin films prepared from trialkoxysilane-capped poly (methyl methacrylate)", *Titania materials. Chem. Mater.*, 15, 1137–1142.
24. Shah, J. J.,Geist, J.,Locascio, L. E.,Gaitan, M.,Rao, M. V.,Vreeland, W. N. 2006“Surface modification of poly(methyl methacrylate) for improved adsorption of wall coating polymers for microchip electrophoresis”, *Electrophoresis*, 27(19), 3788–3796.
25. Adhikari, B.,Majumdar, S. 2004. “Polymers in sensor applications”, *Progress in Polymer Science*, 29(7), 699–766.
26. Ali, U., Juhanni, K., Karim, A., Buang, N.A.2015 "A Review of the Properties and Applications of Poly(Methyl Methacrylate) (PMMA)", *Polymer Reviews*,55;4,678:705
27. Evchuk, I.Y., Musii, R.I., Makitra, R.G., Pristanskii, R. E. 2005. “Solubility of polymethyl methacrylate in organic solvents”, *Russian Journal of Applied Chemistry* ,78(10), 1576–1580.
28. Ban, M.,Yuhara, T.2009 “Chemical resistance of DLC thin film deposited PMMA substrates”, *Surface and Coatings Technology*.203(17–18), 2587–2590.

29. Jian Li, Y.L., Meng, X., Liu, Y.2010 “Durability of wood-PMMA composite”, *Applied Mechanics and Materials*. 26–28, 830–834.
30. Pan, X., Mercade-Prieto, R., York, D., Preece, J. A., Zhang, Z.2013. “Structure and mechanical properties of consumer-friendly PMMA microcapsules”, *Industrial & Engineering Chemistry Research*., 52(33), 11253–11265.
31. Charles, A.H. *Handbook of Plastics Processes*; Wiley: NJ, 2006, pp. 1–7.
32. Chang, L.;Woo, E.M. 2010. “Tacticity effects on glass transition and phase behavior in binary blends of poly (methyl methacrylate)s of three different configurations”, *Polymer Chemistry*, 1(2), 198–202.
33. Chen Chuanfu, R.C., Xi, F. 1995“Stereoregularity of poly (methyl methacrylate) obtained with chiral anionic initiator”, *Chinese Journal of Polymer Science*, 13(1), 91–96.
34. Ishitake, K., Satoh, K., Kamigaito, M., Okamoto, Y.2012 “From-syndiotactic-to-isotactic stereogradient methacrylic polymers by RAFT copolymerization of methacrylic acid and its bulky esters”, *Polymer Chemistry*. 3(7), 1750–1757.

BÖLÜM VIII

Poli(vinilpirolidon-co-bütillakrilat-co-N-hidroksimetil akrilamit) Terpolimeri Üzerine Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilmiş İnvertaz Enziminin Meyve Sularındaki Sakkaroz Miktarının Belirlenmesinde Kullanımı

Hidayet MAZI
Orhun HAKKOYMAZ

Giriş

Enzimler, canlı hücrelerde meydana gelen kimyasal reaksiyonların aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızını artıran biyolojik katalizörlerdir (Enginer & ark., 2000). Bu amaçla enzimler endüstride serbest ve bir destek materyale tutturulmuş halde olmak üzere iki farklı şekilde kullanılırlar. İmmobilizasyon işlemi, enzimlerin optimum pH, optimum sıcaklık ve kinetik parametrelerini etkileyebilmektedir (Danisman & ark. 2004). Enzimlerin immobilizasyonunda hapsedme, adsorbsiyon, kovalent

bağlanma gibi farklı yöntemler kullanılır (Nakajima & ark. 1989; Monsan, Combes & Alemzadeh, 1984; Rehman & ark., 2016). Kovalent bağlanma yöntemi enzimlerin immobilizasyonunda en sık ve en detaylı kullanılan bir yöntemdir (Mazi & ark., 2006). Bu yöntem seçilen enzim ile suda çözünürlüğü olmayan bir destek materyal arasında kovalent bağlanma esasına dayanmaktadır. Bu yöntemi immobilizasyonda kullanmak için enzimin yapısı ve içerdiği fonksiyonel gruplar bilinmelidir. Destek materyal ile enzim arasındaki kovalent bağlanma enzimin yapısında bulunan aminoasitlerdeki fonksiyonel gruplar aracılığı ile olmaktadır (Sano, Kato & Ikada, 1993). Bağlanmalar güçlü olduğundan bu yöntemle enzimin aktivitesinde artmalar görülmektedir. Bu yöntemde enzim sızıntısı yok denecek kadar azdır. Kovalent bağlanma yönteminde enzimler destek materyal üzerine ya doğrudan ya da bağlayıcı bir ajan kullanarak bağlanmaktadır. Bağlayıcı bir ajan kullanıldığında enzim daha rahat hareket edebilmekte ve aktifliği doğrudan bağlanmaya göre daha fazla olmaktadır. Bunun nedeni doğrudan bağlanmada enzimin hareketinin kısıtlanmasıdır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı ise bağlayıcı ajanların enzimlerin aktif kısımlarını da bağlama ihtimalinin olmasıdır.

Kovalent bağlanma yönteminde bağlayıcı ajanlardan biri Bovine Serum Albumin(BSA)'dır. Serum albüminler kanda bol miktarda bulunan proteinlerdir (Sanabria & Romero, 2022). BSA araştırmacılar tarafından çok çeşitli alanlarda kullanılan bir proteindir (Deulgaonkar & Lad, 2022). BSA molekül kütlesi 66.463 Da olan tek bir polipeptid zincirinde 583 amino asit kalıntısı içerir (Rombouts & ark., 2015; Paris & ark., 2012).

Destek materyal seçimi kovalent bağlanma yönteminde immobilize enzimlerin aktivitelerini korumaları için oldukça önemlidir. Bu amaçla doğal malzemeler (An & ark., 2015), sentetik polimerler (Zhan & ark., 2013) ve nanopartiküller (Cao & ark., 2016) destek materyal olarak immobilizasyonda kullanılmaktadır.

Enzimlerin en önemli kinetik parametreleri Michelis–Menten sabiti (K_m) ve maksimum reaksiyon hızıdır ($V_{maks.}$). Bu

parametreleri Michelis–Menten eşitliğinden türetilen Lineweaver-Burk, Hanes ve Woolf-Augustinsson-Hofstee yöntemleri yardımıyla belirlemek mümkündür (Chang, 2005).

Bu çalışmada, daha önce grubumuz tarafından bağlayıcı ajan olarak BSA kullanılarak poli(vinilpirolidon-**co**-bütillakrilat-**co**-N-hidroksimetil akrilamid) terpolimeri üzerine kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen invertaz enziminin meyve sularındaki sakkarozun belirlenmesi ve kinetik parametrelerinin belirlenmesi çalışıldı. İmmobilize edilen enzimin raf ömrü ve tekrar kullanımı da belirlendi.

Materyal ve Metot

Materyal

Kullanılan çözücüler ve tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ile N-hidroksimetil akrilamid Merck(Almanya) firmasından tedarik edilerek saflaştırılmadan kullanıldı. N-vinil pirolidon ve bütillakrilat Sigma-Aldrich(USA) firmasından tedarik edildi ve vakum altında damıtma yöntemiyle saflaştırılarak kullanıldı. Benzoil peroksit Merck firmasından temin edildi. İvertaz enzimi, bovine serum albumin(BSA), glutaraldehit(GA), glukoz, fruktoz ve sakkaroz ise Sigma-Aldrich firmasından tedarik edildi.

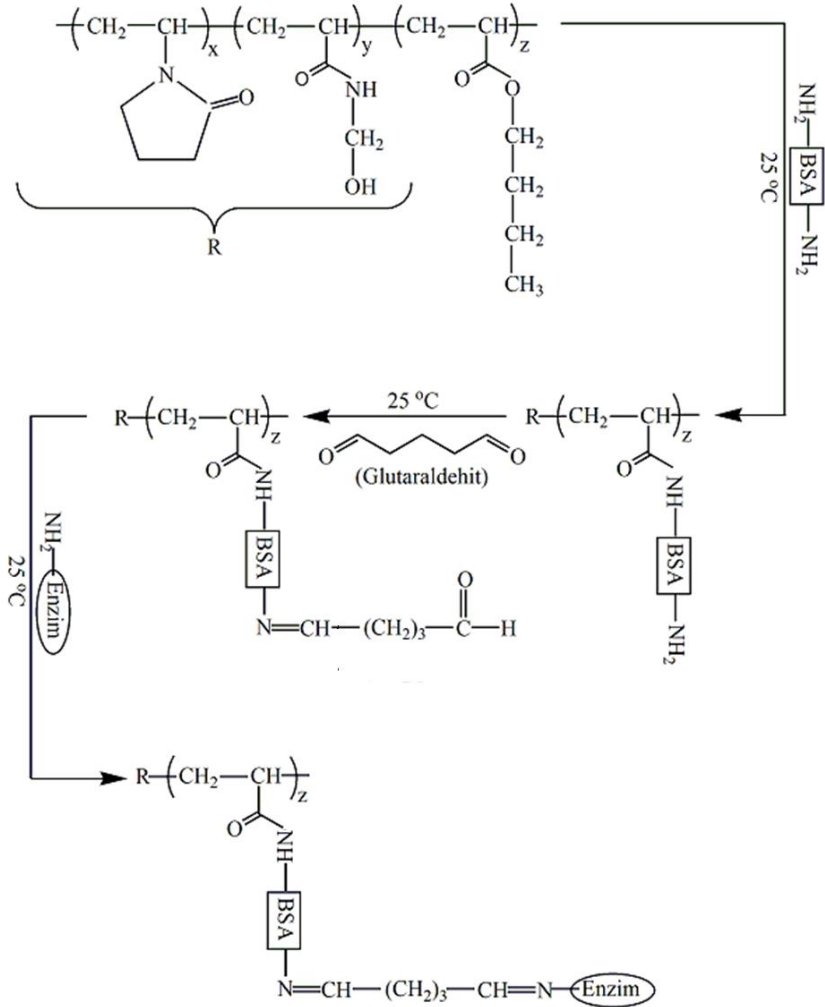
Polimer Sentezi ve Karakterizasyonu

Poli(N-vinilpirolidon-**co**-bütillakrilat-**co**-N-hidroksimetilaakrilamid) terpolimeri daha önceden yapılan çalışmamızda belirtildiği gibi sentezlenip enzim immobilizasyonunda kullanıldı (Hakkoymaz & Mazi, 2020). Ayrıca terpolimerin karakterizasyon işlemi de yapılan bu çalışmada belirtilmiştir.

