DENİZ DİATOMLARININ FARKLI MATERYALLERDEKİ ADLİ DELİLLERE AKTARILABİLİRLİĞİ VE ÇEŞİTLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Zeynep GÜNAY

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENİZ DİATOMLARININ FARKLI MATERYALLERDEKİ ADLİ DELİLLERE AKTARILABİLİRLİĞİ VE ÇEŞİTLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Zeynep GÜNAY
0000-0002-3177-3458

Prof. Dr. Gamze YILDIZ
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KRİMİNALİSTİK ANABİLİM DALI

BURSA – 2022
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DENİZ DİATOMLARININ FARKLI MATERYALLERDEKİ ADLİ DELİLLERE AKTARILABİLİRLİĞİ VE ÇEŞİTLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Zeynep GÜNAY

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kriminalistik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gamze YILDIZ

Diatomlar, boğulma vakalarının aydınlatılması amacıyla üzerinde çalışılan önemli canlılardır. Bu canlılar adli olaya karışan kişi veya kişilerin vücuduna, kıyafetlerine veya eşyalarına tutunabilmektedir. Olay yeri inceleme ekipleri tarafından toplanan delillerde diatomların varlığı adli olayı aydınlatmak için kullanılmaktadır. Bu çalışmada, kriminal analizlerde kumaşa tutunan diatomların daha etkin ve kısa yoldan analiz edilebilmesi için uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Daha önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında, farklı kumaş türleri ve farklı inkubasyon süreleri ile çalışılmıştır. Yine yerel diatom türleri üzerinde çalışılması amacıyla Marmara Denizi'ndeki diatomların kumaşlara tutunması sağlanmıştır. Doğal su ortamında gerçekleştirilen bu çalışma, kriminal olaylardaki durumlara uygulanabilirliği açısından önem kazanmaktadır. Tez çalışmasında polyester katkılı viskon kumaş ve polyester katkılı tensel kumaş ile %100 viskon kumaş türü Marmara Denizi'nde bekletilmiştir. Kumaşlar 4 saat, 24 saat ve 96 saatlik inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra laboratuvara getirilen kumaş örneklerine su ile yıkama, alkol ile yıkama ve hidrojen peroksit ile parçalama yöntemleri uygulanarak diatomların izolasyonu sağlanmıştır. Elde edilen diatomların ışık mikroskobunda sayımı yapılmıştır.

Sayım sonuçlarının istatiksel analizi yapılmış ve en yüksek tutunmanın viskon kumaşa, en az tutunmanın ise tensel ve polyester karışımlı kumaşa olduğu belirlenmiştir. Viskon kumaşın açık ve pürüzlü dokusu diatomların kumaş yüzeyine tutunmasını kolaylaştırırken, polyesterin parlak, pürüzsüz ve yarı açık dokusu diatomların kumaş yüzeyine tutunmasını zorlaştırmıştır. Çalışmada uzun süreli (96 saat) inkübasyonlarda, kısa süreli (4 saat ve 24 saat) inkübasyonlara kıyasla daha fazla diatom sayılmıştır. İnkübasyon süresi arttıkça kumaşa tutunan diatom sayısında artış bulunmuştur. Kumaştan diatom ekstraksiyonunda H_2O_2 yöntemi ile daha fazla diatom elde edilmiş ve bu yöntemin karşılaştırılan diğer su ve alkol yöntemlerine göre daha kısa sürede sonuç verdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Boğulma, diatom tutunması, kumaş, ekstraksiyon
2022, xii + 56 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

THE TRANSFERABILITY OF MARINE DIATOMS TO FORENSIC EVIDENCE IN DIFFERENT MATERIALS AND EVALUATION OF VARIOUS EXTRACTION METHODS

Zeynep GÜNAY

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Criminalistic

Supervisor: Prof. Dr. Gamze YILDIZ

Diatoms are important creatures that have been studied for the purpose of elucidating drowning cases. These creatures can cling to the body, clothes or belongings of the person or persons involved in the forensic incident. The presence of diatoms in the evidence collected by crime scene investigation teams is used to illuminate the forensic event. In this study, it is aimed to determine the appropriate extraction method in order to analyze the diatoms attached to the fabric in a more efficient and short way in criminal analysis. Compared with previous studies, different fabric types and different incubation times were studied. Again, in order to work on local diatom species, diatoms in the Marmara Sea were provided to cling to fabrics. This study, carried out in a natural aquatic environment, gains importance in terms of its applicability to criminal cases. In the thesis study, polyester added viscose fabric, polyester added tencel fabric and 100% viscose fabric type were kept in the Marmara Sea. Fabrics were incubated for 4 hours, 24 hours and 96 hours. Then, the isolation of diatoms was ensured by applying the methods of washing with water, washing with alcohol and disintegration with hydrogen peroxide on the fabric samples brought to the laboratory. The obtained diatoms were counted under the light microscope.

Statistical analysis of the counting results was made and it was determined that the highest adhesion was to viscose fabric, and the least adhesion was to tencel and polyester blended fabric. While the open and rough texture of viscose fabric made it easier for diatoms to adhere to the fabric surface, the shiny, smooth and semi-open texture of polyester made it difficult for diatoms to adhere to the fabric surface. In the study, more diatoms were counted in long-term (96-hour) incubations than in short-term (4-hour and 24-hour) incubations. As the incubation time increased, the number of diatoms attached to the fabric increased. In diatom extraction from fabric, more diatoms were obtained with the H_2O_2 method and it was determined that this method gave results in a shorter time compared to other water and alcohol methods.

Key words: Suffocation, diatom adhesion, fabric, extraction
2022, xii + 56 pages.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince çok değerli bilgi ve tecrübeleriyle ufkumu açan, arkadaşça tavrı ile desteğini her zaman hissettiğim, çalışma ortamım için her türlü kolaylığı sağlayan ve bana yol gösteren kıymetli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Gamze YILDIZ' a teşekkür ediyor, saygı ve minnetlerimi sunuyorum.

Tez çalışmam sırasında diatom türlerinin teşhisini sağlayan Sayın Doç. Dr. Nurhayat DALKIRAN' a sonsuz teşekkür ediyorum.

Bu çalışmaya, FYL-2021-519 no.lu proje ile maddi destek sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP)'ne teşekkürlerimi sunuyorum.

Çok istediğim kriminal bölümünde eğitim almama vesile olan, beni bugünlere getiren, maddi manevi bütün imkanlarıyla yanımda olan ve bana her zaman güvenen sevgili annem Hamiş GÜNAY' a, canım babam Erdoğan GÜNAY' a, ablam Şule GÜNAY ÇETİNER ve eniştem Sabri ÇETİNER' e, motivasyon kaynağım olan biricik eşim Fatih ARSLAN' a ayrıca arazi çalışmalarım boyunca bana eşlik eden ve yardımlarını esirgemeyen canım dayım Yunus AKIN' a en derin duygularımla teşekkür ediyorum.

Son olarak Kriminalistik programı sayesinde tanıdığım, yüksek lisans eğitimim boyunca ders aldığım, bana yol gösteren bütün hocalarıma ve çalışmalarım boyunca moral ve motivasyon sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Yüksek Lisans sınıf arkadaşlarıma teşekkürlerim sonsuzdur.

Zeynep GÜNAY
01/12/2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET vi
ABSTRACT vii
TEŞEKKÜR viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
ÇİZELGELER DİZİNİ xii
1. GİRİŞ 1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI 5
2.1. Diatomların Genel Özellikleri 5
2.2. Adli Araştırmalarda Diatom Uygulamaları 7
2.2.1. Diatomların giysilere tutunması 10
2.2.2. Diatomların ayakkabılara tutunması 11
2.2.3. Olay mahallinin doğrulanması 12
3. MATERYAL ve YÖNTEM 14
3.1. Kumaş Türleri ve Diatomların Tutunması 14
3.2. Diatom Ekstraksiyonu 18
3.2.1. Su ile yıkama yöntemi 18
3.2.2. Alkol ile yıkama yöntemi 18
3.2.3. H_2O_2 ile parçalama yöntemi 18
3.3. Mikroskop İncelemeleri ve Sayım 19
3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler 20
4. BULGULAR 21
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 36
KAYNAKLAR 39
ÖZGEÇMİŞ 44

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	**Açıklama**
dk.	Dakika
H_2O_2	Hidrojen peroksit
µm	Mikrometre
µL	Mikrolitre
ml	Mililitre
cm^2	Santimetrekare
%	Yüzde

Kısaltmalar	**Açıklama**
VIS+PES	%87 Viskon (VIS) + %13 Polyester (PES)
TNCL+PES	%88 Tensel (TNCL) + %12 Polyester (PES)
VIS	%100 Viskon (VIS)
rpm	Birim zamandaki devir sayısı (Revolutions Per Minute)
SEM	Taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope)

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 1.1.	Su ortamındaki diatomların canlı ve ölü bedendeki dağılımı (Aktaran Rolón Brunetti, 2018'ten değiştirilerek alınmıştır).....	3
Şekil 2.1.	Bir diatom früstülünün yapısı A) Sentrik bir diatom bileşeninin 3 boyutlu şematik gösterimi B) Diatom früstülünün taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü C) Valf detayı (Friedrichs, L. ve diğerleri 2012) D) Tipik bir tatlı su diatomunun ana morfolojik özellikleri (Blanco, S. 2020)	6
Şekil 2.2.	Morfolojik özelliklerine göre diatom grupları (Spaulding ve diğerleri 2021'den değiştirilerek alınmıştır)	7
Şekil 2.3.	Diatomları incelemeye hazır hale getirmek için yapılan işlemler (Group 2021'den değiştirilerek alınmıştır)	8
Şekil 2.4.	Diatomların dolaşıma girmesi ve dokularda saptanması (Gautam 2015'ten değiştirilerek alınmıştır).....	9
Şekil 3.1.	Diatomların tutunması için deneysel düzenek A) Düzeneğin temsili görüntüsü B) Düzeneğin arazideki görüntüsü.....	15
Şekil 3.2.	Kumaşların denizde bekletildiği alan.....	17
Şekil 3.3.	Thoma sayım alanının şematik yapısı.....	19
Şekil 4.1.	Kumaşlar üzerine tutunan diatomların ışık mikroskobu görüntüleri A) Cocconeis sp. B) Fallacia sp. C) Pleurosira laevis D) Tryblionella sp. E) İpliksi yeşil alg F) Pleurosigma sp. G) Nitschia acicularis.....	23
Şekil 4.2.	Kumaşlarda tutunan diatomların SEM görüntüleri A) Cocconeis sp. B) Coscinodiscus sp. C) Pleurosigma angulatum D) Cocconeis sp. E) Sentrik diatom F) Dinoflagellat G) Coccolithophore	27
Şekil 4.3.	Su ekstraksiyonunda inkübasyon sürelerine göre diatom sayıları (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir).....	29
Şekil 4.4.	Alkol ekstraksiyonunda inkübasyon sürelerine göre diatom sayıları (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir).....	30
Şekil 4.5.	H_2O_2 ekstraksiyonunda inkübasyon sürelerine göre diatom sayıları (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir).....	31
Şekil 4.6.	4 saat inkübasyonda ekstraksiyon yöntemine göre diatom sayısı (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)	33
Şekil 4.7.	24 saat inkübasyonda ekstraksiyon yöntemlerine göre diatom sayısı (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)	34
Şekil 4.8.	96 saat inkübasyonda ekstraksiyon yöntemlerine göre diatom sayısı (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kumaş çeşitlerinin görüntüleri..... 16
Çizelge 4.1. Kumaşlara tutunan diatom türleri 28

1. GİRİŞ

Suda boğulma vakalarının dünya genelinde kaza sonucu ölümlerin önde gelen nedenleri arasında yer aldığı bilinmektedir (Türkoğlu ve diğerleri, 2014). Dünya Sağlık Örgütü'nün Küresel Sağlık Tahminleri raporunda, dünya genelinde 2019 yılında yaklaşık 236 000 kişinin boğularak öldüğü belirtilmektedir (World Health Organization, 2021).

Ülkemizde ise Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre her yıl yaklaşık 643 kişinin boğulma nedeniyle hayatını kaybettiği görülmektedir. Afet ve Acil Durum Yönetimi Başkanlığı verilerine göre boğulma vakalarına baraj, dere, göl gibi su kaynaklarında meydana gelen ölümler de eklendiğinde bu sayının 900 kişiye ulaştığı belirtilmektedir (Erdem, 2021).

Boğulma vakalarını araştırırken akla gelen ilk ölüm nedeni kazadır. Ülkemizde yaz aylarında boğulma vakalarına sıklıkla rastlanmaktadır. Yüzme bilen bir insan bile çeşitli nedenlerle boğulabilmektedir. Bu nedenler arasında suya girmeden önce alınan alkol ve benzeri sıvılara bağlı olarak kalp krizi geçirme, ilaç alma, bilinç kaybı gibi durumlar bulunmaktadır. Epilepsi hastalarının su ortamında atak geçirmesi ve suya atladıktan hemen sonra zemine çarpması da boğulma nedenleri arasındadır (Alper ve diğerleri, 1999; Sarın, 2020; Yorulmaz, 1999).

Kriminal incelemelerde ölüm nedeninin intihar mı yoksa cinayet mi olduğu da araştırılmaktadır. Bunun için zaman kaybetmeden olay yeri incelemesinin yapılması ve delillerin sistematik bir şekilde toplanması gerekmektedir. Otopsi işleminde toksikolojik ve patolojik incelemeler, olayın perde arkasını aydınlatmak için büyük önem taşımaktadır (Arslan ve diğerleri, 2005; Yorulmaz, 1999).

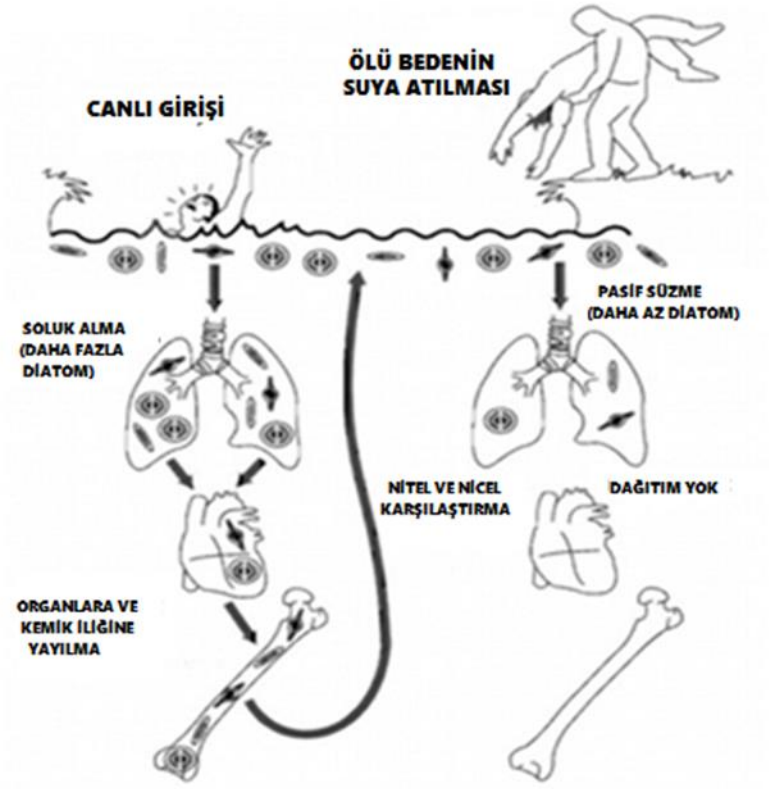
Boğulma tanısında kullanılan biyolojik testlerden biri de diatom analizidir. Boğulma sırasında, sıvı aspirasyonu ile bir miktar sıvı dolaşıma girmektedir. Bu sıvıdaki diatomlar tüm doku ve organlara yayılmaktadır. Analiz, bu doku ve organlardaki diatomların farklı yöntemler kullanılarak gösterilmesi esasına dayanmaktadır. (Kumral ve diğerleri, 2011).