Enzim İmmobilizasyonu

Bu yöntemle yapılan immobilizasyon işleminde, glutaraldehit çapraz bağlayıcı ajan olarak, bovin serum albümin (BSA) proteini ise yardımcı ajan olarak kullanıldı. Önceden

sentezlenip çözelti haline getirilerek saklanmış olan polimerden belirlenen miktarda çözelti alınıp çapı 1 cm olan yuvarlak kuyucuklar içerisine dökülerek, kuruması için bir gün beklendi. Ertesi gün, EDTA çözeltisi içerisine enzim çözeltisi, glutaraldehit çözeltisi, BSA (Bovin Serum Albümin) çözeltisi karıştırılarak önceden hazırlanmış olan filmin üzerine döküldü ve bir gün daha kuruması için bekletildi. Kuruma gerçekleştikten sonra hazırlanan bu filmler tutunmayan enzimin tespiti için, EDTA çözeltisinde 3 defa yıkandı ve yine kurumaya bırakıldı. Yıkamadan bir sonraki gün hem yıkama çözeltileri hem de immobilize filmler için serbest enzimle karşılaştırmalı olarak aktivite ölçümleri yapıldı (Hakkoymaz, 2017). Enzimin polimer filmi üzerine immobilizasyon mekanizması **Şekil 1**'de verilmiştir.



Şekil 1. İvertaz enziminin kovalent bağlanma yöntemiyle yapılan immobilizasyonun mekanizması

İvertaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim tutturulmuş polimer filmleri aktivite tayininden önce pH'ı 7,2 olan EDTA çözeltisinde 3 defa yıkanarak kullanıldı. Daha sonra yıkama çözeltileri, immobilize enzim ve serbest enzimin aktivite ölçümleri, 540 nm'deki absorbansın ölçümü ilkesine

dayanan Nelson metoduyla gerçekleştirildi (Nelson, 1944). Serbest Enzim olarak 0,00016 mg/mL enzim çözeltisi, immobilizasyonda ise 0,008 mg/mL derişimindeki enzim çözeltisi kullanıldı. pH taraması dışındaki çalışmalarda tampon olarak pH=4,6 olan asetat tamponu kullanıldı. 540 nm'deki absorbans ölçüldükten sonra bağıl aktivite (% olarak) ve maksimum aktivite (% olarak) değerleri aşağıdaki eşitlikler yardımıyla hesaplandı. Eşitliklerde A_b bağıl aktiviteyi, A_k kompleksin aktivitesini, A_s Serbest enzimin aktivitesini, ΔA yıkama çözeltisine geçen enzimin aktivitesini ve A_{maks} ise o serideki en yüksek aktivite değerini göstermektedir (Hakkoymaz, 2017).

$$A_b = (A_k \cdot 100) / (A_s - \Delta A)$$

$$\% \text{ Maksimum Aktivite} = (A_b / A_{maks}) \cdot 100$$

Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi

Enzimlerin kinetik parametreleri olan

$$K_m \text{ ve } V_{maks} \text{ değerleri } V = \frac{V_{maks} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad \text{şeklinde}$$

ifade edilen Michaelis-Menten eşitliğinin matematiksel olarak 3 farklı şekilde düzenlenmesi ile oluşan 3 farklı yöntemle hesaplandı. Bu yöntemler ve eşitlikleri aşağıda verilmiştir.

a) Lineweaver-Burk Yöntemi

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{maks}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}}$$

b) Hanes Yöntemi

$$\frac{[S]}{V} = \frac{1}{V_{maks}} \cdot [S] + \frac{K_m}{V_{maks}}$$

c) Woolf-Augustinsson-Hofstee Yöntemi

$$V = - \frac{K_m}{[S]} + V_{maks}$$

Bu eşitliklere göre çizilen grafiklerin eğimlerinden ve y-eksenlerini kestikleri noktalardan faydalanılarak 3 farklı yöntemle K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi.

Bulgular ve Tartışma

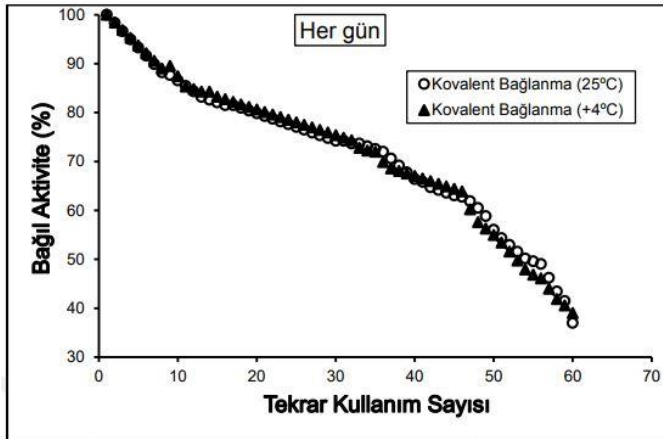
İmmobilizasyonun Optimum Parametrelerinin Belirlenmesi

İmmobilizasyonda kullanılan polimer miktarı, sakkaroz miktarı, BSA miktarı, GA miktarı, pH ve sıcaklık gibi parametrelerin optimum değerlerini belirlemek için gerekli çalışmalar yapıldı. Polimer miktarının optimizasyonu için yapılan çalışmaların sonucunda optimum polimer miktarı 5 mg olarak belirlendi. İmmobilize enzim ve serbest enzim aktifliğine sakkaroz konsantrasyonunun etkisini araştırmak için 5µM-75mM değerleri arasında değişen derişimlerde sakkaroz çözeltileri hazırlanarak aktivite tayini yapıldı. Serbest enzim için optimum sakkaroz miktarı 7,5 mM, immobilize enzim için ise 11,25 mM olarak bulundu. Glutaraldehit, enzimlerin immobilizasyonunda yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılardan bir tanesidir (Ford, Radin & Peske, 1978). İmmobilize enzimin aktivitesine glutaraldehitin etkisini incelemek için yapılan çalışmalar sonucunda optimum GA miktarı %1.5 olarak bulundu. Bir protein olan Bovine Serum Albümin (BSA) sığır kanından elde edilir (Hu & Su, 2003). Kolaylıkla bağlanabilme, kararlılık ve düşük maliyetlerde elde edilebilmelerinden dolayı BSA enzim immobilizasyonunda kullanılmaktadır (Tripathi, Kandimalla & Ju, 2006). Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda optimum BSA miktarı %2.5 olarak belirlendi. Serbest enzim için pH=5 iken immobilize enzim için pH=7.0 olarak belirlendi. Ayrıca serbest enzimin aktivite göstermediği yüksek pH değerlerinde dahi immobilize enzim aktivite göstermektedir. Her enzimin substratını en fazla değişikliğe

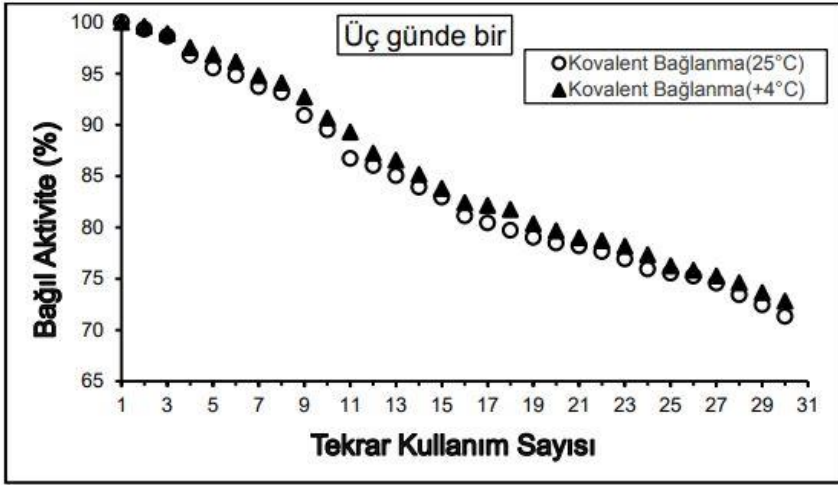
uğrattığı bir sıcaklık değeri vardır ve bu değere optimum sıcaklık denir (Blanco & Blanco, 2017). Optimum sıcaklığın belirlendiği çalışmalara göre optimum sıcaklık değeri immobilize enzim için 80°C olarak ölçülmüştür. Serbest enzim için bu değer 50°C'dir. Hatta immobilize enzimin maksimum aktivite gösterdiği sıcaklıkta serbest enzim denatüre olmaktadır.