Diatomların adli tıp için tarihsel sürecine bakıldığında Rana ve Manhas (2018) bunları kronolojik olarak şu şekilde sıralamıştır: İlk olarak akciğer sıvısında diatomların varlığı Hofmann (1878) tarafından gösterilmiştir. İlerleyen yıllarda Incze, 1942 yılında yaptığı araştırma ile kanda ve bazı organlarda diatomları tespit etmiş ve diatomların akciğerler yoluyla dolaşıma girebildiğini göstermiştir. Diatomlar, 1949'da Tamasaka tarafından kemik iliğinde tanımlanmıştır. 60'lı yıllara gelindiğinde Porawski (1966), su aspirasyonunun ölümden önce gerçekleştiğinin kanıtı olarak organlarda ve kemik iliğinde diatomların varlığını göstermiştir. Timperman (1972) boğulma sonucu ölümleri doğrudan belirlemek için; kemik iliği, akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve beyin dokusu üzerinde çalışarak diatom testi için bir yöntem geliştirmiştir. Diatomların analizi hem nicel hem nitel olarak yapılabilmektedir. Analizlerde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri ilk olarak Pollanen (1998) tarafından dokularda asitle parçalama yöntemi ile geliştirilmiştir. Boğulma vakalarında kemik iliğinde tespit edilen diatomlar boğulma ortamındaki diatomlarla %90 oranında eşleşmiştir.

Kantitatif ve kalitatif diatom analizleri sayesinde mağdurun boğularak mı öldüğü yoksa öldükten sonra suya mı atıldığı belirlenebilmektedir. Genel olarak, mağdur suya girerken yaşıyorsa, nefes almaya devam ettikçe diatomların akciğerlere gireceği, ardından kan dolaşımına girerek beyin, böbrek ve kemik iliğine ulaşacağı bilinmektedir. Bu organlarda (özellikle kemik iliğinde) diatomların varlığı, mağdurun su ortamına girdiğinde hayatta olduğunu göstermektedir. Bu ölüm nedeninin boğulma olarak belirlenmesinde son derece önemli bir delildir (Bogusz ve diğerleri, 2018).

Kişi öldürüldükten sonra suya atılırsa solunum ve dolaşım olmadığı için diatomların mağdurun dokularına girmediği ve diatomlara çoğunlukla akciğerlerde rastlandığı bilinmektedir. Bu nedenle beyin, böbrek ve kemik iliği gibi dokularda diatom

bulunması mümkün değildir. Bu mağdurun su ortamında boğulmadığının en büyük kanıtı olarak kabul edilmektedir (Bogusz ve diğerleri, 2018). Su ortamında bulunan diatomların canlı ve ölü bedene ait dokulardaki dağılımı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Su ortamındaki diatomların canlı ve ölü bedendeki dağılımı (Aktaran Rolón Brunetti, 2018'ten değiştirilerek alınmıştır)

Diatomlar hem karasal hem de su ekosistemlerinde yaşayan organizmalardır. Hem su ortamının hem de karasal ortamın kendine özgü diatom türlerine sahip olduğu bilinmektedir. Tür teşhisiyle adli olayın gerçekleştiği bölge tespit edilebilmektedir (Bogusz ve diğerleri, 2018; Hardy ve Wallace, 2012).

Kriminal olaylarda diatomlar sadece dokulardan izole edilmekle kalmayıp giyim eşyası vb. malzemelerden de izole edilebilmektedir. Mağdurun bulunduğu sudaki diatom türleri ile vücudunda ve kıyafetlerinde tespit edilen diatom türleri arasındaki benzerlik ve farklılıklar belirlenebilmektedir. Elde edilen sonuçlar, mağdurun su içerisinde yer değiştirip değiştirmediğine ilişkin görüşleri desteklemektedir (Magni ve diğerleri, 2015; Magni ve diğerleri, 2020; Scott ve diğerleri, 2014; Siver ve diğerleri, 1994).

Giysi ve ayakkabı gibi malzemeler üzerinde yapılan diatom analizleri ile de belirli bir kişinin belirli bir su ortamı ile temas edip etmediğini belirlemek mümkündür. Bu sayede olaya karışan kişi veya kişiler tespit edilebilmekte veya verilen ifadenin doğruluğu kontrol edilebilmektedir. Kısaca, eldeki veriler aracılığıyla bir suçun ne zaman, nasıl ve nerede işlendiğine dair bilgiler elde edilebilmektedir (Bogusz ve diğerleri, 2018; Cameron, 2004; Casamatta ve Verb, 2000; Yoshimura ve diğerleri, 1995).

Bu çalışmada, farklı kumaş türlerinden diatomların izole edilmesi için en verimli yöntemin belirlenmesi amaçlanmıştır. Diatomların kumaşa tutunmasında kumaş malzemesinin ve inkubasyon süresinin etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla kadın giyiminde sıklıkla kullanılan üç çeşit kumaş kullanılmıştır. Kumaşlar denizde üç farklı inkübasyon süresine tabi tutulmuş ve kumaş türünün diatomların tutunmasında bir farklılık oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda denizden çıkarılan kumaşlara laboratuvar ortamında üç farklı ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Bu yöntemlerden hangisiyle en verimli sonuca ulaşıldığı değerlendirilmiştir. Tez çalışmasının kriminal olayların çözümünü hızlandıracağına inanılmaktadır.

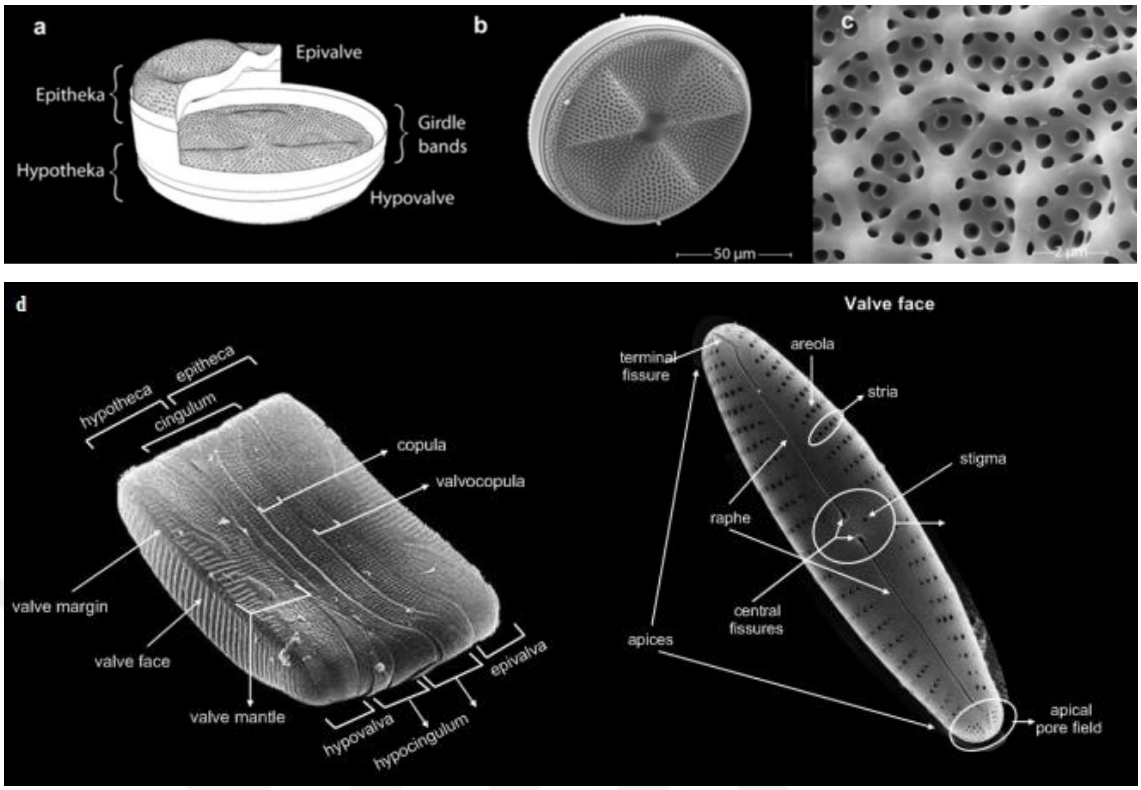
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Diatomların Genel Özellikleri

Diatomlar, Chromista alemi (Kingdom) Bacillariophyta divizyosuna ait tek hücreli mikroskobik canlılardır. Hemen hemen her su ortamında, toprak dahil nemli olan her yerde bulunurlar (Verma, 2013). Pigmentasyonlarında altın kahverengi olarak görünürler. Bugüne kadar pek çok türün keşfedilmediği tahmin edilmekte ve dünya genelinde 200 000 türün olduğu belirtilmektedir (Mann ve Vanormelingen, 2013). Diatomların yoğunluğu ve yerel türlerdeki çeşitliliği, coğrafi çalışmalarda çevresel gösterge olarak kullanılmalarına olanak sağlamaktadır.

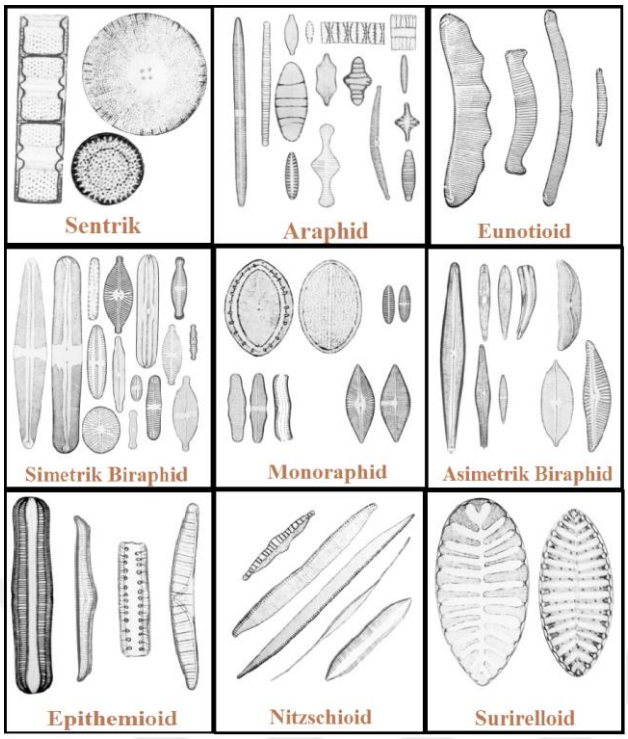
Silikadan (SiO_2) yapılmış hücre duvarları, diatomları zaman içinde bozulmadan korurken, silika duvarındaki morfolojik farklılıklar bu canlıları sınıflandırmak için kullanılmaktadır (Battarbee ve diğerleri, 2001). Hücre duvarlarının dışında birbiri üzerine geçebilen kabuk benzeri bir yapı bulunmaktadır (Şekil 2.1). Bu kabuğa "valva" denilmektedir. Diatom kabuğunun üstte kalan büyük parçasına "Epiteka" altta kalan küçük parçasına "Hipoteka" adı verilmektedir. Hipoteka ve epitekanın birbirine bağlanması ara bantlarla sağlanmaktadır (Kale ve Karthick, 2015).

Diatomları birbirinden ayıran ve türe özgü bazı özellikler valva yüzeyinde bulunmaktadır. Yüzeyde nokta, delik ve çıkıntılardan oluşan süslemeler, tür tanımlaması için kullanılmaktadır. Yine valva yüzeyinde "rafe" adı verilen bir yarık bulunmaktadır. Bu yarık bazen tek kapakta bazen iki kapakta olabilmektedir (Round ve diğerleri, 1990).



Şekil 2.1. Bir diatom früstülünün yapısı **A)** Sentrik bir diatom bileşeninin 3 boyutlu şematik gösterimi **B)** Diatom früstülünün taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü **C)** Valf detayı (Friedrichs, L. ve diğerleri 2012) **D)** Tipik bir tatlı su diatomunun ana morfolojik özellikleri (Blanco, S. 2020)

Bu canlıların morfolojik olarak dokuz grubu vardır (Şekil 2.2). Diatomların birbirinden ayırt edilmesini kolaylaştıran bu gruplar şunlardır: sentrik, araphid, eunotioid, simetrik biraphid, monoraphid, asimetrik biraphid, epithemioid, nitzschioid ve surirelloid (Spaulding ve diğerleri 2021).



Şekil 2.2. Morfolojik özelliklerine göre diatom grupları (Spaulding ve diğerleri 2021'den değiştirilerek alınmıştır)

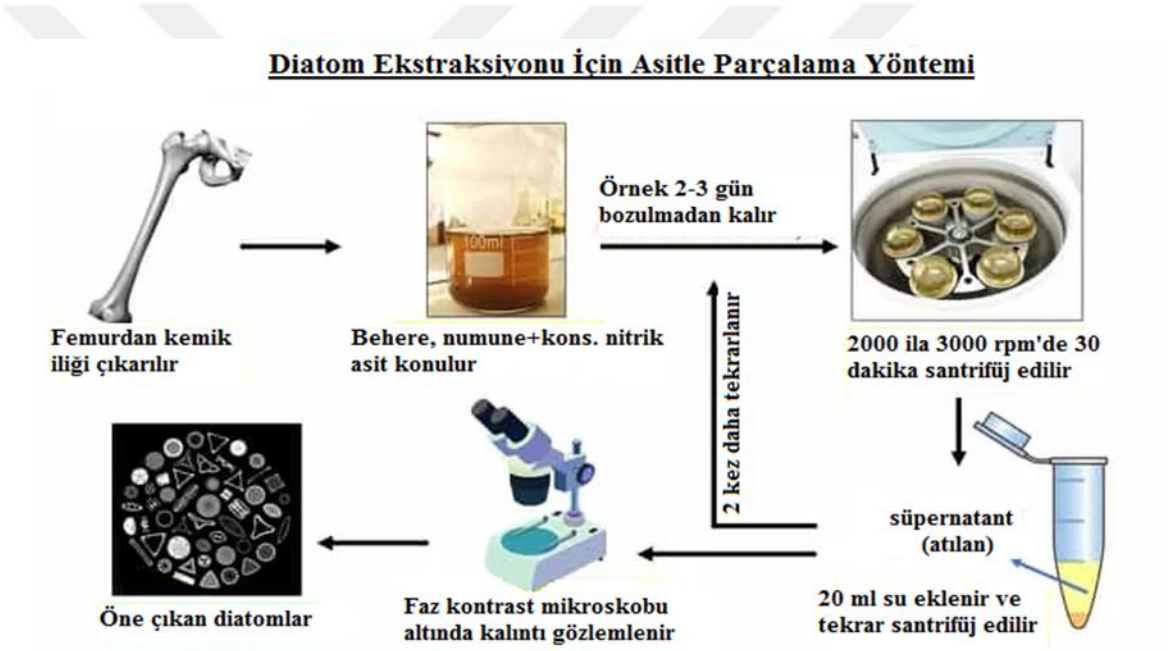
2.2. Adli Araştırmalarda Diatom Uygulamaları

Bir suçun seyri hakkında bilgi toplamak ve ayrıca suçlu, mağdur ve çevre arasındaki ilişkiyi açıklamak için toprak, su ve bitkilerin çevresel analizi yapılmaktadır (Bogusz ve diğerleri, 2022). Diatomlar, çevresel kanıtları suçla ilişkilendirmek için kullanılan önemli canlılardır. Bu canlılar sayesinde olayın gerçekleştiği su ortamı belirlenirken, mağdurun boğularak mı öldüğü yoksa öldükten sonra suya mı atıldığı belirlenebilmektedir. Olay, mağdurun doku ve organlarında tespit edilen diatomlar ile boğulduğu su ortamındaki diatomların karşılaştırılmasıyla değerlendirilmektedir (Bogusz ve diğerleri, 2018; Krstic ve diğerleri, 2002; Ludes ve diğerleri, 1999; Pollanen ve diğerleri, 1998; Singh ve diğerleri, 2006; Verma, 2013).