Tekrar Kullanım ve Depolama

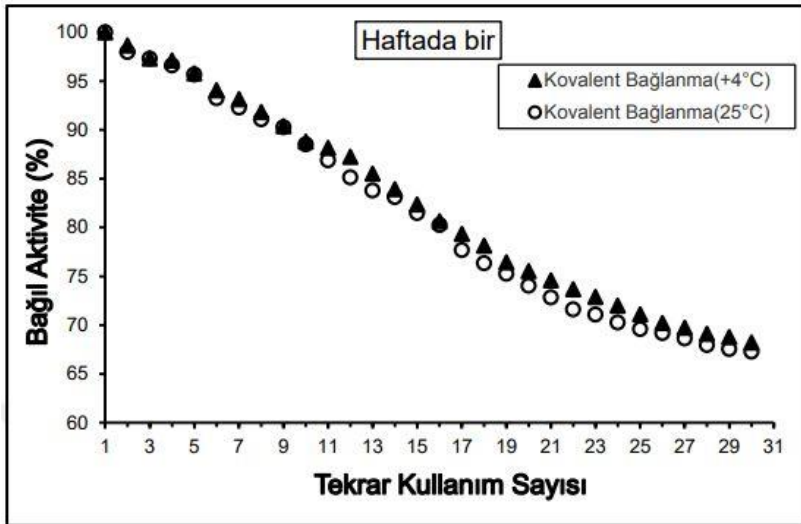
Endüstriyel uygulamalarda immobilize edilmiş enzimlerin en önemli avantajı tekrar tekrar kullanılabilmesidir (Asgher, Noreen & Bilal, 2017). Tekrar tekrar kullanılan enzim endüstriyel uygulamalarda maliyeti önemli ölçüde düşürmektedir. Poli(N-vinilpirolidon-co-bütülaakrilat-co-N-hidroksimetilaakrilamit) terpolimeri üzerine kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen invertaz enziminin tekrar kullanımı için hem 4°C hem de 25°C'de muhafaza edilen immobilize enzimler kullanıldı. Kovalent bağlanma yönteminde her gün (60 tekrar kullanım) (Şekil 2), üç günde bir (30 tekrar kullanım) (Şekil 3) ve haftada bir (30 tekrar kullanım) (Şekil 4) olmak üzere farklı zamanlarda aktivite ölçümü yapıldı.



Şekil 2. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzimin saklama koşullarına bağlı olarak her gün yapılan tekrar kullanım grafiği.



Şekil 3. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzimin saklama koşullarına bağlı olarak üç günde bir yapılan tekrar kullanım grafiği.



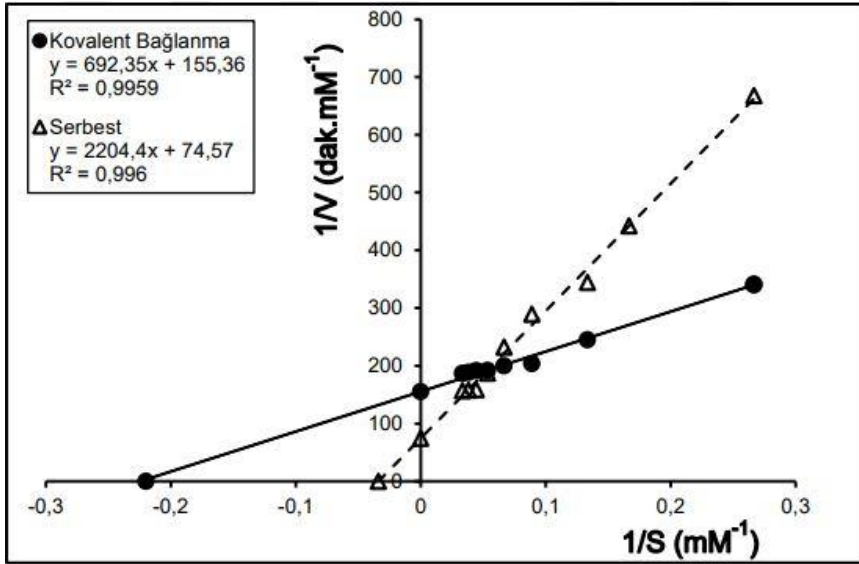
Şekil 4. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzimin saklama koşullarına bağlı olarak haftada bir yapılan tekrar kullanım grafiği.

Şekil 2, Şekil 3 ve Şekil 4'teki sonuçlar beraber değerlendirildiğinde, enzimin oda sıcaklığı veya buzdolabında depolanmasının pek bir fark yaratmadığı anlaşılmaktadır. Enzimin her gün kullanılması ile yapılan tekrar kullanım çalışmalarında (Şekil 2) 30 tekrar kullanım neticesinde enzimin aktivitesinin %74'ünü hala koruduğu gözlemlendi. Bu değer, enzim 3 günde bir kullanıldığında (Şekil 3) %71 ve haftada bir kullanıldığında (Şekil 4) %67 olarak bulundu.

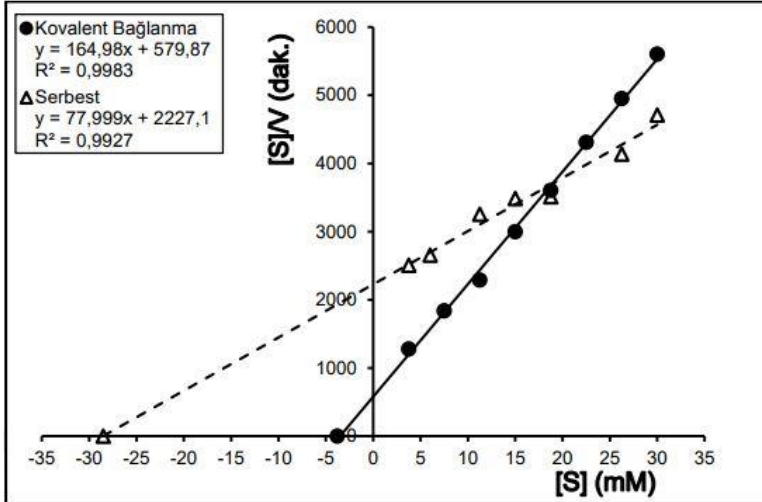
Meyve suyundaki sakkaroz miktarının belirlenmesi için immobilize enzim ile farklı markaların meyve suları (nar, vişne ve portakal) ile çalışmalar gerçekleştirildi. Bu çalışmalarda da aynı sonuçlar elde edildi. Buradan çıkışla, immobilize enzimin özel saklama koşulları gerektirmediği ve tekrar kullanım sıklığı ne olursa olsun 30 tekrar kullanım neticesinde aktivitesinin en az %67'sini koruyabildiği belirlendi. Bu sonuçlar enzimin endüstriyel uygulamalara son derece uygun olduğunu ortaya koymaktadır.

Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi

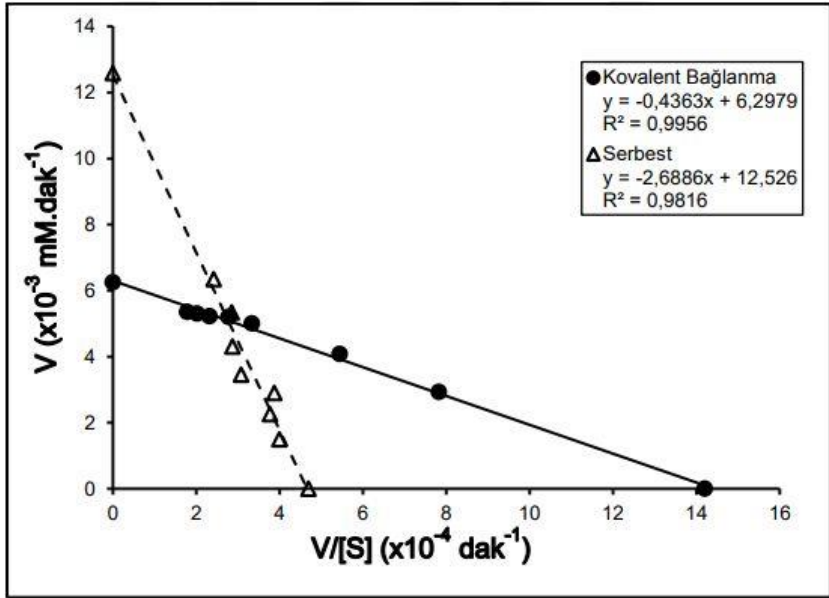
Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzimin serbest enzimle karşılaştırmalı olarak kinetik parametreleri (K_m ve V_{maks}) belirlenmeye çalışıldı. Bunun için daha önceki bölümlerde de adı geçen Lineweaver-Burk (Şekil 5), Hanes (Şekil 6) ve Woolf-Augustinsson-Hofstee (Şekil 7) yöntemleri kullanıldı. Bu yöntemlerin grafiklerinden elde edilen K_m ve V_{maks} değerleri ise **Tablo 1**'de verilmiştir.



Şekil 5. Kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen enzimin serbest enzimle karşılaştırmalı Lineweaver-Burk grafiği.



Şekil 6. Kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen enzimin serbest enzimle karşılaştırmalı Hanes grafiği.



Şekil 7. Kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen enzimin serbest enzimle karşılaştırmalı Woolf-Augustinsson-Hofstee grafiği.

Tablo 1. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzim ve serbest enzime ait Lineweaver-Burk, Hanes ve Woolf-Augustinsson-Hofstee grafikleri ile elde edilen K_m ve V_{maks} değerleri.

	Lineweaver-Burk		Hanes		Woolf-Augustinsson-Hofstee	
Enzim	K_m (mM)	V_{maks} (mM/dak)	K_m (mM)	V_{maks} (mM/dak)	K_m (mM)	V_{maks} (mM/dak)
Serbest	29,561	0,013	28,553	0,013	26,886	0,013
Kovalent	4,456	0,006	3,515	0,013	4,363	0,013

Grafikler ve tablo incelendiğinde kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzimin K_m değerinin serbest enzimden her üç yöntem için de çok daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum immobilize edilen enzimin serbest enzime

göre substratına daha ilgili olduğunu göstermektedir. Tablodan V_{maks} değerlerine bakıldığında ise immobilize enzimin serbest enzime göre daha düşük çıktığı anlaşılmaktadır. Her üç yöntem için de benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Sonuçlar

Yapılan bu çalışmada, poli(VP-co-BAC-co-NHMAAm) terpolimerine kovalent bağlanma metoduyla immobilize edilmiş invertaz enziminin kinetik parametreleri (K_m ve V_{maks}), optimum pH ve sıcaklık değerleri, depolama ömrü, saklama koşulları ve farklı meyve sularındaki tekrar kullanım çalışmaları gerçekleştirildi.

İmmobilizasyon işlemi enzimin 5.0 olan optimum pH değerini 7.0'a taşıdığı ve enzime geniş bir pH çalışma aralığı sağladığı görüldü.

Optimum sıcaklığın belirlendiği çalışmalarda, serbest enzim için 50°C olan optimum sıcaklığın immobilizasyon ile 80°C'ye yükseldiği ve enzimin denatürasyon sıcaklığının 70°C'den 95°C'ye kaydığı gözlemlendi. Bu da enzime yüksek sıcaklıklarda kullanılma potansiyeli ve buna bağlı olarak endüstriyel proseslerin süresini kısaltma şansı olduğunu ortaya koymaktadır.

Depolama ömrü ve tekrar kullanım çalışmalarının neticesinde, enzimin özel saklama koşulları gerektirmediği ve oda sıcaklığında bile depolansa 30 tekrar kullanım neticesinde aktivitesinin en az %70'ini koruyabildiği belirlendi.

Hem serbest enzim hem de kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzim için Lineweaver-Burk, Hanes ve Woolf-Augustinsson-Hofstee grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi. Bu üç yöntem için de bu değerlerin birbirine benzer olduğu gözlemlendi. Immobilize enzim için K_m değerinin (ortalama olarak 4.1) serbest enzime (ortalama olarak 28.3) oranla çok düşük olduğu belirlendi. Elde edilen bu sonuçlar kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen enzimin endüstrideki farklı uygulamadaki sakkaroz tayininde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

Kaynakça

An, N., Zhou, C.H., Zhuang, X.Y., Tong, D.S. & Yu, W.H. (2015) Immobilization of enzymes on clay minerals for biocatalysts and biosensors. *Appl. Clay. Sci.*, 114, 283-296. Doi: 10.1016/j.clay.2015.05.029

Asgher, M., Noreen, S. & Bilal, M. (2017) Enhancement of catalytic, reusability, and long-term stability features of *Trametes versicolor* IBL-04 laccase immobilized on different polymers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54-62. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.11.012

Blanco A. & Blanco G. (2017) Enzymes. *Medical Biochemistry*, 153-175. DOI:10.1016/B978-0-12-803550-4.00008-2

Cao, Y., Wen, L., Svec, F., Tan, T., Lv, Y. (2016). Magnetic AuNP@Fe₃O₄ nanoparticles as reusable carriers for reversible enzyme immobilization. *Chem. Eng. J.* 286 272-281. DOI:10.1016/j.cej.2015.10.075

Chang, R. (2005). Physical Chemistry for the Biosciences. Sausalito, CA: University Science.

Danisman, T., Tan, S., Kacar, Y. & Ergene, A. (2004) Covalent immobilization of invertase on microporous pHEMA–GMA membrane. *Food Chemistry*, 85, 461–466. DOI:10.1016/j.foodchem.2003.07.015

Das, R., Mishra, H., Srivastava, A. & Kayastha A. M. (2017) Covalent immobilization of β -amylase onto functionalized molybdenum sulfide nanosheets, its kinetics and stability studies: A gateway to boost enzyme application. *Chemical Engineering Journal*, 328, 215-227. DOI:10.1016/j.cej.2017.07.019

Deulgaonkar, P. S. & Lad, V. N. (2022) Exploring the interfacial adsorption capability of bovine serum albumin. *Applied Surface Science Advances*, 11, 100276. DOI:10.1016/j.apsadv.2022.100276

Erginer, R., Toppare, L., Alkan, S., & Bakir, U. (2000) Immobilization of invertase in functionalized copolymer matrices. *Reactive and Functional Polymers*, 45, 227–233. DOI: 10.1016/s1381-5148(00)00036-5

Ford, D. J., Radin, R. & Pesce, A.J. (1978) Characterization of glutaraldehyde coupled alkaline phosphatase-antibody and lactoperoxidase-antibody conjugates. *Immunochemistry* 15, 237-243. DOI: 10.1016/0161-5890(78)90061-5

Hakkoymaz, O. & Mazi, H. (2020) An immobilized invertase enzyme for the selective determination of sucrose in fruit juices. *Analytical Biochemistry*, 611, 114000. DOI: 10.1016/j.ab.2020.114000

Hakkoymaz, O. (2017) Poli(vinilpirolidon-co-bütüla akrilat-co-n-hidroksimetil akrilamit) terpolimeri üzerine invertaz enziminin immobilizasyonu, (Yüksek Lisans Tezi). Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.

Hu, T. & Su Z. (2003) A solid phase adsorption method for preparation of bovine serum albumin-bovine hemoglobin conjugate. *Journal of Biotechnology*, 100, 267-275. DOI: 10.1016/s0168-1656(02)00246-8

Mazi, H., Emregul, E. , Z. M. O. Rzaev & Kibarar, G. (2006) Preparation and properties of invertase immobilized on a poly(maleic anhydridehexen-1) membrane. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 17:7, 821-835. DOI:10.1163/156856206777656490

Monsan, P., Combes, D., Alemzadeh, J. (1984) Invertase Covalent Grafting Onto Corn Stover. *Biotechnol Bioeng*, 26(7), 658–664. DOI: 10.1002/bit.260260704

Nakajima, M., Watanabe, A., Jimbo, N., Nishizawa, K. & Nakao, S. (1989) Forced-flow bioreactor for sucrose inversion using ceramic membrane activated by silanization. *Biotechnol Bioengng* 33(7), 856-861. DOI: 10.1002/bit.260330709

Nelson, N. (1944) A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *The Journal of Biological Chemistry*, 153, 375-380. DOI:10.1016/S0021-9258(18)71980-7

Paris, G., Kraszewski, S., Ramseyer, C. & Enescu, M. (2012) About the structural role of disulfide bridges in serum albumins: evidence from protein simulated unfolding. *Biopolymers* 97, 889-898. DOI: 10.1002/bip.22096

Rehman U. H., Aman A., Nawaz M.A., Karim A., Ghani M., Baloch A.H. & Ul Qader S.A. (2016) Immobilization of pectin depolymerising polygalacturonase using different polymers. *International journal of biological macromolecules*, 82, 127-133. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.012

Rombouts, I., Lagrain, B., Scherf, K.A., Lambrecht, M.A., Koehler, P. & Delcour, J.A. (2015) Formation and reshuffling of disulfide bonds in bovine serum albumin demonstrated using tandem mass spectrometry with collision-induced and electron-transfer dissociation. *Sci. Rep.* 5, 12210. DOI: 10.1038/srep12210

Sanabria, J. C. & Romero, C. M. (2022) Influence of tetraalkylammonium salts on the adsorption kinetics of bovine serum albumin in aqueous solutions at the air-liquid interface. *Journal of Molecular Liquids*, 366, 120283. DOI:10.1016/j.molliq.2022.120283

Sano S., Kato K. & Ikada Y. (1993) Introduction of functional groups onto the surface of polyethylene for protein immobilization. *Biomaterial*, 14(11), 817-822. DOI: 10.1016/0142-9612(93)90003-k

Tripathi, V. S., Kandimalla, V. B. & Ju, H. (2006) Amperometric biosensor for hydrogen peroxide based on ferrocene-bovine serum albumin and multiwall carbon nanotube modified ormosil composite. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(8), 1529-1535. DOI: 10.1016/j.bios.2005.07.006

Zhan, X.Y., Lu, D.P., Lin, D.Q., Yao, S.J. (2013) Preparation and characterization of supermacroporous polyacrylamide cryogel beads for biotechnological application. *J. Appl. Polym. Sci.* 130, 3082-3089. DOI:10.1002/app.39545

BÖLÜM IX

Poli(vinilpirolidon-co-bütilakrilat-co-N-hidroksimetil akrilamit) Terpolimeri Üzerine Hapsetme Yöntemiyle İmmobilize Edilmiş İnvertaz Enziminin Meyve Sularındaki Sakkaroz Miktarının Belirlenmesinde Kullanımı

Orhun HAKKOYMAZ
Hidayet MAZI

Giriş

Enzimler reaksiyonların pek çoğunu hızlandıran, yüksek seçicilik ve aktivite gösteren, canlı hücreler tarafından üretilen biyolojik katalizörlerdir (Robinson, 2015). Enzimler, endüstride katalizör olarak bazı nedenlerden dolayı kısıtlı şekilde kullanılırlar. Bunlardan birincisi kullanılmadıklarında dahi ortam şartlarına bağlı olarak aktivitelerini kaybetmeleridir (Kotwal & Shankar, 2009). İkincisi ise enzimlerin çözünür formda katalizör olmalarından dolayı

ortamdan uzaklaştırılma maliyeti ve uzaklaştırıldıklarında tekrar kullanılamamaları üretim prosesinin maliyetini arttırmaktadır. Bu nedenle enzimlerin katalizör olarak kullanılmalarında farklı yöntemler geliştirilmiştir. Enzimlerin destek bir materyal üzerine immobilize edilmeleri de bu yöntemlerden bir tanesidir. Enzimler immobilize edildiklerinde raf ömürleri çoğu zaman uzamakta, ortamdan maliyetsiz olarak uzaklaştırılabilmekte ve tekrar kullanılabilirler (Datta, Christana & Rajaram, 2013). Enzim immobilizasyonu; enzimin çözünmez bir taşıyıcı maddeye uygun yöntemler seçilerek hapsedilmesi veya kimyasal bir yöntemle bağlanmasıdır (Maghraby & ark., 2023). Enzimlerin bir destek materyal üzerine immobilizasyonunda hapsetme, kullanılan yöntemlerden birisidir (Emregül, Sungur & Akbulut, 2005). Hapsetme yönteminde enzimlerin destek materyal olarak gözenekli bir polimerik malzeme içerisinde kalması sağlanır (O'Driscoll, 1976). Bu polimerik destek materyaller enzimin dışarı çıkmasına izin vermeyecek bunun yanında substratın içeri girmesine ve ürünün dışarı çıkmasına olanak sağlayacak bir yapıya sahiptirler. Enzimler bu yapılara bağlanmadıklarından enzimlerin yapıları bozulmamakta ve bu durum bu yöntemi diğer yöntemlere göre üstün kılmaktadır. Yüksek molekül ağırlıklı substratların gözeneklerden geçmesi mümkün olmadığından bu yöntem daha çok düşük molekül ağırlıklı substratlar için kullanılmaktadır.