Diatom analizi için dokularda genellikle asitle parçalama yöntemi kullanılmaktadır (Şekil 2.3). Bu işlem sayesinde örnekteki kum veya çamur gibi mikroskop altında incelemeye engel olan maddeler de uzaklaştırılmaktadır.

Diatomların incelemeye hazır hale getirilmesi için yapılan işlemler sırasıyla;

- Mağdurun bedeninden örnek alınır,
- Alınan örnekten uyluk kemiği çıkartılır. Saf suyla yıkanan kemik daha sonra dikey olarak kesilir. Kemik içerisinden 50 gram kemik iliği çıkarılır,
- Bir balon içine alınan kemik iliği üzerine 50 mililitre (ml) nitrik asit (ya da sülfürik asit) ilave edilir. Hazırlanan karışım 48 saat kaynatılır. (Nitrik ve sülfürik aside ilaveten hidroklorik asit de son zamanlarda sıklıkla kullanılmaya başlamıştır.)
- Süre sonunda soğumaya bırakılan malzeme santrifüj işlemine tabi tutulur. Süpernatant atıldıktan sonra kalan pellet bir lam üzerine yerleştirilir ve mikroskop altında incelenir (Rolón Brunetti, 2018).

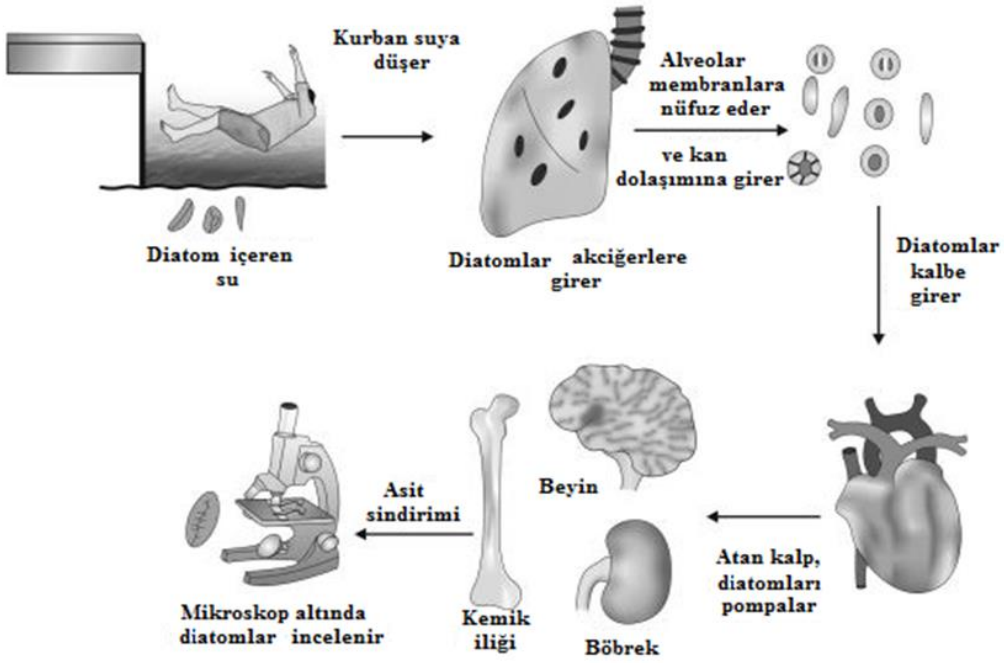


Şekil 2.3. Diatomları incelemeye hazır hale getirmek için yapılan işlemler (Group 2021'den değiştirilerek alınmıştır)

Görüntüleri incelerken dikkat edilmesi gereken noktalardan biri de diatomların 3 boyutlu olması ve aynı diatomun farklı görüntülerine rastlanabilmesidir (Yorulmaz ve Çakalır, 1999). Diatomların boyutlarının yaklaşık 5 µm ile 5 mm arasında değişebildiği ve yaklaşık 200 000 kadar farklı türün bulunduğu (Falciatore ve Bowler, 2002) göz önüne alındığında, ışık mikroskobu tanı ve sınıflandırma için yetersizdir. Analiz için günümüzde; karanlık faz mikroskobu veya elektron mikroskobu tercih edilmektedir. Türler arasında ayrım yapılırken morfolojik özelliklerinden dolayı elektron

mikroskopları kullanılmaktadır (Verma, 2013). Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak, diatomların tür tayininde çok verimli sonuçlar elde edilmektedir. Bu sonuçlardan yararlanarak boğulma vakalarında mağdurun bulunduğu su ortamının boğulma yeri olup olmadığı hakkında yorum yapılabilmektedir (Büken ve diğerleri, 2001).

Mikroskop incelemeleri sonucunda tespit edilen diatom sayısına göre sonucun pozitif mi yoksa negatif mi olduğu anlaşılmaktadır. Mağdurun akciğer dokusu üzerinde bir diatom testi yapılmışsa ve santrifüjleme sonunda 100 mikrolitre (µL) pellet başına minimum 20 diatom elde edilmişse, sonuç pozitif olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, diğer doku ve organlardan elde edilen süspansiyonda 100 µL pellet başına en az 50 diatom bulunursa, sonuç yine de pozitif olarak kabul edilmektedir. Hazırlanan preparatta diatom tespit edilemezse sonuç negatiftir. Ancak bir örnekte diatom bulunmamasına dayanarak ölüm nedeninin boğulma olmadığı şeklinde yorum yapılmamalıdır (Rolón Brunetti, 2018). Diatomların dolaşıma nasıl katıldığının bir temsili Şekil 2.4'te gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Diatomların dolaşıma girmesi ve dokularda saptanması (Gautam 2015'ten değiştirilerek alınmıştır)

Ludes ve diğerlerinin (1999) çalışmasına göre diatom testinin sonuçlarını değerlendirirken dikkate alınması gereken iki önemli faktör vardır. Biri akciğer parçasından elde edilen diatom sayısının değerlendirilmesi, diğeri ise olayın meydana geldiği bölgede nehir izleme ağının oluşturulmasıdır. Araştırmacılar, belirlenen referans noktalarındaki sularda çalışmalar yaparak bölgedeki diatom florasının tür düzeyinde belirlenebileceğine dikkat çekmektedir. Böylece akciğerlerdeki diatom türleri ile olası boğulma yerindeki diatom türlerinin uyumu ayrıntılı olarak gösterilmiş olacaktır. Elde edilen sonuçlar, adli vakalarda boğulma yerinin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır. Ayrıca Siver ve diğerleri (1994) tarafından olayın seyri hakkında daha fazla çıkarım yapabilmek için fiziksel delil olan giysi ve eşyalar üzerinde diatom analizi yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

2.2.1. Diatomların giysilere tutunması

Giysiler, olay yeri incelemesi sırasında sıklıkla bulundukları için olası diatom tutunmasını incelemek için uygun alıcı yüzeylerdir (Bull ve diğerleri, 2006). Bu yüzeylerde yapılacak fizikokimyasal testler olay seyrinin belirlenmesine veya varsa görgü tanıklarının ifadelerinin doğrulanmasına yardımcı olacaktır. Failin veya mağdurun belirli bir yerde varlığını doğrulamak için kullanılabileceğini öne süren çalışmalar da bulunmaktadır (Bogusz ve diğerleri, 2022; Bogusz ve diğerleri, 2018; Magni ve diğerleri, 2020; Scott ve diğerleri, 2014; Uitdehaag ve diğerleri, 2010).

Literatüre bakıldığında adli soruşturma sürecinde kullanılabilirlik açısından çeşitli kumaş örnekleri üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Sonuçlar hem kullanılan ekstraksiyon yöntemi hem de kumaş türü açısından değerlendirilmiştir. Bu amaçla ilk çalışma 2010 yılında Uitdehaag ve diğerleri tarafından yapılmıştır. Giysi parçasından diatom ekstraksiyonu için su ile yıkama, etanol ile yıkama ve asit çözeltisi (HNO_3 + H_2SO_4) ile parçalama yöntemleri kullanılmıştır. Asitle parçalama yönteminin diatom elde etmede diğer iki yönteme göre daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Ancak etanol yöntemi ile elde edilen sonuçların da birbirleriyle uyumlu olduğu ve tür çeşitliliğinin yüksek olması nedeniyle adli soruşturma açısından kullanılabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle, bir giysi parçasının su ortamı ile olası teması araştırılırken ya asit yönteminin ya da etanol

ile durulama yönteminin kullanılabileceği belirtilmektedir. Spesifik bir su kaynağını belirlemek için yapılan çalışmalarda etanol ile durulama yönteminin tercih edilebileceği vurgulanmıştır.

Scott ve diğerlerinin (2014) çalışmasında, pamuklu kumaş hem su hem de nemli toprak ile temas ettirilmiş ve kumaşa tutunan diatom miktarları temas sürelerine göre karşılaştırılmıştır. Çalışmada, Uitdehaag ve diğerlerinin (2010) kullandığı su ve alkol yöntemine ek olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) yöntemi kullanılmıştır. Kumaşlar, ekstraksiyondan sonra herhangi bir diatom olup olmadığını görmek için elektron mikroskobu altında incelenmiştir. Bu şekilde alkol ekstraksiyonunun en az etkili olduğu ve H_2O_2 ekstraksiyonunun daha çok etkili olduğu belirtilmektedir. Ayrıca kullanılan her üç yöntemde de kumaşın bozulmadığı, ekstraksiyon sonrası diğer izler için analiz yapılmasına olanak sağlayacağı belirtilmiştir.

2.2.2. Diatomların ayakkabılara tutunması

Diatomlar, çift kabuklu silika iskeletleri sayesinde tutundukları yüzeylerde yaşayabilirler (Cameron, 2004). Bu durum birçok su ortamından veya nemli tortu yüzeylerinden diatom elde etmeyi mümkün kılmaktadır. Elde edilen diatom topluluklarının türlerini ayırt etmek ve yaşadıkları su ortamı hakkında bilgiye ulaşmak mümkün hale gelmektedir (Cox, 2012; Horton ve diğerleri, 2006).

Adli soruşturmalarda diatomların araştırılması için numune alınacak alanlar arasında mağdur, şüpheli veya şüphelilerin ayakkabı yüzeyleri bulunmaktadır. Levin ve diğerleri (2017) tarafından diatomların ayakkabı yüzeylerine tutunabilirliği ve yüzeydeki kalıcılığı araştırılmıştır. Ayakkabı malzemesinin tabanını temsilen kauçuk ve poliüretan kumaş, ayakkabının üst kısmını temsilen kanvas, deri ve süet kumaş kullanılmıştır. Bu kumaşlar hiç kullanılmamış bir çift çizme üzerine sabitlenmiştir. Bu çizme 30 saniye, 3 dakika (dk.) ve 30 dakika (dk.) boyunca belirli diatomları içeren suda bekletilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda çizmeler giyilmiş ve 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36 ve 168 saat sonra tekrar analiz edilmiştir. En kısa inkübasyon süresinden (30 saniye) sonra bile kanvas kumaştan diatomlar tespit edilmiştir. Ek olarak 3 dakikalık inkübasyondan sonra

beş kumaş türünün hepsinden diatomlar elde edilmiştir. Kumaş yapıları göz önüne alındığında, daha pürüzlü dokuya sahip olan kanvas, deri ve süet kumaştan daha pürüzsüz taban malzemesi olan kauçuk ve poliüretan kumaşlara göre daha fazla diatom elde edilmiştir. Diatomların kalıcılığı açısından ise ayakkabı su ile temas ettikten 168 saat sonrasında bile kumaş yüzeyinde diatomların varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile ayakkabı yüzeyinin de adli araştırmalarda incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayakkabı yüzeyine tutunan diatomlar sayesinde bir cesedin boğulduğu yer (Cameron ve Peabody, 2010; Kakizaki ve diğerleri, 2010), cesedin su ortamında taşınıp taşınmadığı (Thakar ve Singh, 2010; Verma, 2013) ve şüphelinin temas ettiği su ortamı (Cameron, 2004; Siver ve diğerleri, 1994) belirlenebilmektedir.

2.2.3. Olay mahallinin doğrulanması

Dünya çapında yapılan çalışmalarda, akciğer, böbrek gibi organlarda tespit edilen diatom türlerinin su ortamından tespit edilen diatom türleri ile karşılaştırılmasıyla boğulmanın meydana geldiği bölgenin doğrulanabileceği gösterilmiştir (Singh ve diğerleri, 2004; Sitthiwong, 2014). Yadav ve diğerleri (2013) tarafından Yamuna Nehri'nin dört farklı bölgesinden diatom tespiti amacıyla su örnekleri alınmış ve toplanan su örnekleri asitle parçalama yöntemiyle analiz edilerek mikroskop altında incelenmiştir. İnceleme sonucunda nehrin dört kesiminde 41 diatom türünün bulunduğu ve bu 41 diatom türünden 10'unun bölgeye özgü olduğu belirlenmiştir. Bölgeye özgü bu diatomların şüpheli boğulma vakalarında ve diğer adli amaçlarla yer tespiti için belirteç olarak kullanılabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır. Mishra ve diğerleri (2016) benzer bir çalışmayı yılın Aralık, Ocak ve Şubat aylarında gerçekleştirmiştir. Jaunpur Bölgesi'ndeki Gomati Nehri'nden su örnekleri toplayarak yaptıkları çalışmada bölgeye özgü diatomları belirlemişler ve bir diatomun varlığının ölüm nedeni, ölüm yeri ve olası mevsim hakkında çok fazla bilgi vereceği sonucuna varmışlardır. Sudan çıkarılan bir cesedin asıl boğulma yeri belirlenirken su ortamındaki akıntı nedeniyle farklı bir yere taşınmış olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu gibi durumlarda boğulmanın tam yerini belirlemek için ceset ve referans su örneklerindeki diatomların nicel ve nitel karşılaştırmaları yapılmalıdır. Bu karşılaştırmayı yaparken yanlış su ortamından alınan yanlış referans su numunesi yanıltıcı sonuçlara yol açacaktır. 2017

yılında yapılan bir çalışmada yanıltıcı sonuçlardan kaçınmak için diatomları haritalamanın faydalı olabileceği belirtilmektedir. Çalışmada, belirli bölgelerde yayılış gösteren diatom türlerinin taksonları kullanılarak bir haritalama yapılmasının boğulma yerinin belirlenmesinde uzmanlar için bilgilendirici olacağı belirtilmektedir (Saini ve diğerleri, 2017). Yayımlanan bir başka çalışmada ise boğulma olaylarının sıklıkla yaşandığı bölgelerde sistematik örnekleme yapılarak bir diatom veri tabanı oluşturulmasının önemi vurgulanmıştır. Oluşturulan veri tabanı sayesinde tespit edilen diatomların mukayesesinin yapılabileceği belirtilmektedir (Sankhla ve diğerleri, 2016).