İnvertaz enzimi, hidroliz enzimlerinin alt grubu olan karbohidrolazlardandır. Enzim kodu E.C. 3.2.1.26' dır. İnvertaz, sakkarozun glikoz ve fruktoza dönüştürülmesinde kullanılan biyolojik bir katalizördür (Xie & ark., 2016). İnvertazın elde edilmesinde en çok ekmek mayası ve bira mayası kullanılır. İnvertaz sofra şekerinin saflaştırılmasında kullanılmakta ve bu nedenle şekerin üretim maliyetini düşürmek için ilk immobilize edilen enzim özelliğini taşımaktadır (Mazi & ark., 2006; Kotwal & Shankar, 2009).

Enzimlerin immobilizasyonu, enzimlerin optimum pH ve sıcaklık değerlerini, Michelis–Menten sabitini(K_m) ve maksimum reaksiyon hızını(V_{maks}) etkileyebilir (Danisman & ark., 2004).

Michelis–Menten sabiti(K_m) ve maksimum reaksiyon hızı(V_{maks}) Lineweaver-Burk Yöntemi, Hanes Yöntemi ve Woolf-Augustinsson-Hofstee Yöntemi adı verilen üç farklı yöntemle belirlenebilir. Bütün bu yöntemler Michaelis-Menten eşitliğinin (Chang, 2005) matematiksel olarak dönüştürülmesiyle oluşturulmuştur.

Destek materyalin seçimi, yapılacak bir immobilizasyon yönteminde oldukça büyük bir öneme sahiptir. İmmobilizasyon hangi yöntemle yapılacaksa ve immobilize edilen enzim hangi amaçla kullanılacaksa buna uygun özelliklere sahip destek materyal seçilmelidir. Örneğin hapsedme yönteminde polimerik malzeme seçilirken, gözenek büyüklüğü enzimin substratına göre belirlenmelidir. Bu çalışmada destek materyali olarak vinil pirolidonun terpolimeri tercih edildi. Vinil pirolidon, hidrofilik ve hidrofobik özelliklerin her ikisini de yapısında bulundurduğundan amfifilik karakterde olan bir monomerdur. Vinil pirolidonun polimerleri suda kolaylıkla çözünbilmekte ve biyoyumlu bir özellik göstermektedir. Bu özelliklerinden dolayı polimerlerinin sağlık, protein saflaştırılması ve biyoteknoloji gibi geniş bir kullanım alanı vardır (Krasteva & ark., 2002; Inada & ark., 1995; Dessai & Hubbell, 1991).

Bu çalışmada, destek materyal olarak daha önce grubumuz tarafından sentezlenip karakterize edilmiş (Hakkoymaz & Mazi, 2020) olan poli(vinilpirolidon-co-bütillakrilat-co-N-hidroksimetil akrilamit) (poli(VP-co-BAC-co-NHMAAm)) terpolimeri seçildi. Yine daha önceki çalışmalarda invertaz enziminin hapsedme yöntemiyle bu terpolimer üzerine immobilize edilmesi çalışıldı. Bu çalışmada ise, daha önce hapsedme yöntemiyle immobilize edilmiş olan invertaz enzimiyle meyve sularındaki sakkaroz miktarının belirlenmesi ve kinetik parametrelerin belirlenmesi hedeflendi.

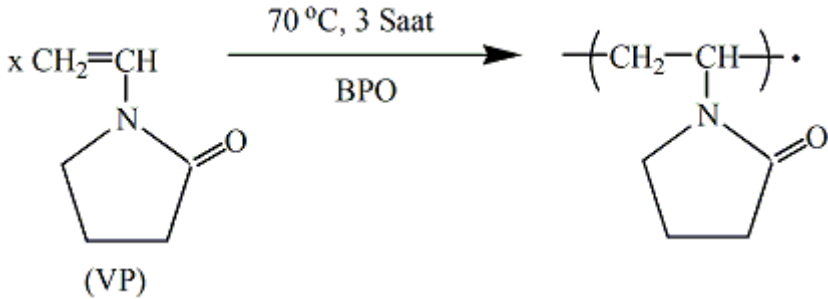
Materyal ve Metot

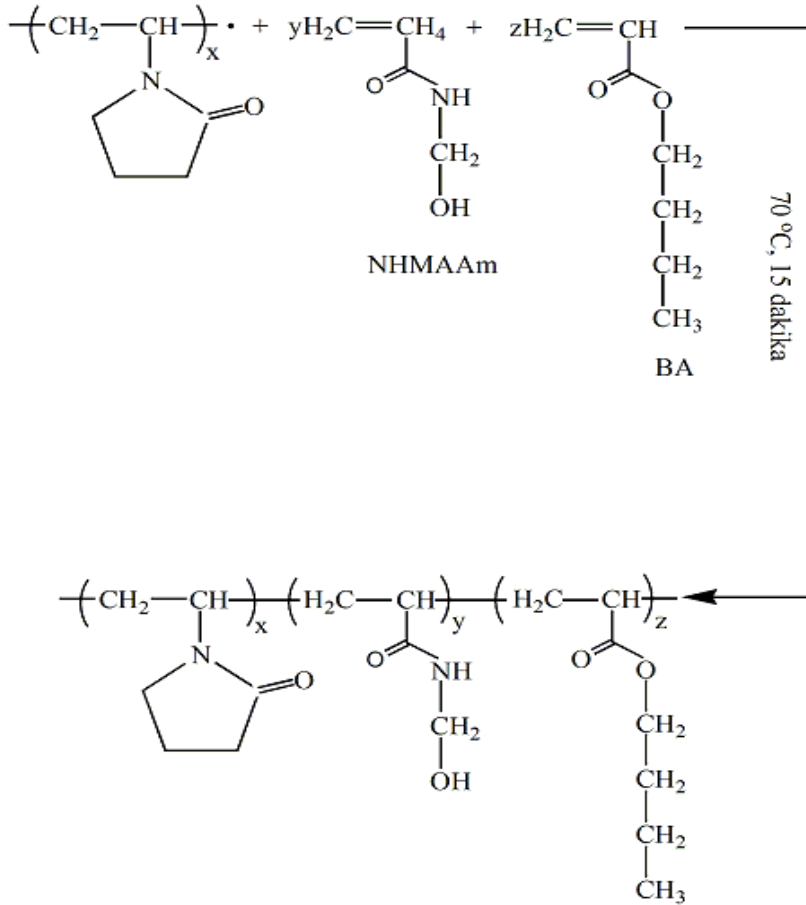
Materyal

Kullanılan çözücüler ve tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ile N-hidroksimetil akrilamid Merck(Almanya) firmasından tedarik edilerek saflaştırılmadan kulalnıldı. N-vinil pirolidon ve bütıl akrilat Sigma-Aldrich(USA) firmasından tedarik edildi. Bu kimyasallar vakum altında damıtma yöntemiyle saflaştırılarak kullanıldı. Benzoil peroksit Merck firmasından temin edildi. İnvertaz enzimi, glikoz, fruktoz ve sakkaroz ise Sigma-Aldrich firmasından tedarik edildi.

Poli(VP-co-BAC-co-NHMAAm) Terpolimerinin Sentezi

Poli(VP-co-BAC-co-NHMAAm) terpolimeri 70 °C’de azot atmosferi altında başlatıcı olarak benzoil peroksit(BPO), çözücü olarak 1,4-Dioksan ve monomer olarak vinil pirolidon, bütıl akrilat ve N-hidroksimetil akrilamid kullanılarak çözelti polimerizasyonu tekniğiyle sentezlendi (Hakkoymaz & Mazi, 2020). Terpolimerin sentez mekanizması **Şekil 1**’de görölmektedir.





Şekil 1. Poli(VP-co-NHMAAm-co-BA) terpolimerinin sentez tepkimesi

Karakterizasyon

Monomerlerin ve kopolimerin IR spektrumları Perkin Elmer Spectrum One ATR model ($4000\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$) FTIR Spektroskopi cihazı kullanıldı. TGA analizleri Hitachi STA7300 Termogravimetrik Analiz Cihazı ile yapıldı. Viskozimetrik ölçümler ise Ubbelohde tipi kapiler viskozimetre ile yapıldı. Enzim

aktivitesinin ölçümü için de PG Instruments T80+ model Ultraviyole-Görünür Bölge Spektrofotometresi cihazı kullanıldı.

İnvertaz Enziminin İmmobilizasyonu

Kopolimer çözeltisi 0.5 g/ml olacak şekilde 1,4-dioksan çözücüsünde hazırlandı. Bu polimer çözeltisi ile EDTA(pH 7.2, %0.1) çözeltisinde bulunan invertaz (1U) enzimi karıştırılıp hızlı bir şekilde alanı 1cm² olan (1cm x 1cm) polietilen kalıplara döküldü. Enzim dökülen polimer filmi 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Daha sonra immobilize edilmiş invertaz filmleri EDTA (pH 7.2, %0.1) çözeltisinde 25°C'de 10 dakika 3 kez yıkandı. Yıkama çözeltilerinin absorbansları ölçüldü. Yıkama çözeltilerinin sonuçlarına göre enzimin %90±2 polimer filmine tutunduğu, %10±2' nin ise yıkama çözeltisine geçtiği görüldü. Buna göre immobilizasyon etkinliğinin %90±2 olduğu tespit edildi.

İnvertaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi

Serbest ve immobilize edilmiş invertaz enziminin aktivite tayinleri Nelson Metodu ile yapıldı (Kaplan, 1957). İmmobilize invertaz enzimi ve serbest invertaz enzimi, EDTA (pH 7.2, %0.1) ve asetat tamponlarında (pH 4.6, 0.05M) 25°C'de 2 dakika inkübe edildi. Üzerlerine sakkaroz çözeltisi eklenerek aynı sıcaklıkta 10 dakika daha inkübasyona devam edildi. Reaksiyon 1 ml Nelson reaktifi eklenerek durduruldu. Spektrofotometrik ölçümler PG Instruments T80+ UV-GB spektrofotometresinde 540 nm'de yapıldı. Bağlı Aktivite(**A_b**) **Eşitlik 1** ile hesaplandı.

$$A_b = (A_k.100)/(A_s - \Delta A) \quad (1)$$

A_k kompleksin aktivitesini, **A_s** Serbest enzimin aktivitesini, **ΔA** yıkama çözeltisine geçen enzimin aktivitesini göstermektedir. **A_{maks}** ise o serideki maksimum bağlı aktivite değerini ifade etmektedir. Maksimum aktivite değeri ise **Eşitlik 2** ile hesaplandı.

$$\% \text{Maksimum Aktivite} = (A_b/A_{\text{maks}}).100 \quad (2)$$

Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi

Enzimlerin kinetik parametreleri olan K_m ve V_{maks} değerleri

$$V = \frac{V_{maks} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad \text{şeklinde}$$

ifade edilen Michaelis-Menten eşitliğinin matematiksel olarak 3 farklı şekilde düzenlenmesi ile oluşan 3 farklı yöntemle hesaplandı. Bu yöntemler ve eşitlikleri aşağıda verilmektedir.

a) Lineweaver-Burk Yöntemi

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{maks}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}}$$

b) Hanes Yöntemi

$$\frac{[S]}{V} = \frac{1}{V_{maks}} \cdot [S] + \frac{K_m}{V_{maks}}$$

c) Woolf-Augustinsson-Hofstee Yöntemi

$$V = -K_m \cdot \frac{V}{[S]} + V_{maks}$$

Bu eşitliklere göre çizilen grafiklerin eğimlerinden ve y-eksenlerini kestikleri noktalardan faydalanılarak 3 farklı yöntemle K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi.

Bulgular ve Tartışma

Poli(VP-co-BAC-co-NHMAAm) Karakterizasyonu

Terpolimerinin

Sentezlenen kopolimerin FT-IR ve elementel analizden elde edilen monomer bileşimi sırasıyla VP:BAC:NHMAAm =51:25:24'tür. Polimerin $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 'de 1,4-dioksan çözeltisindeki intrinsik viskozite değeri $[\eta]=0.153 \text{ dL/g}$ olarak bulunmuştur. FT-IR spektrumları incelendiğinde; 3351 cm^{-1} O-H ve N-H gerilme bandını, 2956 ve 2873 cm^{-1} C-H gerilme bandını, 1726 ve 1660 cm^{-1} C=O gerilme bandını, 1537 , 1461 ve 1422 cm^{-1} sırasıyla

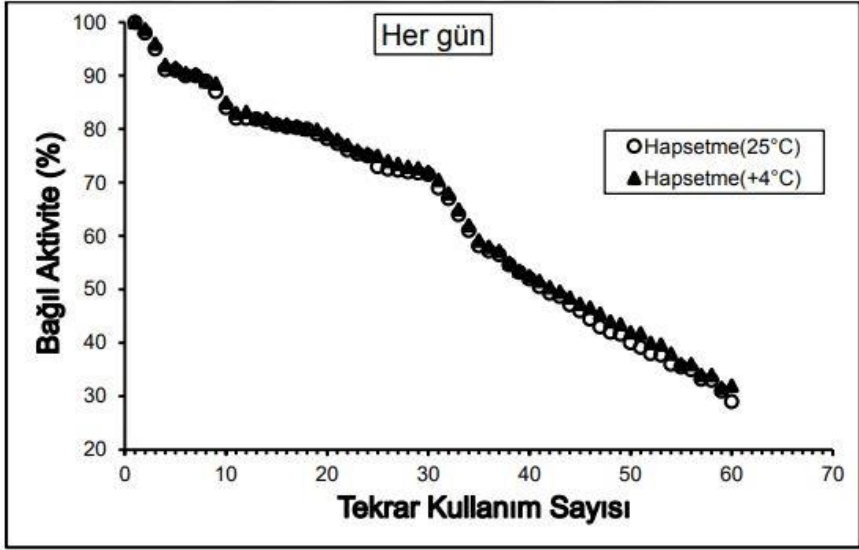
NHMAAm, BAc ve VP için C-H eğilme bandlarını, 1267 ve 1161 cm^{-1} sırasıyla NHMAAm ve BAc için C-O gerilme bandlarını, 1053 ve 1033 cm^{-1} sırasıyla NHMAAm ve VP için C-N gerilme bandlarını, 939 ve 839 cm^{-1} sırasıyla NHMAAm ve VP için N-H eğilme bandlarını göstermektedir (Singh & ark., 2006; Geever & ark., 2006).

İmmobilizasyonun Optimum Parametrelerinin Belirlenmesi

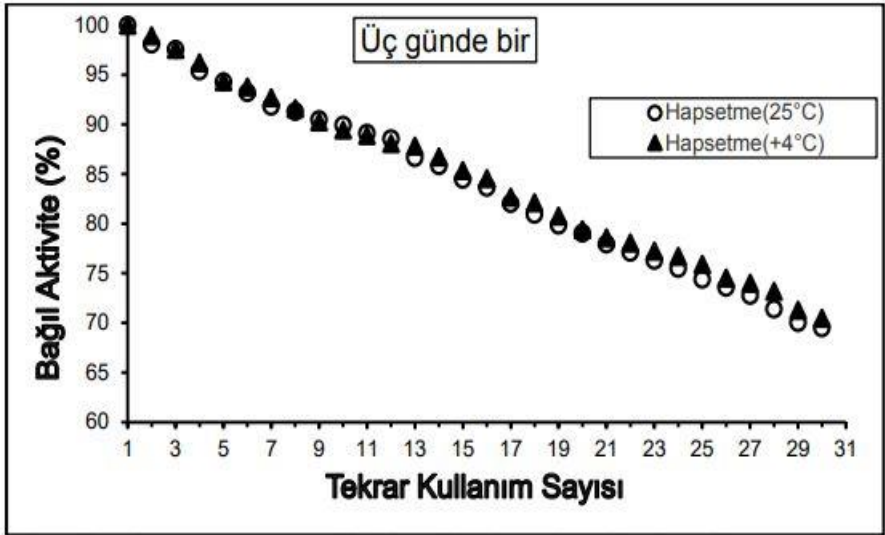
İmmobilizasyonda kullanılan polimer miktarı, sakkaroz miktarı, pH ve sıcaklık gibi parametrelerin optimum değerlerini belirlemek için gerekli çalışmalar yapıldı. Yapılan deneysel çalışmalara göre optimum polimer miktarı konsantrasyonu %20, optimum sakkaroz miktarı 60 mM, optimum pH değeri 5.0 ve optimum sıcaklık ise 70°C olarak bulunmuştur (Hakkoymaz & Mazi, 2020). İmmobilizasyon işleminin enzime geniş bir pH çalışma aralığı (2-12) kazandırdığı görüldü. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda (85°C) bile hala aktivitesinin bir kısmını (%34) koruduğu belirlendi.

Tekrar Kullanım

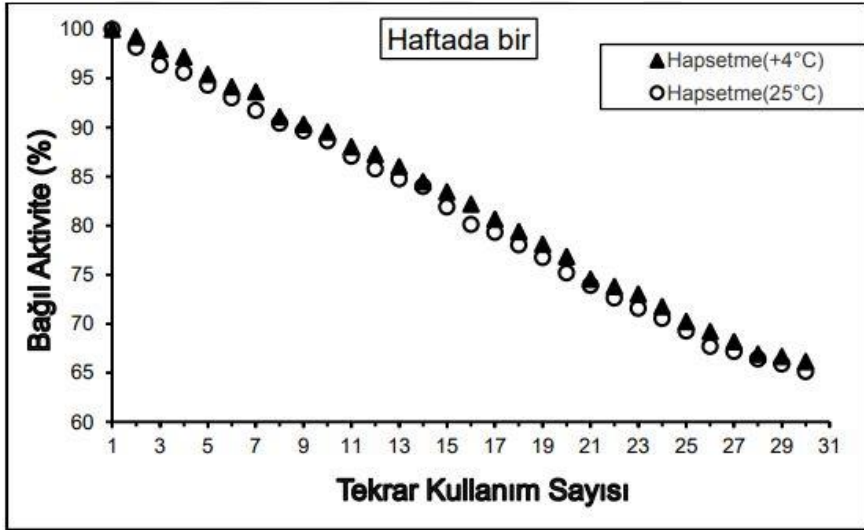
Hapsetme yöntemiyle immobilize edilen enzim farklı ortamlarda (+4°C'deki buzdolabında ve oda koşullarında) saklanarak, her gün (60 tekrar kullanım) (**Şekil 2**), üç günde bir (30 tekrar kullanım) (**Şekil 3**) ve haftada bir (30 tekrar kullanım) (**Şekil 4**) olmak üzere farklı şekillerde tekrar kullanım çalışmaları gerçekleştirildi.



Şekil 2. Hapsetme yöntemiyle immobilize edilen enzimin saklama koşullarına bağlı olarak her gün yapılan tekrar kullanımı.



Şekil 3. Hapsetme yöntemiyle immobilize edilen enzimin saklama koşullarına bağlı olarak üç günde bir yapılan tekrar kullanımı.



Şekil 4. Hapsetme yöntemiyle immobilize edilen enzimin saklama koşullarına bağlı olarak haftada günde bir yapılan tekrar kullanımı.