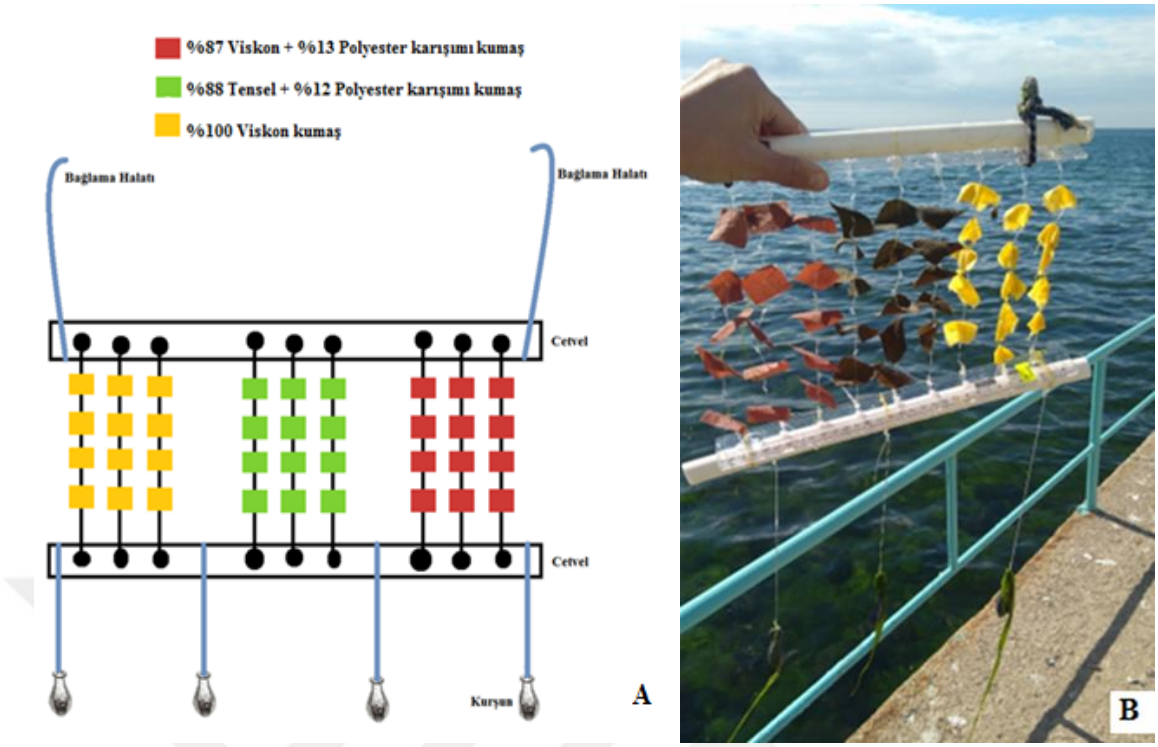
Hurlimann ve diğerlerinin (2000) araştırmasına göre, dokulardan elde edilen diatomlar hem yoğunluk hem de tür çeşitliliği açısından farklılık gösterebilmektedir. Araştırmacılar bu farklılığa sebep olan birkaç faktör olduğunu vurgulamaktadır. Bu faktörlerden ilki boğulma sırasında su aspirasyonu nedeniyle akciğerlere veya mideye giren diatomların yoğunluğunun suya göre 10 ile 100 arasında azalmasıdır. Bu yoğunluktaki azalma katsayısı; akciğerlerden kana, oradan da böbrek, karaciğer ve kemik iliğine geçene kadar 100 ile 1000 arasındadır. Bu durum çeşitli dokulardan elde edilen diatomlarda yoğunluk farkının görülmesine yol açmaktadır. Suyun tuzluluğu, sıcaklığı, pH farkı ve diatom türleri arasındaki rekabet de doku ve organlardan tespit edilecek diatomların yoğunluğunda ve tür çeşitliliğinde farklılığa sebep olmaktadır. Bu nedenle kanıtlar üzerinde yapılacak tür bazlı diatom analizi, habitat veya konum bilgisi hakkında önemli bilgiler verirken, yılın belirli bir zamanını gösterebilmektedir (Parmar, 2014). Yapılan çalışmalar bazı diatom türlerinin bölgeye özgü olduğunu bu nedenle endemik kabul edildiğini ve sınırlı bir dağılım gösterdiğini göstermiştir (Vanormelingen ve diğerleri, 2008; Williams ve Kociolek, 2017). Bu tür endemik türlerin boğulma şüphesi olan durumlarda bölge tespiti için kullanılabileceği bazı araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (Krstic ve diğerleri, 2002; Yadav ve diğerleri, 2013).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Marmara Denizi'ndeki diatomların çeşitli kumaşlara farklı inkübasyon sürelerinde tutunması ve sonrasında farklı yöntemlerle diatomların elde edilmeleri incelenmiştir.

3.1. Kumaş Türleri ve Diatomların Tutunması

Çalışmada adli vakalarda karşılaşılan ve özellikle kadın giyiminde yaygın olarak kullanılan üç kumaş türü seçilmiştir. Bunlar; viskon (%100 VIS), polyester ile viskon karışımı (%87 VIS + %13 PES) ve polyester ile tensel karışımı (%88 TNCL + %12 PES) kumaşlardır. Bu kumaş örnekleri ile Şekil 3.1'de gösterildiği gibi bir düzenek hazırlanmış ve bu düzenek deniz suyunda bekletilmiştir. Düzeneğin hazırlanmasında 9 santimetrekarelik (cm^2) kumaş parçaları kullanılmıştır. Kesilen kumaş parçalarının ortasından misina geçirilmiştir. Misina diğer iplere göre deniz ortamında kopmaya ve çürümeye karşı dayanıklı olduğu için tercih edilmiştir. Kumaş parçalarının birbirine yapışmasını önlemek için kumaşların hem üst hem alt kısmına düğüm atılmıştır. Misinaya dizilen kumaşları sabitlemek için cetvel kullanılmıştır. Cetvel üzerinde yeterli sayıda delik açıldıktan sonra Şekil 3.1'de gösterildiği gibi misinalar sabitlenmiştir.



Şekil 3.1. Diatomların tutunması için deneysel düzenek **A)** Düzeneğin temsili görüntüsü **B)** Düzeneğin arazideki görüntüsü

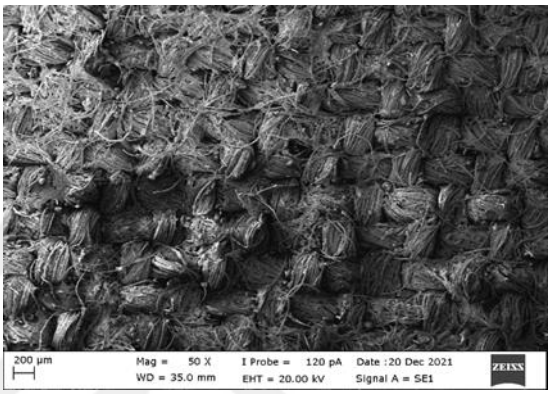
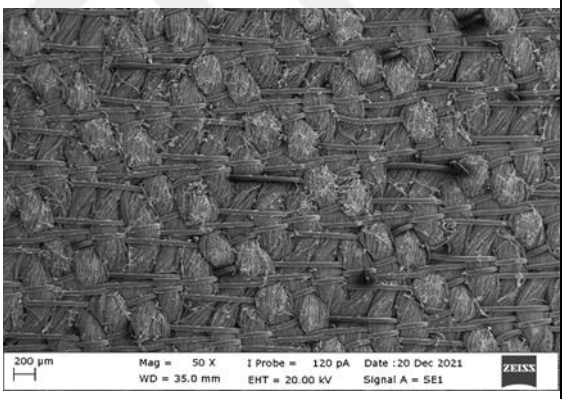
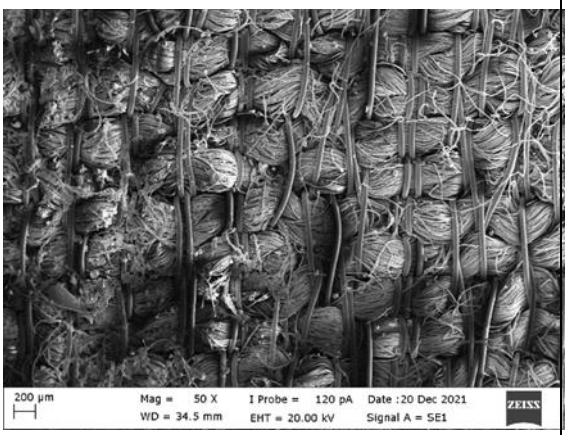
Düzenekte her kumaş parçası dikey düzlemde 5 tekrarlı olarak sıralanmıştır. Bunlardan 3 tanesi tekrarlı sayım yapmak için, 1 tanesi SEM görüntülemesi için ve 1 tanesi de yedek olarak konulmuştur. Her kumaş türündeki bu dikey düzlem 3 tekrarlı olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu tekrarlar farklı yöntemlerle (su ile yıkama, alkol ile yıkama ve H_2O_2 ile parçalama) diatom örneklerinin elde edilmesi için kullanılmıştır.

İnkubasyon süresinin etkisini araştırmak amacıyla bu düzenekten 3 tane hazırlanmıştır. Düzeneklerin hepsi aynı anda denize bırakılmış ve farklı zamanlarda (4, 24 ve 96 saat) denizden çıkarılmıştır. Deney düzeneğinin denizdeki konumu, diatomların yaşam alanı olan su yüzeyi ve yüzeye yakın derinlikler dikkate alınarak seçilmiştir. Düzeneğin deniz içinde batmasına özen gösterilmiş ve bu amaçla düzeneğin uç kısmına olta kurşunu bağlanmıştır (Şekil 3.1).

Deney için seçilen kumaşların yüzey özellikleri ve dokuma türleri birbirinden farklıdır. Viskon ve tensel kumaş yarı sentetik, polyester ise sentetik bir kumaştır. Doğal lifler

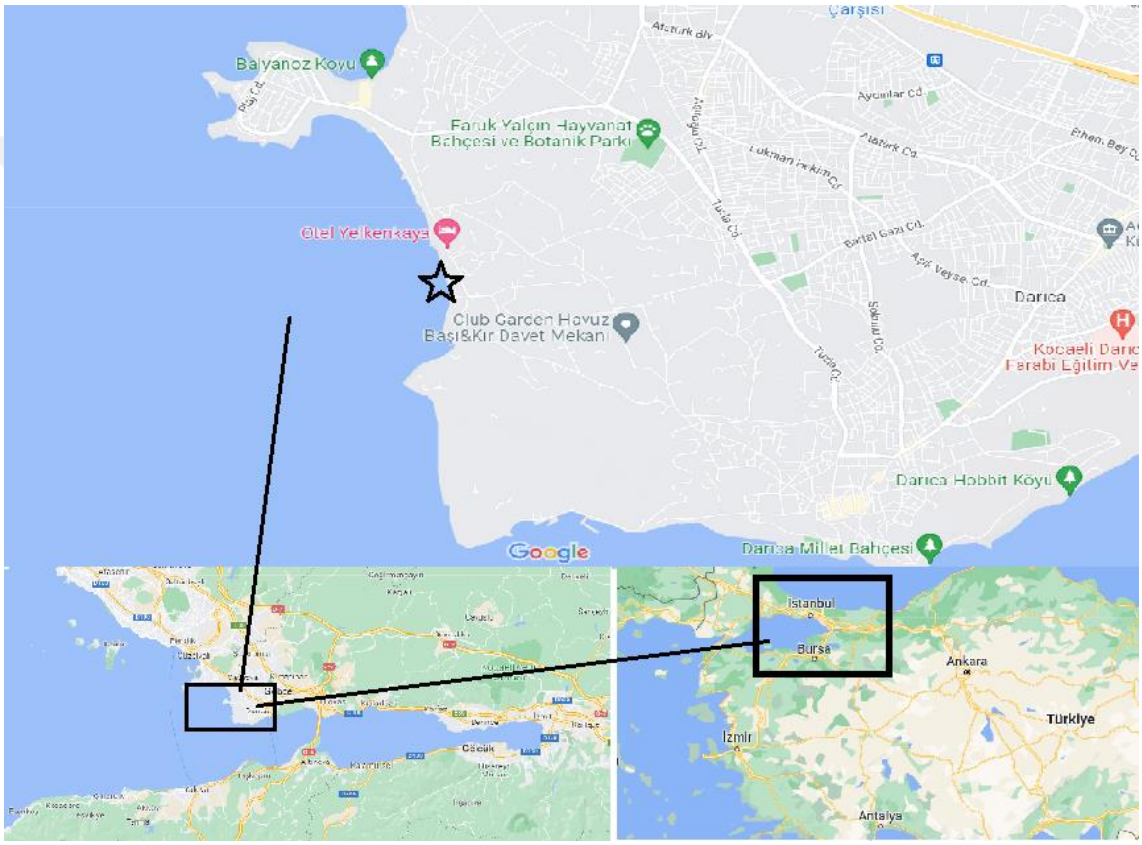
pürüzlü yüzeylere sahipken, sentetik lifler pürüzsüz yüzeylere sahiptir. Çalışmada farklı materyallerdeki bu kumaşlara diatom tutunması değerlendirilecektir. Çizelge 3.1'de çalışmada kullanılan kumaşların fotoğrafları ve SEM görüntüleri gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kumaş çeşitlerinin görüntüleri

Malzeme Bileşimi	Fotoğraf	SEM
%100 VIS		
%88 TNCL + %12 PES		
%87 VIS + %13 PES		

Kumaşların deniz ortamındaki bekletme işlemi 2021 yılı Ekim ayında Kocaeli'nin Darıca ilçesine bağlı Bayramoğlu Mahallesi'nde gerçekleştirilmiştir. Bayramoğlu, Marmara Denizi kıyısında yer almaktadır. Ekim ayı ortalama deniz suyu sıcaklığı 20-16^{o}C arasında değişmektedir.

Çalışmada kumaşların denizde bekletilmesi için belirlenen alan harita üzerinde yıldız içerisine alınmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kumaşların denizde bekletildiği alan

Kumaşlar deniz ortamında 4 saat, 24 saat ve 96 saat olmak üzere üç farklı inkübasyona tabi tutulmuştur. Bu sayede denizdeki diatomlar kumaş numunelerine aktarılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonunda düzenekler denizden çıkarılarak kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan kumaşların her biri penisilin şişelerine konulmuş ve etiketleme işlemi yapılmıştır.

3.2. Diatom Ekstraksiyonu

Kumaş örneklerinden diatomların ekstraksiyonu için üç farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlar; su ile yıkama, alkol ile yıkama ve H_2O_2 ile parçalama yöntemleridir.

3.2.1. Su ile yıkama yöntemi

Penisilin şişesinden çıkarılan kumaş numuneleri, 100 ml'lik şişelere aktarılmış ve içlerine 30 ml distile su eklenmiştir. Şişeler 24 saat karıştırılmak üzere manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Bu sayede kumaş üzerine tutunan diatomların suya geçişi sağlanmıştır. 24 saat sonunda kumaş parçaları şişelerden çıkarılarak tekrar kurumaya bırakılmıştır. Şişede kalan su numunesi 3500 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda pellet, toplam 5 ml olacak şekilde distile su ile seyreltilmiştir. Penisilin şişelerine alınan örneklere 4 damla lügol çözeltisi eklenmiştir. Şişeler karıştırıldıktan sonra kapakları parafin ile kapatılmıştır. Sayıma kadar buzdolabında 4°C' de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Alkol ile yıkama yöntemi

Kumaş örnekleri 100 ml'lik şişelere aktarılmış ve 30 ml %70 etil alkol eklenmiştir. Şişeler 24 saat karıştırılmak üzere manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. 24 saatlik sürenin sonunda karıştırıcıdan alınan kumaş parçaları kurumaya bırakılmıştır. Santrifüj işlemi için şişede kalan alkol örneği falkonlara aktarılarak 3500 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda pellet, toplam 5 ml olacak şekilde distile su ile seyreltilmiştir. Penisilin şişelerine alınan örneklere 4 damla lügol çözeltisi eklenmiştir. Şişeler karıştırıldıktan sonra alkolün uçucu özelliği dikkate alınarak şişelerin kapakları parafinle kapatılmıştır. Sayıma kadar buzdolabında 4°C' de muhafaza edilmiştir.