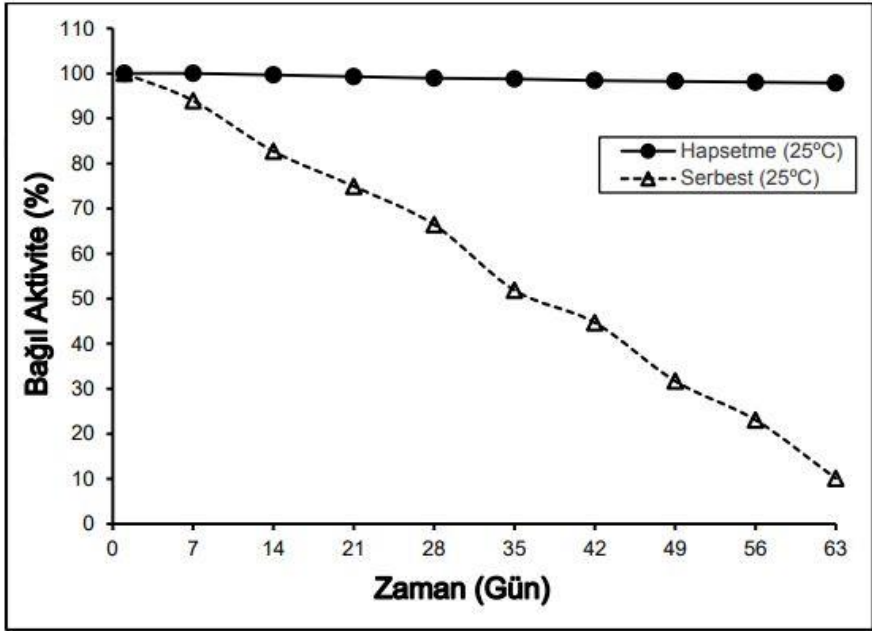
Şekil 2 incelendiğinde her gün tekrar kullanımda 2 ayın sonunda(60 tekrar kullanım) 25°C sıcaklıkta oda koşullarında saklanan immobilize enzim başlangıç aktivitesinin %29'unu korurken, +4°C'de buzdolabında saklanan immobilize enzim başlangıç aktivitesinin %32'ni koruduğu görülmektedir. Her gün yapılan ölçümlerde 1 ayın sonunda 30 tekrar kullanımda 25°C sıcaklıkta başlangıç aktivitesinin %71'ni, +4°C'de buzdolabında saklanan immobilize enzim ise %72'sini koruduğu belirlendi. Şekil 3 incelendiğinde ise üç günde bir yapılan ölçümlerde 30 tekrar kullanımın sonunda 25°C sıcaklıkta oda koşullarında saklanan immobilize enzim başlangıç aktivitesinin %69'unu, +4°C'de buzdolabında saklanan immobilize enzim başlangıç aktivitesinin %70'ni korumaktadır. Şekil 4 incelendiğinde ise 7 ay sonunda haftada bir yapılan ölçümlerde 30 tekrar kullanımda 25°C sıcaklıkta oda koşullarında saklanan immobilize enzim başlangıç aktivitesinin %65'ini korurken, +4°C'de buzdolabında saklanan immobilize enzim başlangıç aktivitesinin %66'sını korumaktadır. Bu yöntemle

immobilize edilen enzimin her gün, üç günde bir ve haftada bir yapılan ölçümlerinde 30 tekrar kullanım sonucunda başlangıç aktivitesinin hala %65-70'ni koruduğu belirlendi. Ayrıca immobilize edilen enzimin aktivitesinin saklanma koşuluna pek bağlı olmadığı tespit edildi.

Farklı markaların farklı meyve sularında (vişne suyu, portakal suyu ve nar suyu) immobilize enzim için bir dizi aktivite çalışması yapıldı. Yapılan aktivite ölçümleri sakkaroz ölçümlerindeki gibi aynı yöntemle yapıldı. Aktivite çalışmaları meyve suları içinde her gün, üç günde bir ve haftada bir olmak üzere farklı zamanlarda yapıldı. Farklı zamanlarda 30 tekrar kullanımın sonunda nar suyu için başlangıç aktivitesinin %68'ini, vişne suyu için %70'ini ve portakal suyu için ise %67'sini hala koruduğu gözlemlendi. Bu durum sakkaroz çözeltisi ile meyve suyu içerisindeki sakkarozun belirlenmesinde immobilize enzimin bir birine çok yakın sonuçlar ortaya koyduğunu göstermektedir. Ayrıca immobilize enzimin meyve sularındaki tekrar kullanımında elde edilen sonuçların sakkaroz çözeltisiyle elde edilen sonuçlarla çok benzer olduğu anlaşılmaktadır.

Depolanma Süresi

Enzimlerin depolanmaları ve taşınmaları dikkatli yapılmadığı takdirde enzimler aktivitelerini yitirebilmektedir. Enzimlerin çözelti içerisinde bekletilerek depolanmaları durumunda zamanla aktiviteleri ya tamamıyla bitmekte ya da azalmaktadır. Immobilize edilerek saklanan enzimler ise aktivitelerini korumaktadır. Bu ise immobilizasyonun sağladığı önemli avantajlardan birisidir. Immobilize enzim ve serbest enzim oda şartlarında 25°C sıcaklıkta haftada bir ölçüm yapılarak 2 ay süreyle aktifliği takip edildi. Aktivitede meydana gelen değişiklikler **Şekil 5**'te görülmektedir.



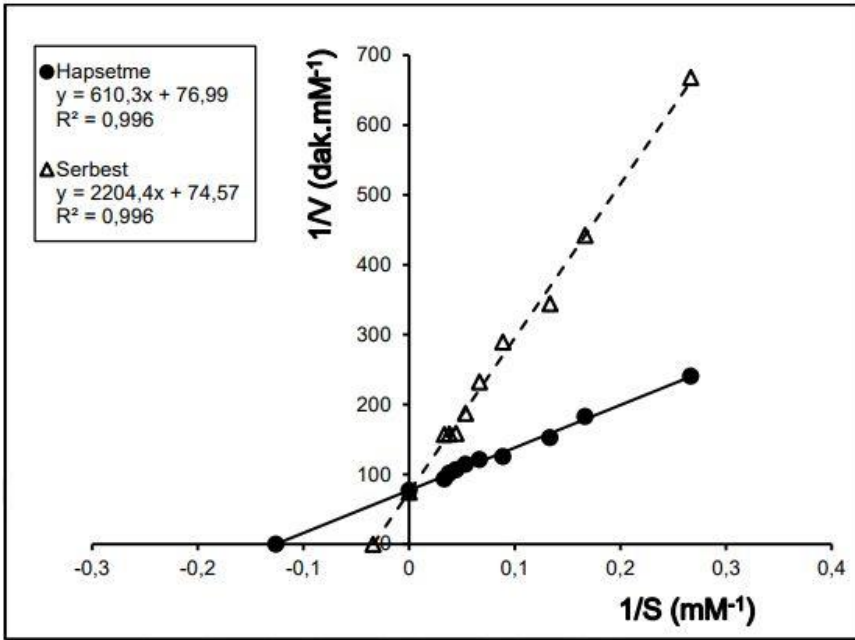
Şekil 5. 25°C’de saklanan serbest enzim ve hapsetme yöntemiyle immobilize edilen enzimin aktivitelerinin zamanla değişimi.

Şekil 5 incelendiğinde 2 ayın sonunda immobilize enzimin başlangıç aktivitesinin %90’ını koruduğu görülürken, serbest enzim ise aktivitesini neredeyse kaybetmiştir. Ayrıca 2 aylık süre sonunda immobilize enzim başlangıç aktivitesinin %98’ni korurken serbest enzim aktivitesinin çoğunluğunu kaybederek %10’nu korumaktadır. Bu durum immobilizasyonun enzimlerin depolanma ömrünü serbest enzime göre arttırdığını göstermektedir.

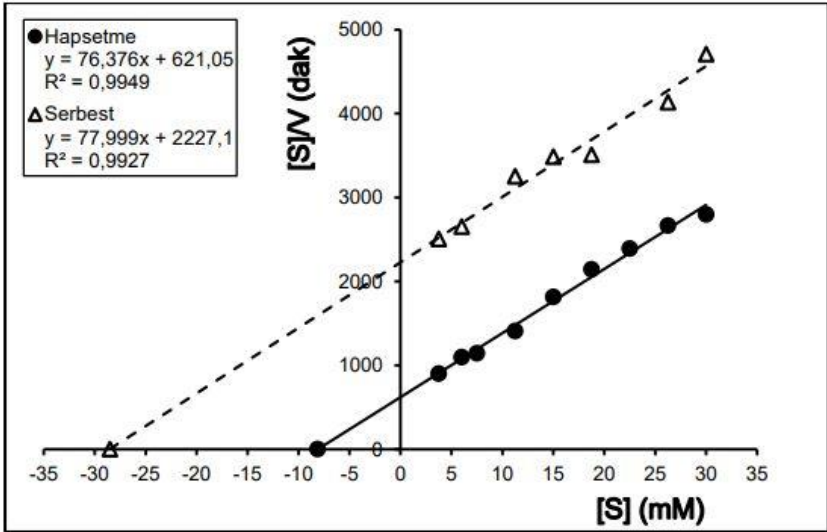
Kinetik Parametrelerin belirlenmesi

Kinetik parametrelerden K_m değeri enzimin substrata olan ilgisini gösterirken, V_{maks} değeri ise maksimum hızı ifade etmektedir. K_m değeri maksimum hızın yarısına ulaşıldığı andaki substrat konsantrasyonunu ifade etmektedir. K_m değeri ne kadar küçükse enzimin substratına ilgisi o kadar fazladır (Kartal & ark., 2008; Lineweaver & Burk, 1934). Maksimum hızda enzimin bütün

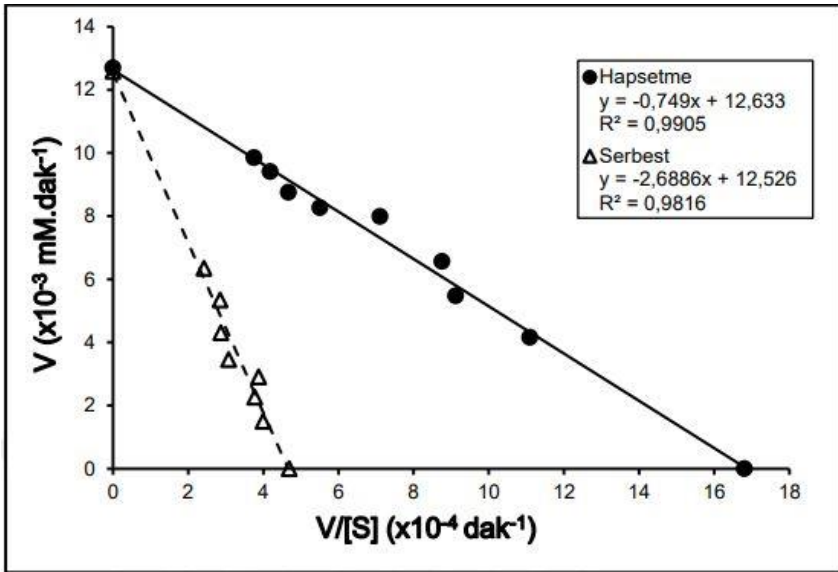
uçları artık substratla doymuş haldedir. Bu kinetik parametrelerin (K_m ve V_{maks}) belirlenmesi için Michaelis-Menten eşitliğinin matematiksel olarak düzenlenmesi ile oluşan üç farklı yöntem vardır. Bu yöntemlerden Lineweaver-Burk yöntemi grafiği **Şekil 6**'da, Hanes yöntemi grafiği **Şekil 7**'de ve Woolf-Augustinsson-Hofstee yöntemi grafiği ise **Şekil 8**'de verilmektedir. Bu grafiklerden elde edilen K_m ve V_{maks} değerleri ise **Tablo 1**'de yer almaktadır.



Şekil 6. Hapsetme yöntemi ile immobilize edilen enzimin serbest enzimle karşılaştırmalı Lineweaver Burk grafiği.



Şekil 7. Hapsetme yöntemi ile immobilize edilen enzimin serbest enzimle karşılaştırmalı Hanes grafiği.



Şekil 8. Hapsetme yöntemi ile immobilize edilen enzimin serbest enzimle karşılaştırmalı Woolf-Augustinsson-Hofstee grafiği.

Tablo 1. Hapsetme yöntemiyle immobilize edilen enzim ve serbest enzime ait Lineweaver-Burk, Hanes ve Woolf-Augustinsson-Hofstee grafikleri ile elde edilen K_m ve V_{maks} değerleri.

	Lineweaver-Burk		Hanes		Woolf-Augustinsson-Hofstee	
Enzim	K_m (mM)	V_{maks} (mM/dak)	K_m (mM)	V_{maks} (mM/dak)	K_m (mM)	V_{maks} (mM/dak)
Serbest	29,56 1	0,013	28,55 3	0,013	26,88 6	0,013
Hapsetme	7,927	0,013	8,132	0,013	7,490	0,013

Şekil 6-8 ve Tablo 1 incelendiğinde her üç yöntemle hesaplanan değerlerin birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bu durum her üç yöntemin bir birini desteklediğini göstermektedir. Ayrıca her üç yöntemle hesaplanan immobilize enzimin K_m değerinin serbest enzime göre oldukça küçük olduğu görülmektedir. Bu durum immobilize enzimin serbest enzime göre substratına daha fazla ilgi duyduğunu göstermektedir. V_{maks} değerlerine bakıldığında ise serbest enzimle immobilize enzim için aynı çıkmıştır.

Sonuçlar

Bu çalışmada, poli(VP-co-BAC-co-NHMAAm) terpolimeri üzerine hapsetme yöntemiyle immobilize edilmiş olan invertaz enziminin meyve sularındaki sakkaroz miktarının belirlenmesinde kullanılması ve kinetik parametrelerinin belirlenmesi çalışıldı. İmmobilizasyon, enzime aktivitesini önemli ölçüde kaybetmeden uzun bir depolanma süresi kazandırmıştır. İmmobilize enzimin K_m değerinin serbest enzime göre düşük olması enzimin sakkarozla ilgisinin immobilizasyonla arttığını göstermektedir. V_{maks} değerinin ise immobilizasyonla etkilenmediği görüldü. İmmobilizasyonun enzimin pH çalışma aralığını arttırdığı belirlendi. Bu durum immobilize enzim kullanılarak daha yüksek pH'larda çalışılabileceğini göstermiştir. İmmobilizasyon işlemi, optimum çalışma sıcaklığını serbest enzime göre 15°C artırmıştır. Çalışma

sıcaklığının yüksek olması tepkime süresinin daha kısa olması gibi bir avantaj sağlamaktadır. İmmobilize edilmiş invertaz enzimi başlangıç aktivitesinin 30 tekrar kullanımdan sonra %67'sini koruduğu, 2 aylık bir depolama süresinde ise başlangıç aktivitesinin %90'nı koruduğu görülmüştür. Ticari meyve sularındaki (nar, portakal ve vişne) sakkaroz içeriğinin belirlenmesinde immobilize enzim kullanıldı. Meyve sularındaki sakkaroz tayininde 30 tekrar kullanımın sonunda dahi aktivitesinin hala %65-70'ni koruduğu görüldü. Elde edilen bu sonuçlar, yeni bir destek materyal olan poli(VP-co-BAC-co-NHMAAm) terpolimeri üzerine immobilize edilmiş invertaz enziminin endüstriyel uygulamalarda ve yeni biyosensör tasarımında kullanılabileceğini göstermektedir.

Kaynakça

Chang, R. (2005). Physical Chemistry for the Biosciences. Sansalito, CA: University Science.

Datta S., L Christena R. & Rajaram Y. R. S. (2013) Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. 3 *Biotech*, 1-9. doi: 10.1007/s13205-012-0071-7

Danisman, T., Tan, S., Kacar, Y. & Ergene, A. (2004) Covalent immobilization of invertase on microporous pHEMA–GMA membrane. *Food Chemistry*, 85, 461–466. DOI:10.1016/j.foodchem.2003.07.015

Dessai, N. P. & Hubbell, J. A. (1991) Solution technique to incorporate polyethyleneoxide and other water-soluble polymers into surfaces of polymeric biomaterials. *Biomaterials*, 12, 144-153. DOI: 10.1016/0142-9612(91)90193-e

Emregül, E., Sungur, S. & Akbulut, U. (2005) Polyacrylamide-gelatine carrier system used for invertase immobilization. *Food Chemistry*. 97, 591-597. Doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.017

Geever, L.M., Devine, D.M., Nugent, M.J.D., Kennedy, J.E., Lyons, J.G. & Higginbotham, C. L. (2006) The synthesis, characterisation, phase behaviour and swelling of temperature sensitive physically crosslinked poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone)/poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels, *Eur. Polym. J.* 42 (1), 69–80. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2005.09.027

Hakkoymaz, O. & Mazi, H. (2020) An immobilized invertase enzyme for the selective determination of sucrose in fruit juices. *Analytical Biochemistry*, 611, 114000. DOI: 10.1016/j.ab.2020.114000

Hakkoymaz, O. (2017) Poli(vinilpirolidon-co-bütillakrilat-co-n-hidroksimetil akrilamit) terpolimeri üzerine invertaz enziminin immobilizasyonu, (Yüksek Lisans Tezi). Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.

Inada, Y., Matsushima, A., Hiroto, M., Nishimura, H. & Koder, Y. (1995) Chemical modification of proteins with polyethylene glycols. *Advance in Biochemical Engineering Biotechnology*, 52, 130-149.

Kaplan, N.O., (1957) Enzymatic determination of free sugars. *Methods Enzymol.* 3, 107–110. Doi:10.1016/S0076-6879(57)03352-2

Kartal, M., Kıralp Kayahan, S., Bozkurt, A. & Toppare, L. (2008) Entrapment of invertase in an interpenetrated polymer network of alginic acid and poly (1-vinylimidazole). *Talanta*, 77, 659–662. doi:10.1016/j.talanta.2008.07.017

Kotwal, S. M. & Shankar, V. (2009) Immobilized invertase. *Biotechnology Advances*, 27, 311-322. Doi:10.1016/j.biotechadv.2009.01.009

Krasteva, N., Harms, U., Albrecht, W., Seifert, B., Hopp, M., Altankov, G. & Groth, T. (2002) Membranes for biohybrid liver support systems-investigations on hepatocyte attachment, morphology and growth. *Biomaterials*, 23, 2467-2478. DOI: 10.1016/s0142-9612(01)00381-7

Lineweaver, H. & Burk, D. (1934) The determination of enzyme dissociation constant. *Journal of the American Chemical Society*, 56, 658–666. doi:10.1021/ja01318a036

Maghraby Y. R., El-Shabasy R. M., Ibrahim A. H. & El-Said Azzazy H. M. (2023) Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications. *ACS Omega*, 8, 5184–5196. DOI: 10.1021/acsomega.2c07560

Mazi, H., Emregul, E. , Z. M. O. Rzaev & Kibar, G. (2006) Preparation and properties of invertase immobilized on a poly(maleic anhydridehexen-1) membrane. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 17:7, 821-835. DOI:10.1163/156856206777656490

O'Driscoll, K. F. (1976) Techniques of enzyme entrapment in gels. *Methods in Enzymology*, 44, 169-183. Doi:[10.1016/S0076-6879\(76\)44014-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(76)44014-4)

Robinson P. K. (2015) Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays Biochem.* 59, 1–41. doi: 10.1042/bse0590001

Singh, B., Chauhan, G.S., Sharma, D.K., Kant, A., Gupta, I. & Chauhan, N. (2006) The release dynamics of model drugs from the psyllium and N-hydroxymethylacrylamide based hydrogels, *Int. J. Pharm*, 325 (1–2), 15–25. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.06.007

Xie J., Cai K., Xi H. H., Jiang Y. L., Yang F., Hu P. F., Cao D. D., Li W. F., Chen Y. & Zhou C. Z. (2016) Structural Analysis of the Catalytic Mechanism and Substrate Specificity of Anabaena Alkaline Invertase InvA Reveals a Novel Glucosidase. *J Biol Chem.*, 291(49), 25667–25677. DOI: 10.1074/jbc.M116.759290