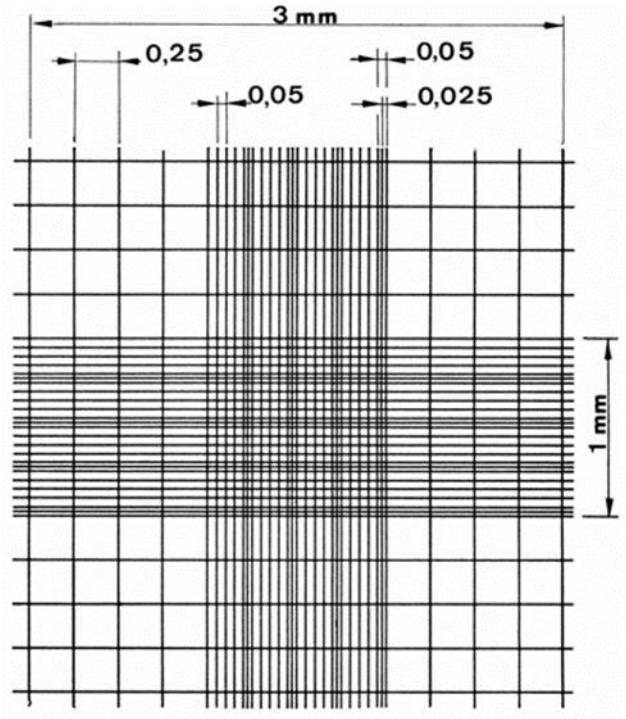
3.2.3. H_2O_2 ile parçalama yöntemi

Bu yöntem için, kumaş parçaları falkonlara aktarılmış ve üzerine 10 ml %30 H_2O_2 ilave edilerek kapakları parafin ile kapatılmıştır. Hazırlanan falkonlar 70°C'ye ayarlanmış sıcak su banyosuna yerleştirilip, 3 saat bekletilmiştir. Su banyosundan alınan falkonlar,

vortekslenmiş ve kumaşlar üzerinde kalan diatomların H_2O_2 içerisine geçmesi sağlanmıştır. Falkonlardan alınan kumaş parçaları kurumaya bırakılmıştır. Santrifüj işlemi için falkonda kalan peroksit örneği 3500 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Yıkama işlemi için pellete distile su ilave edilerek tekrar santrifüj edilmiştir. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlanmıştır. Santrifüj sonunda pellet, toplam 5 ml olacak şekilde distile su ile seyreltilmiştir. Penisilin şişelerine alınan örneklere 4 damla lügol çözeltisi eklenmiştir. Şişeler karıştırıldıktan sonra kapakları parafin ile kapatılmıştır. Sayıma kadar buzdolabında 4°C' de muhafaza edilmiştir.

3.3. Mikroskop İncelemeleri ve Sayım

Diatomların sayımı ve gözlemi Nikon Eclipse E100 binoküler ışık mikroskobu ile yapılmıştır. Sayım için hemositometre kullanılmıştır. Buzdolabından çıkarılan her örnek için 5 sayım yapılmıştır. Sayım alanındaki 1 mm'lik karelerin 4'ünde sayım gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). İnceleme sırasında tespit edilen bazı diatomların fotoğrafları çekilmiştir.



Şekil 3.3. Thoma sayım alanının şematik yapısı

Sayım işlemi tamamlandıktan sonra 1 cm^2 kumaşa tutunan diatom miktarı aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (LeGresley ve McDermott, 2010).

$$\text{Sayım sonuçlarının ortalaması} = \frac{\text{Beş sayımın toplamı}}{5}$$

$$\text{Kare başına düşen diatom sayısı} = \frac{\text{Sayım sonuçlarının ortalaması}}{4}$$

$$\text{Mililitre başına diatom sayısı} = \text{Kare başına düşen diatom sayısı} \times 50\,000 \text{ diatom ml}^{-1}$$

$$1\ cm^2 \text{ deki diatom sayısı} = \frac{\text{Mililitre başına diatom sayısı}}{9}$$

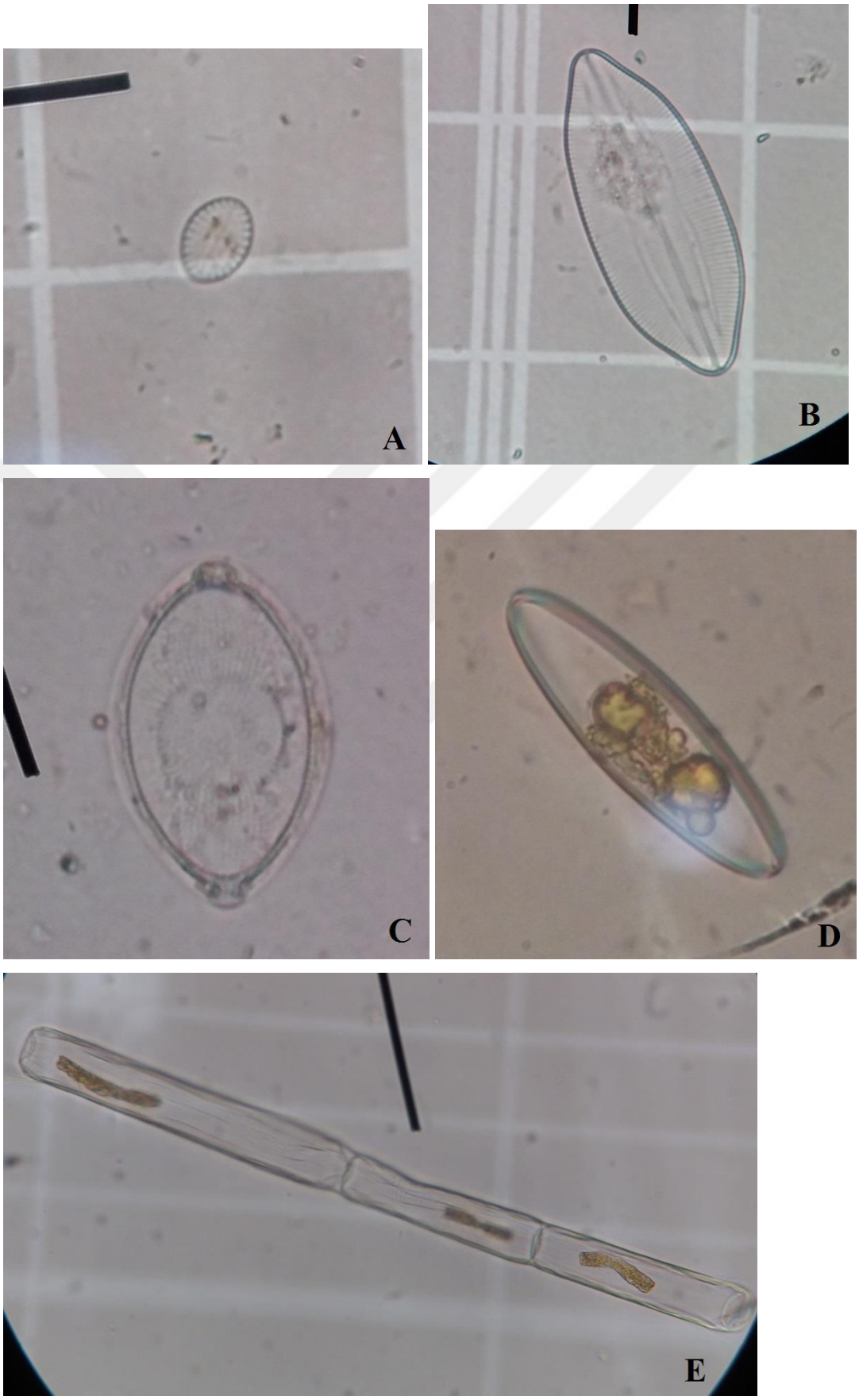
3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler

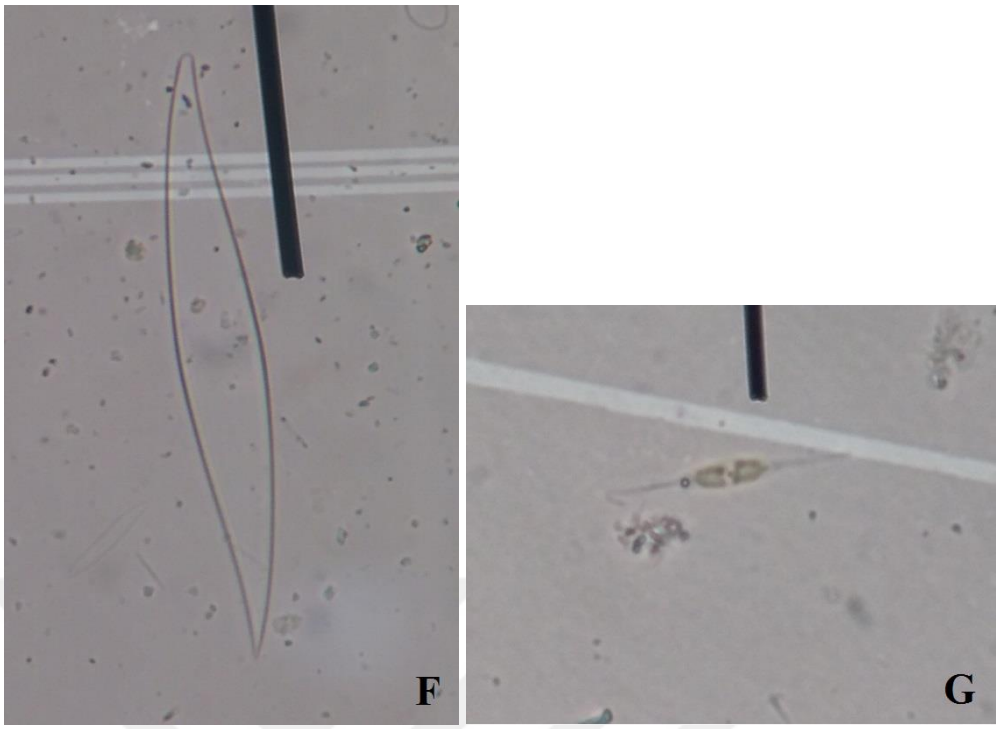
Diatomların kumaşlardan izole edilmesinde kullanılan yöntemleri değerlendirmek ve diatomların kumaş türüne göre tutunma durumu ve inkübasyon süresi ile olan ilişkisini ortaya çıkarmak için Çift Yönlü Anova testi yapılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD testi kullanılmıştır. Sonuçların $p<0,05$ olması anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 23 paket programında yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmada, %87 Viskon + %13 Polyester karışımı, %88 Tensel + %12 Polyester karışımı kumaş ve %100 Viskon kumaş yüzeyine tutunan diatomlar incelenmiştir. Diatomların kumaş yüzeyine tutunmasını sağlamak için hazırlanan düzenek 4 saat, 24 saat ve 96 saat olmak üzere üç farklı zaman aralığında denizde tutulmuştur. İnkübasyon sonrası kumaşlara su, alkol ve H_2O_2 ile ekstraksiyon işlemleri uygulanmıştır. Işık mikroskobu altında thoma lamı kullanılarak diatomların sayımı yapılmış ve SEM görüntüleri ile diatom morfolojilerine ait bulgular elde edilmiştir.

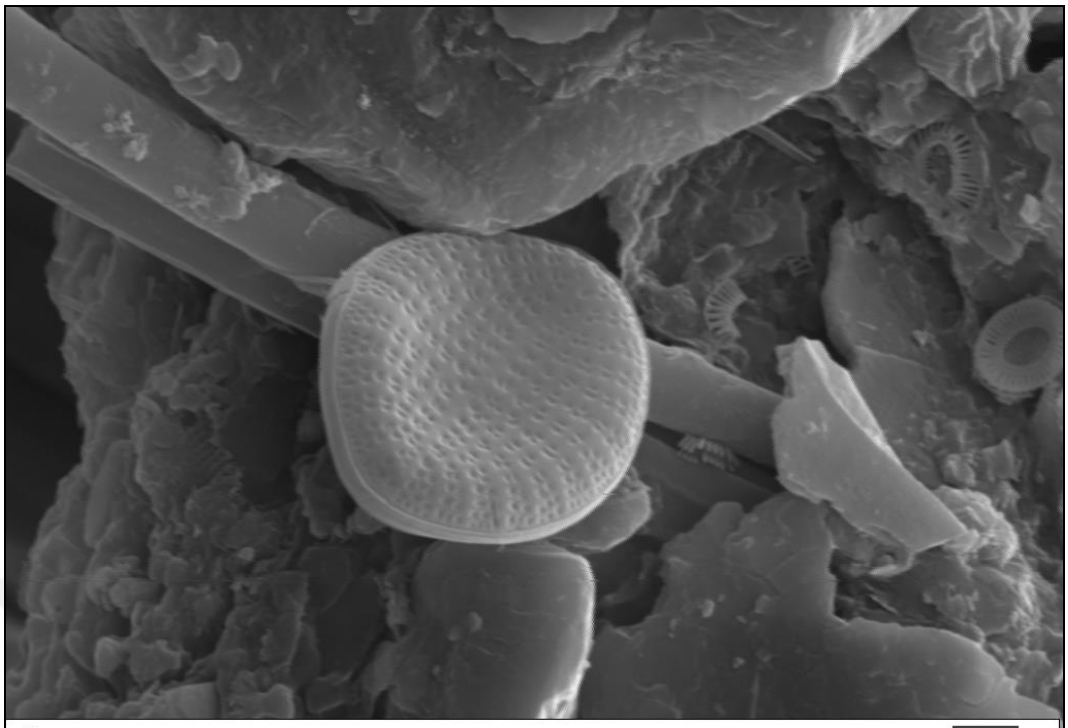
Diatomların çok küçük boyutlarda oluşu tespit edilmelerini zorlaştırmıştır. Görüntüler ışık mikroskobu altında 40X ve 100X büyütmelerde alınmıştır. Kumaşlar üzerine tutunan diatomlara ait ışık mikroskobu görüntüleri Şekil 4.1'de verilmiştir. İncelenen örneklerde *Cocconeis* sp., *Tryblionella* sp. ve *Fallacia* sp. türleri yoğun olarak bulunurken *Pleurosira laevis* türü ise daha az sayıda tespit edilmiştir.


A
B
C
D
E

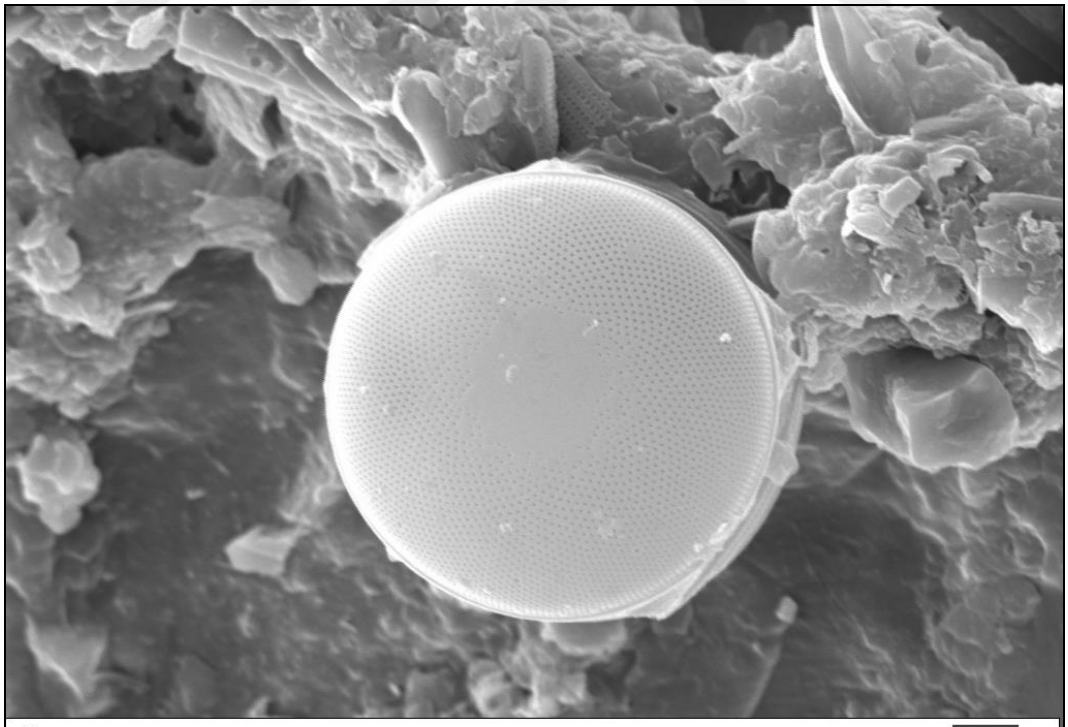


Şekil 4.1. Kumaşlar üzerine tutunan diatomların ışık mikroskobu görüntüleri **A)** Cocconeis sp. **B)** Fallacia sp. **C)** Pleurosira laevis **D)** Tryblionella sp. **E)** İpliksi yeşil alg **F)** Pleurosigma sp. **G)** Nitschia acicularis

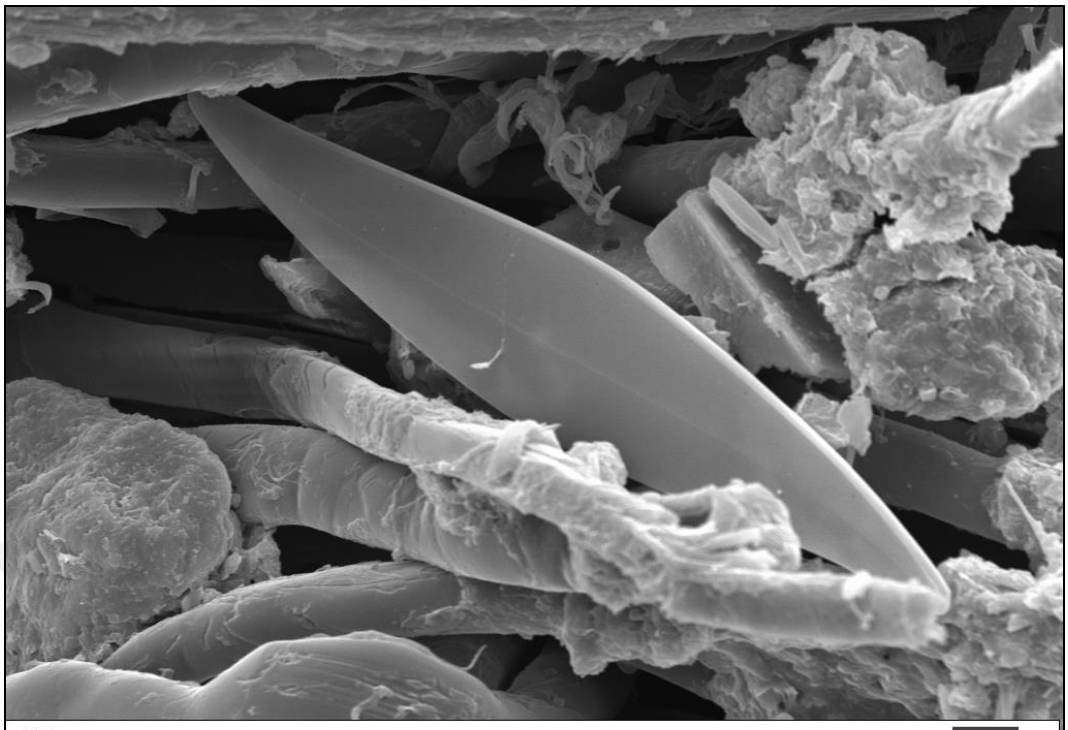
Diatomları daha detaylı incelemek için SEM kullanılmıştır. SEM görüntülerinde en çok rastladığımız türler *Cocconeis* sp. ile merkezi bir diatom olan *Coscinodiscus* sp. ve pennat bir diatom olan *Pleurosigma angulatum* türleridir. Tespit ettiğimiz diatomlara ait SEM görüntüleri Şekil 4.2'de verilmiştir.


2 µm
Mag = 8.00 K X
I Probe = 120 pA
Date :20 Dec 2021
WD = 34.5 mm
EHT = 20.00 kV
Signal A = SE1
ZEISS

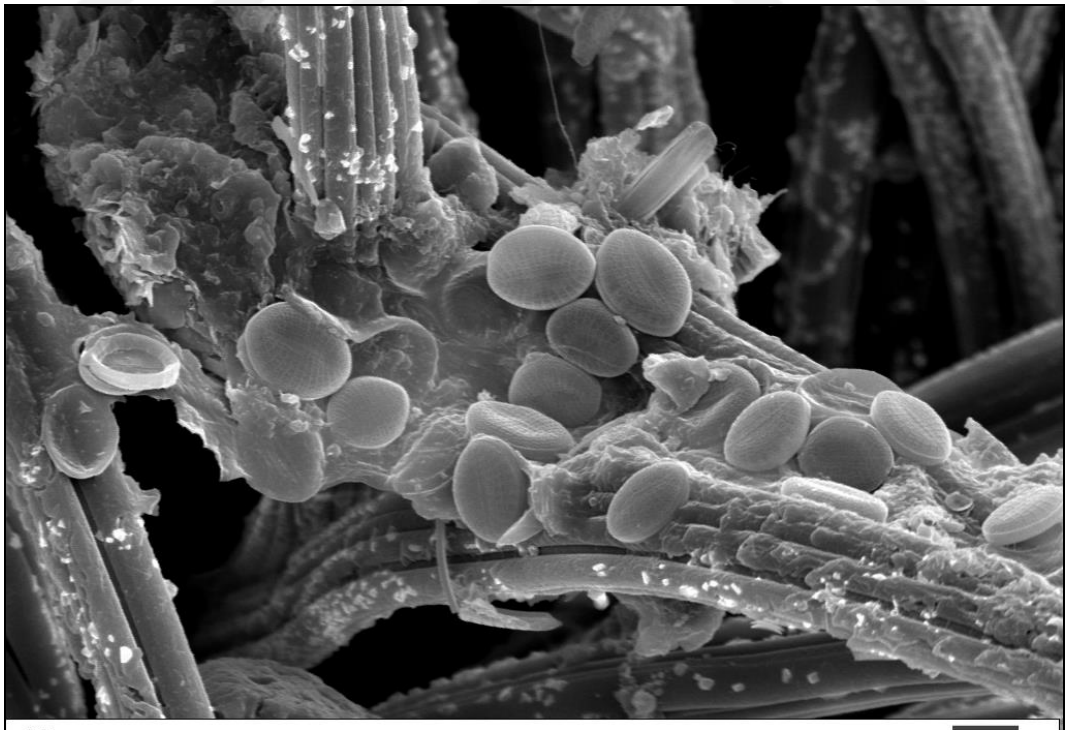
A


2 µm
Mag = 5.00 K X
I Probe = 120 pA
Date :20 Dec 2021
WD = 34.5 mm
EHT = 20.00 kV
Signal A = SE1
ZEISS

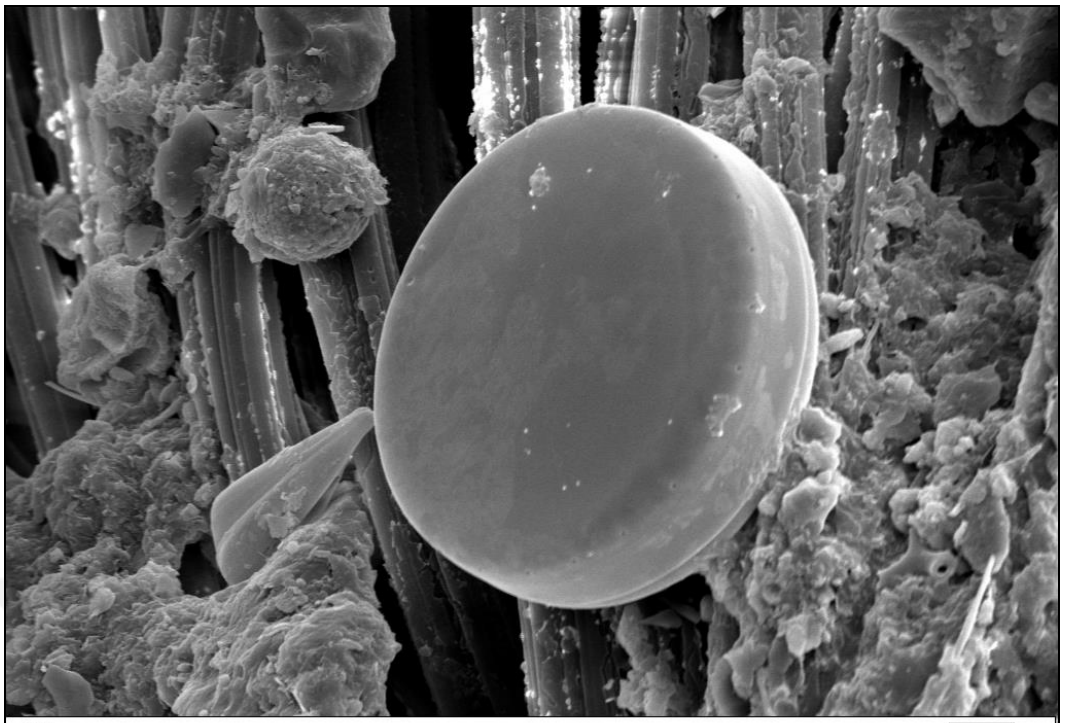
B


20 µm
Mag = 2.00 K X
I Probe = 120 pA
Date :20 Dec 2021
WD = 35.0 mm
EHT = 20.00 kV
Signal A = SE1
ZEISS

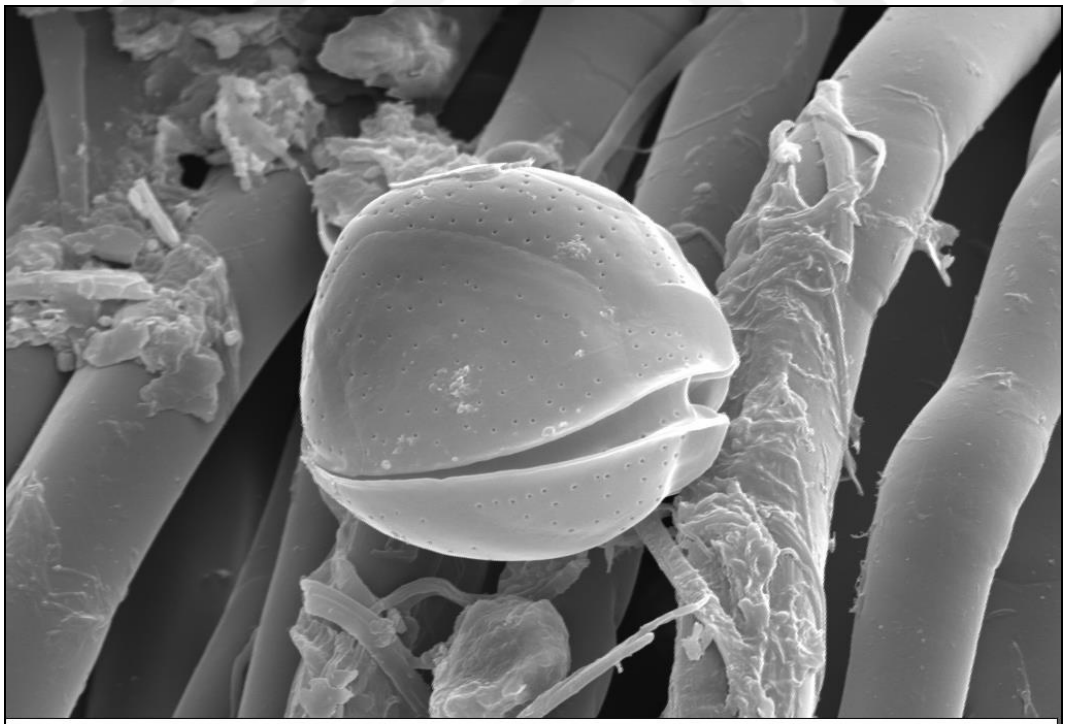
C


10 µm
Mag = 2.50 K X
I Probe = 120 pA
Date :22 Dec 2021
WD = 34.5 mm
EHT = 20.00 kV
Signal A = SE1
ZEISS

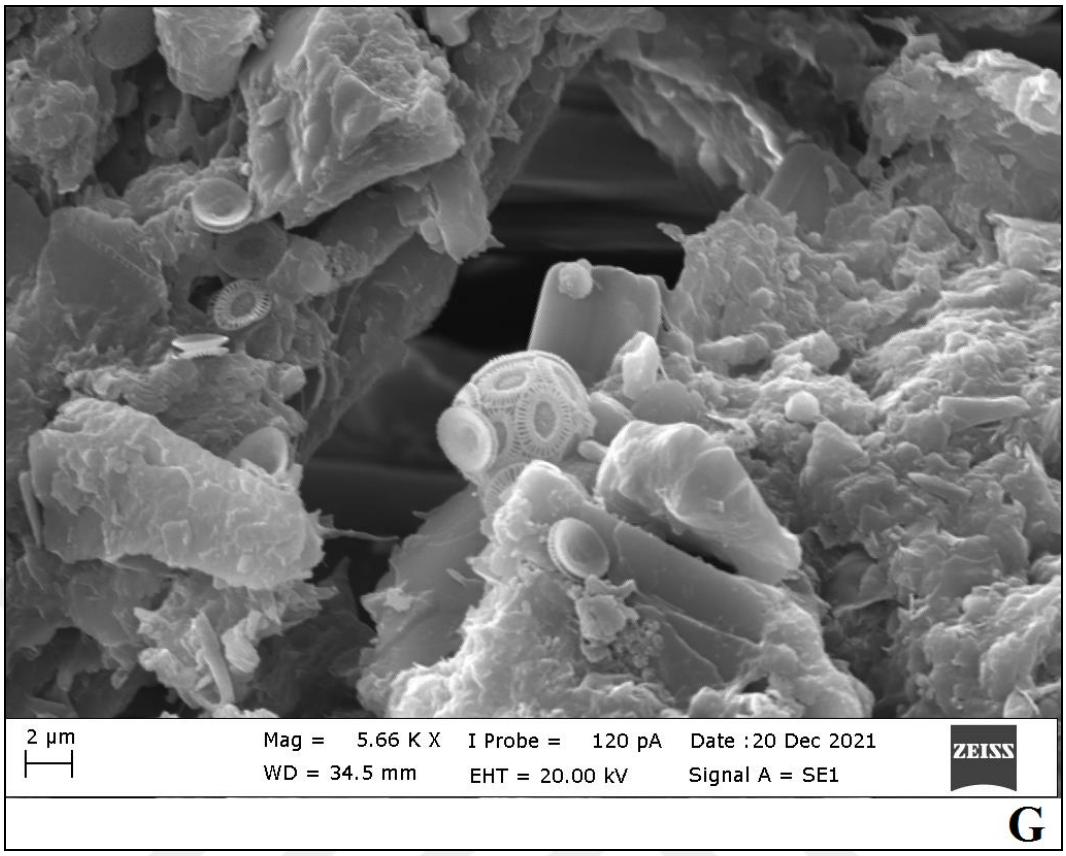
D


20 µm
Mag = 2.00 K X
I Probe = 120 pA
Date :22 Dec 2021
WD = 34.0 mm
EHT = 20.00 kV
Signal A = SE1
ZEISS

E


10 µm
Mag = 3.50 K X
I Probe = 120 pA
Date :20 Dec 2021
WD = 35.5 mm
EHT = 20.00 kV
Signal A = SE1
ZEISS

F



Şekil 4.2. Kumaşlarda tutunan diatomların SEM görüntüleri **A)** Cocconeis sp. **B)** Coscinodiscus sp. **C)** Pleurosigma angulatum **D)** Cocconeis sp. **E)** Sentrik diatom **F)** Dinoflagellat **G)** Coccolithophore

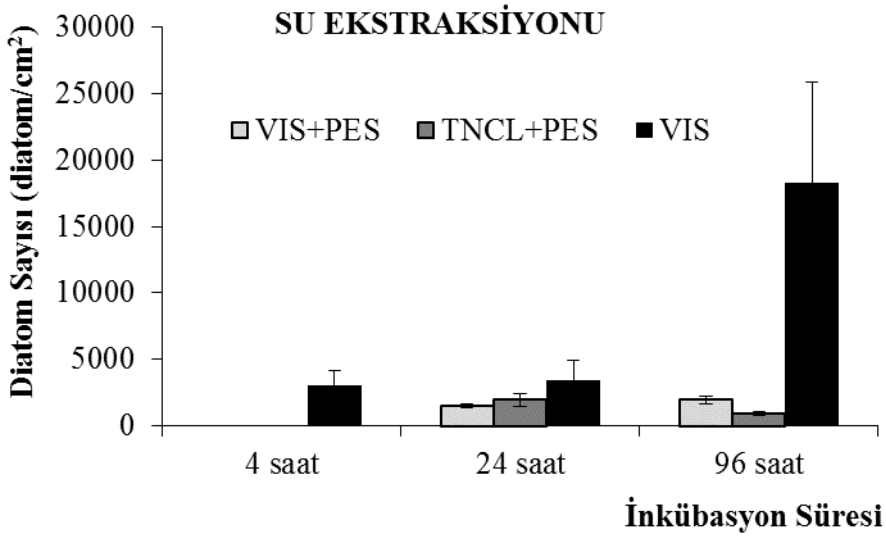
Mikroskop incelemesi sonucunda kumaşlar üzerine tutunan diatomların listesi Çizelge 4.1'de verilmiştir. Kumaş türleri üzerinde çoğunlukla *Cocconeis* sp. ve *Fallacia* spp. bireylerinin diğer türlere kıyasla daha fazla tutunduğu belirlenmiştir. İncelenen preparatlarda diatom türlerinin haricinde *Coccolithophore*, *Dinoflagellat*, *ipliksi yeşil alg* ve *Radiolaria* gruplarına ait bireyler de tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Kumaşlara tutunan diatom türleri

Cocconeis sp.
Fallacia sp.
Pleurosigma sp.
Pleurosigma angulatum
Coscinodiscus sp.
Nitschia acicularis
Nitschia sp.
Tryblionella spp.
Tabularia sp.
Pleurosira laevis
Lichmophora sp.
Odontella sp.
Navicula sp.
Opephora sp.
Cyclotella sp.

Kumaşların 4, 24 ve 96 saatlik inkübasyonundan sonra yapılan analizlerde elde edilen diatom sayılarının grafikleri oluşturulmuştur.

Kumaşlara su ekstraksiyonu uygulandığında inkübasyon sürelerine göre diatom sayılarının grafiği Şekil 4.3'te verilmiştir. İstatistiksel analizde diatom sayıları inkübasyon süresine bağlı olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir ($F=13,17$ ve $p=0,000$). Çoklu karşılaştırma testi 4 saatlik inkübasyon ile 24 saatlik inkübasyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını ($p>0,05$), 96 saatlik inkübasyon ile diğer inkübasyon süreleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir ($p<0,05$) (Şekil 4.3).



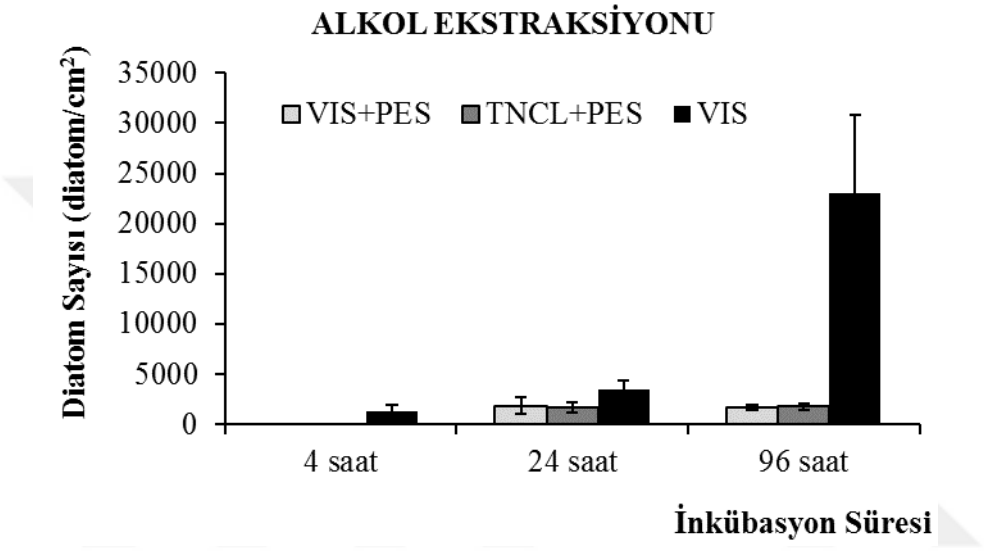
Şekil 4.3. Su ekstraksiyonunda inkübasyon sürelerine göre diatom sayıları (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)

Diatomların kumaşa tutunmasında inkübasyon süresi ile kumaş türü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (F=10,19 ve p=0,000). 4 saatlik inkubasyon sonrası su ekstraksiyonuyla VIS+PES ve TNCL+PES kumaşlarda diatom bulunmazken, VIS kumaşta 3009,26 ± 1181,23 diatom/cm^2 bulunmuştur (Şekil 4.3).

Aynı kumaşlarda 24 saat sonunda diatom varlığı tespit edilmiştir. Su ekstraksiyonu uygulanan VIS+PES kumaşta 1481,48 ± 160,37 diatom/cm^2, TNCL+PES kumaşta 1944,44 ± 481,12 diatom/cm^2 ve VIS kumaşta 3425,92 ± 1529,87 diatom/cm^2 tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

96 saatlik inkübasyonda, su ekstraksiyonu ile özellikle VIS kumaştan elde edilen diatom sayısında büyük bir artış görülmüştür. Diatom sayısının VIS+PES kumaşta 1944,44 ± 277,77 diatom/cm^2, TNCL+PES kumaşta 925,92 ± 160,37 diatom/cm^2 ve VIS kumaşta 18 240,74 ± 7619,08 diatom/cm^2 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3). VIS kumaşın polyester karışımlı kumaşlardan radikal biçimde farklı olduğu tespit edilmiştir. İnkübasyon süresinin diatomların kumaşa tutunma başarısına olumlu etkisi olduğu görülmektedir.

Kumaşlara alkol ekstraksiyonu uygulandığında inkübasyon sürelerine göre diatom sayılarının grafiği Şekil 4.4'te verilmiştir. İstatistiksel analizde diatom sayıları inkübasyon süresine bağlı olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir (F= 24,21 ve p=0,000). 4 saatlik inkübasyon ile 24 saatlik inkübasyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken (p>0,05), 96 saatlik inkübasyon ile diğer inkübasyon süreleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (p<0,05) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Alkol ekstraksiyonunda inkübasyon sürelerine göre diatom sayıları (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)

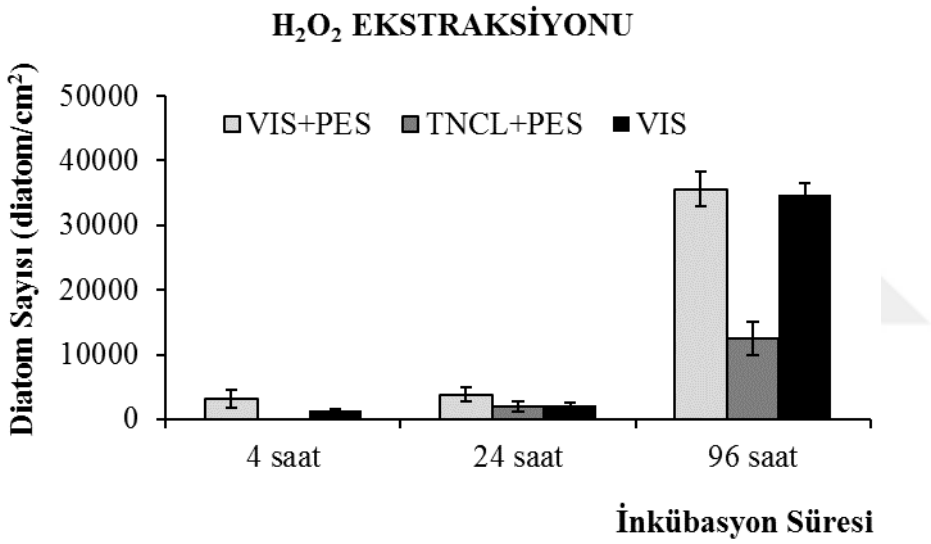
Diatomların kumaşa tutunmasında inkübasyon süresi ile kumaş türü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (F=18,21 ve p=0,000). 4 saatlik inkübasyon sonrası alkol ekstraksiyonuyla VIS+PES ve TNCL+PES kumaşlarda diatom bulunmamıştır. VIS kumaşta ise 1296,29 ± 578,23 diatom/cm^2 bulunmuştur (Şekil 4.4).

Aynı kumaşların 24 saatlik inkübasyonu sonrasında alkol ekstraksiyonuyla diatom varlığı tespit edilmiştir. VIS+PES kumaşta 1851,85 ± 848,62 diatom/cm^2 ve TNCL+PES kumaşta 1666,66 ± 481,12 diatom/cm^2 sayılmıştır. VIS kumaşta diğerlerine göre daha yüksek miktarda 3425,92 ± 892,92 diatom/cm^2 bulunmuştur. (Şekil 4.4).

96 saatlik inkübasyonda alkol ekstraksiyonuyla VIS+PES (1666,66 ± 277,77 diatom/cm^2) ve TNCL+PES (1759,25 ± 320,74 diatom/cm^2) kumaşlarda birbirine yakın

sayıda diatom bulunurken, VIS (22 962,96 ± 7882,88 diatom/cm^2) kumaşta diğerlerine göre çok daha yüksek miktarda diatom bulunmuştur (Şekil 4.4).

Kumaşlara H_2O_2 ekstraksiyonu uygulandığında inkübasyon sürelerine göre diatom sayılarının grafiği Şekil 4.5'te verilmiştir. İstatistiksel analizde diatom sayıları inkübasyon süresine bağlı olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir (F= 824,18 ve p=0,000). Çoklu karşılaştırma testi 4 saatlik inkübasyon ile 24 saatlik inkübasyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını (p>0,05), 96 saatlik inkübasyon süresi ile diğer inkübasyon süreleri arasında ise anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir (p<0,05) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. H_2O_2 ekstraksiyonunda inkübasyon sürelerine göre diatom sayıları (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)

Diatomların kumaşa tutunmasında inkübasyon süresi ile kumaş türü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır (Çift yönlü Anova; F=61,97 ve p=0,000). 4 saatlik inkübasyon sonrası H_2O_2 ekstraksiyonu ile VIS+PES (3148,15 ± 1312,72 diatom/cm^2) ve VIS (1388,89 ± 277,78 diatom/cm^2) kumaşlarda diatom bulunmuş fakat TNCL+PES kumaşta diatom tespit edilememiştir (Şekil 4.5).

24 saatlik inkubasyon sonrası H_2O_2 ekstraksiyonu ile VIS (2129,63 ± 424,31 diatom/cm^2) ve TNCL+PES (1944,44 ± 734,93 diatom/cm^2) kumaşlara göre VIS+PES (3796,29 ± 1122,62 diatom/cm^2) kumaşta daha yüksek sayıda diatom bulunmuştur (Şekil 4.5).

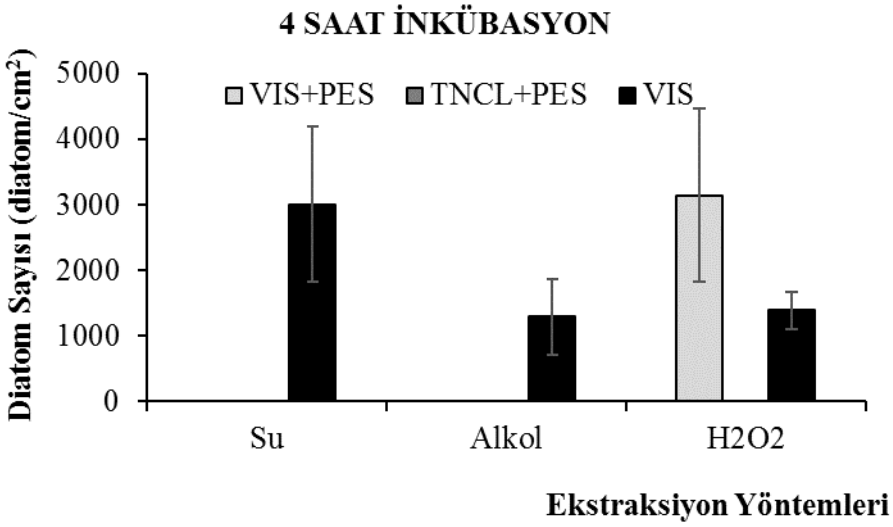
96 saatlik inkübasyon sonrası uygulanan H_2O_2 yöntemi ile VIS+PES (35 555,55 ± 2678,79 diatom/cm^2) ve VIS (34 629,63 ± 1970,72 diatom/cm^2) kumaşlarda en yüksek diatom sayısına ulaşılmıştır. TNCL+PES (12 500,0 ± 2545,87 diatom/cm^2) kumaşta, 96 saatlik inkübasyondan sonra bile daha az diatom sayılmıştır (Şekil 4.5).

Kumaşların su, alkol ve H_2O_2 ekstraksiyonlarından elde edilen diatom sayılarına göre grafikleri oluşturulmuştur. 4 saatlik inkübasyon sonrası ekstraksiyon yöntemlerine göre elde edilen diatom sayılarının grafiği Şekil 4.6'da verilmiştir.

VIS+PES kumaşın 4 saatlik inkübasyonundan sonra, su ve alkol ekstraksiyonları ile diatom tespit edilememiştir (Şekil 4.6). Bu tür kumaş için en verimli yöntemin H_2O_2 (3148,15 ± 1312,72 diatom/cm^2) ekstraksiyon yöntemi olduğu belirlenmiştir.

TNCL+PES tür kumaşın 4 saatlik inkübasyonundan sonra, tüm ekstraksiyon yöntemlerinde diatom elde edilememiştir (Şekil 4.6). Bu polyester karışımlı bu kumaşa diatomların tutunabilirliğinin diğer kumaşlara kıyasla daha az olduğu saptanmıştır.

VIS tür kumaşın 4 saatlik inkübasyonu sonrası en çok diatom, su ekstraksiyonundan (3009,26 ± 1181,23 diatom/cm^2), daha sonra H_2O_2 (1388,89 ± 277,78 diatom/cm^2) ve alkol (1296,29 ± 578,23 diatom/cm^2) ekstraksiyonlarından elde edilmiştir (Şekil 4.6).



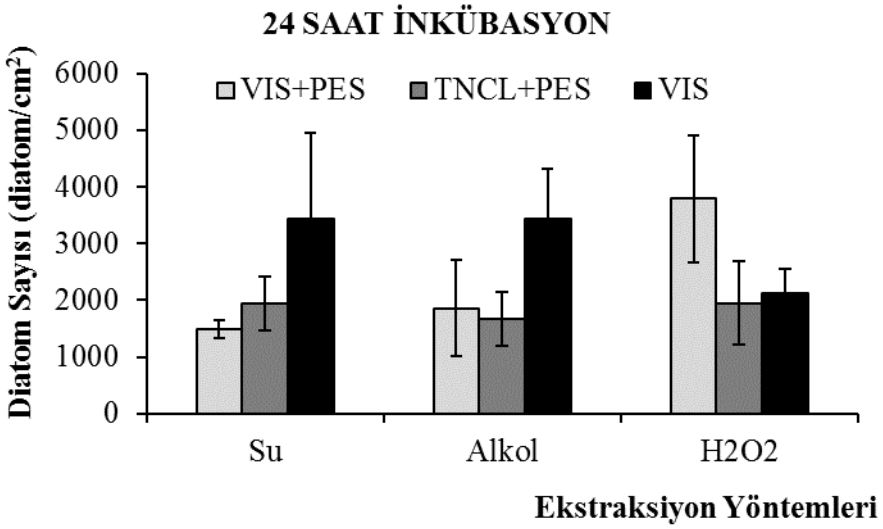
Şekil 4.6. 4 saat inkübasyonda ekstraksiyon yöntemine göre diatom sayısı (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)

24 saatlik inkübasyon sonrası ekstraksiyon yöntemlerine göre elde edilen diatom sayılarının grafiği Şekil 4.7'de verilmiştir.

VIS+PES kumaşın 4 saatlik inkübasyonundan sonra, su (1481,48 ± 160,37 diatom/cm^2) ve alkol (1851,85 ± 848,62 diatom/cm^2) ekstraksiyonlarıyla birbirine yakın sayılarda diatom elde edilmiştir. H_2O_2 ekstraksiyonuyla (3796,29 ± 1122,62 diatom/cm^2) ise maksimum sayıya ulaşılmıştır (Şekil 4.7).

TNCL+PES tür kumaşın 24 saatlik inkübasyonundan sonra tüm yöntemlerde elde edilen diatom sayılarının birbirine yakın olduğu görülmüştür. Bu kumaşın su ekstraksiyonundan 1944,44 ± 481,12 diatom/cm^2, alkol ekstraksiyonundan 1666,66 ± 481,12 diatom/cm^2, H_2O_2 ekstraksiyonundan 1944,44 ± 734,93 diatom/cm^2 tespit edilmiştir (Şekil 4.7).

VIS tür kumaşta 24 saatlik inkübasyon sonrası su (3425,92 ± 1529,87 diatom/cm^2) ve alkol (3425,92 ± 892,92 diatom/cm^2) yöntemiyle birbirine yakın sonuçlar elde edilirken H_2O_2 (2129,63 ± 424,31 diatom/cm^2) yöntemiyle daha az sayıda diatom saptanmıştır (Şekil 4.7).



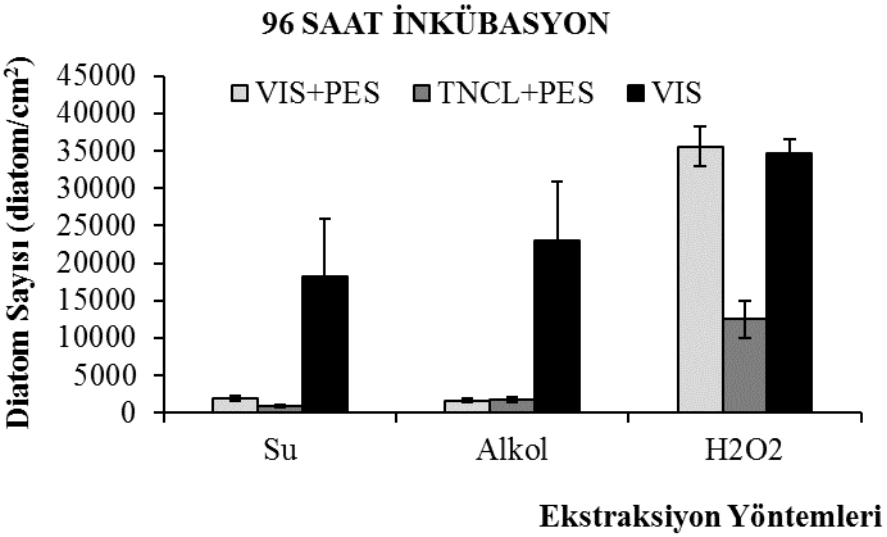
Şekil 4.7. 24 saat inkübasyonda ekstraksiyon yöntemlerine göre diatom sayısı (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)

96 saatlik inkübasyon sonrası ekstraksiyon yöntemlerine göre elde edilen diatom sayılarının grafiği Şekil 4.8'de verilmiştir.

VIS+PES kumaşın 96 saatlik inkübasyonu sonrası, su (1944,44 ± 277,77 diatom/cm^2) ve alkol (1666,66 ± 277,77 diatom/cm^2) ekstraksiyonlarından minimum, H_2O_2 (35 555,55 ± 2678,79 diatom/cm^2) ekstraksiyonundan ise maksimum diatom sayılmıştır (Şekil 4.8).

TNCL+PES tür kumaşın 96 saatlik inkübasyonu sonrası, su (925,92 ± 160,37 diatom/cm^2) ve alkol (1759,25 ± 320,74 diatom/cm^2) ekstraksiyonlarında birbirine yakın sayıda diatom bulunurken, H_2O_2 (12 500,0 ± 2545,87 diatom/cm^2) ekstraksiyonundan daha çok diatom sayılmıştır (Şekil 4.8).

VIS tür kumaşta 96 saatlik inkübasyon sonrası, diğer kumaş türlerine kıyasla daha fazla diatom saptanmıştır. Buna göre su ekstraksiyonu ile 18 240,74 ± 7619,08 diatom/cm^2, alkol ekstraksiyonu ile 22 962,96 ± 7882,88 diatom/cm^2 ve H_2O_2 ekstraksiyonu ile 34 629,63 ± 1970,72 diatom/cm^2 tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. 96 saat inkübasyonda ekstraksiyon yöntemlerine göre diatom sayısı (hata çubukları standart sapmayı göstermektedir)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tez çalışması kapsamında kriminal araştırmalarda kullanılan diatom analizinin etkin ve kısa yoldan yapılabilmesi için daha önce çalışılmamış %87 Viskon + %13 Polyester karışımı, %88 Tensel + %12 Polyester karışımı ve %100 Viskon kumaş kullanılmıştır. Kadın giyiminde yaygın olarak kullanılan bu üç kumaş türü, üç farklı inkübasyon süresi boyunca denizde bekletilmiştir. Daha sonra kumaşlara tutunan diatomların izole edilmesi için üç farklı ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon sonrası örnekler diatom sayısı ve diatom morfolojisi açısından incelenmiş ve elde edilen bulgular diğer çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Scott ve diğerleri (2014) tarafından pamuklu kumaştan diatomların izole edilmesi için su ile durulama, alkolle durulama ve H_2O_2 ile parçalama yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmamızla benzer şekilde kumaşlara uygulanan yöntemlerden H_2O_2 ekstraksiyonunda su ve alkol ile yıkamaya göre daha fazla diatom elde edildiği sonucuna varılmıştır.

Magni ve diğerleri (2020), Avustralya'da dört farklı kumaşa tutunan yerel diatom türlerini izole etmek için farklı ekstraksiyon yöntemlerini karşılaştıran bir çalışma yürütmüştür. Çalışmada etanol ile durulama, santrifüj kuvveti ile etanol ile durulama, hidrojen peroksit ile parçalama ve daha önce hiç test edilmemiş kuru kül etme yöntemi uygulanmıştır. Çalışmada en yüksek diatom sayılarına H_2O_2 ekstraksiyon yöntemi ile ulaşılırken, kuru kül etme yöntemi en başarılı ikinci ekstraksiyon yöntemi olmuştur. Çalışmanın sonuçları, Scott ve diğerlerinin önerdiği gibi en başarılı ekstraksiyon yönteminin H_2O_2 olduğunu doğrulamıştır. Çalışmada, *C. muelleri* içeren suda bekletilmiş kumaşlara etanolle durulama yöntemi uygulandığında pamuklu, kot ve akrilik kumaşlarda diatom bulunmamıştır. Aynı yöntem *Navicula sp.* içeren suda bekletilmiş kumaşlarda uygulandığında pamuklu hariç diğer üç kumaştan diatom izole edilmiştir. Çalışmamızda ise 4 saatlik inkübasyon sonrası alkol ekstraksiyonuyla VIS+PES ve TNCL+PES kumaşlarda diatom bulunamazken VIS kumaştan diatom elde edilmiştir. Magni ve diğerleri (2020) ile çalışmamızın sonuçları karşılaştırıldığında, su

ortamında bulunan diatomların şeklinden, boyutundan ve kumaşın özelliğinden ekstraksiyon yönteminin etkilendiği görülmektedir.

Uitdehaag ve diğerleri (2010) tarafından, pamuklu giysilerden diatomları çıkarmak için suyla durulama, etanolle durulama ve pamuğun nitrik ve sülfürik asitle (DI) çözülmesi yöntemleri kullanılmıştır. Asitle parçalama yönteminin diatom elde etmede diğer iki yönteme göre daha iyi sonuç verdiği ancak yüksek standart sapma gösterdiği rapor edilmiştir. Etanol yöntemi ile daha az sayıda diatom elde edildiği ancak sonuçların da birbiriyle tutarlı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise alkol ile yıkama yönteminden elde edilen diatom sayılarındaki tutarlılık Uitdehaag ve ekibinin çalışmasıyla benzerlik göstermektedir. Sadece VIS kumaşın 96 saatlik inkübasyonunda yüksek standart sapma görülmüştür.

Çalışmamızda *Cocconeis spp*., *Nitschia spp*., *Navicula spp*. ve *Cyclotella sp*. diatom türleri tespit edilmiştir. Bu diatom türleri, Uitdehaag ve diğerlerinin tatlı su deneyinde baskın tür olarak bulunurken, aynı koşullar altında tuzlu su ile yaptıkları deneyde tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar kullanılarak, boğulma vakalarında mağdurun bulunduğu su ortamının boğulma yeri olup olmadığı konusunda yorum yapılabilmektedir.

Scott ve diğerleri (2014) tarafından, kısa süreli (3 dk. ve 30 dk.) inkübasyonlara kıyasla uzun (3 saat ve 24 saat) süreli inkübasyonlarda daha çok diatomun kumaşa tutunduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda da inkübasyon süresi arttıkça kumaşa tutunan diatom sayısında artış bulunmuştur. 4 ve 24 saatlik inkübasyonlara kıyasla 96 saatlik inkübasyon sonrası daha fazla diatom sayılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında su ekstraksiyonu ile VIS kumaşın 4 saatlik inkübasyonundan 3009,26 ± 1181,23 diatom/cm^2, 24 saatlik inkübasyonundan 3425,92 ± 1529,87 diatom/cm^2 ve 96 saatlik inkübasyonundan 18 240,74 ± 7619,08 diatom/cm^2 sayılmıştır. Böylece diatomun kumaşa tutunmasında inkübasyon süresinin önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür.

İncelediğimiz kumaş türlerinden biri olan VIS kumaşa diatomların daha fazla tutunduğu tespit edilmiştir. VIS kumaşın açık ve pürüzlü dokusu, diatomların kumaş yüzeyine

tutunmasını kolaylaştırmıştır. Polyester katkılı diğer iki kumaşta (VIS+PES ve TNCL+PES) diatom sayısındaki artış VIS kumaşa göre daha azdır. Polyesterin parlak, pürüzsüz ve yarı açık dokusu diatomların kumaş yüzeyine tutunmasını zorlaştırmıştır.

Benzer bir çalışmayı Levin ve diğerleri (2017) ayakkabı malzemelerinde kullanılan kanvas, süet, deri, kauçuk ve poliüretan kumaşlar üzerinde yapmıştır. Bu kumaşlar 30 saniye, 3 dk. ve 30 dk. süreyle su örneğinde bekletilmiştir. İnkübasyon süresine bağlı olarak kumaş örneklerinde artan sayıda diatom tespit edilmiştir. Daha pürüzlü kumaş dokusuna sahip kanvas, süet ve deri kumaşlardan daha pürüzsüz dokuya sahip kauçuk ve poliüretan kumaşlara göre daha fazla diatom elde edilmiştir.

Scott ve diğerleri (2019) tarafından, yılın üç farklı zamanında çeşitli kumaş örnekleri tatlı suda bekletilmiş ve kumaşlardan H_2O_2 ekstraksiyon yöntemi kullanılarak diatomlar izole edilmiştir. Akrilik, keten ve viskon gibi orta pürüzlü bir yüzeye sahip kumaşlara tutunan diatomların tür zenginliği ve sayısı daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak yarı açık dokulu ve pürüzsüz yüzeyli naylon ve likra kumaşlara daha az diatom tutunmuştur.

Bu çalışmada, yerel diatomların farklı kumaşlara tutunmasında inkübasyon süresinin etkili olup olmadığı ve sonrasında uygulanan ekstraksiyon işlemlerinin avantaj ve dezavantajları incelenmiştir. Çalışma sonucunda; kumaşın hangi malzemeden olduğuna bağlı olarak ekstraksiyon yönteminden elde edilen sonucun farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Denizel diatomların kumaşa tutunmasında, inkübasyon süresinin etkili olduğu ve en yüksek bağlanmanın 96 saatlik inkübasyonda gerçekleştiği saptanmıştır. Diatomların kumaştan ekstraksiyonunda H_2O_2 yöntemi ile daha fazla sayıda diatom elde edilmiş ve bu yöntemin karşılaştırılan diğer su ve alkol yöntemlerine göre daha kısa sürede sonuçlandığı tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde ilk sıradaki H_2O_2 yöntemini su ile yıkama yöntemi izlemiştir. Yapılacak ekstraksiyon yöntemi seçilirken kumaş dokusunun bozulabileceği göz önüne alındığında H_2O_2 yöntemi ile daha çok diatom elde edilecektir. Ancak kumaş yapısının bozulmadan kalması ve başka analizler için kullanılması gereken durumlarda su ekstraksiyonunun kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Alper, B., Azmak, D., Çekin, N., Gülmen, M.K., Koç, S. ve Salaçin, S. (1999). Adli Tıp: Adli Otopsiler Ve Adli Patoloji. Erişim adresi: https://www.ttb.org.tr/eweb/adli/3.html

Arslan, M.M., Kar, H., Akcan, R., ve Çekin, N. (2005). Suda Boğulma Tanısında Kullanılan Yöntemlerin İrdelenmesi. Adli Tıp Bülteni, 10(1), 29-34. http://doi.org/10.17986/blm.2005101574

Battarbee, R.W., Jones, V.J., Flower, R.J., Cameron, N.G., Bennion, H., Carvalho, L. ve Juggins, S. (2001). "Diatoms", In Smol, J.P; Birks, H.J.B. (ed.), Tracking Environmnetal Change Using Lake Sediments. Volume 3. Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 155-202.

Blanco, S. (2020). Diatom Taxonomy and Identification Keys. In: Cristóbal, G., Blanco, S., Bueno, G. (eds) Modern Trends in Diatom Identification. Developments in Applied Phycology, vol 10. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39212-3_3

Bogusz, I., Bogusz, M. ve Żelazna-Wieczorek, J. (2018). Use of diatoms in forensics. Issues Of Forensıc Scıence, 301(3). https://doi.org/10.34836/pk.2018.301.3

Bogusz, I., Bogusz, M. ve Żelazna-Wieczorek, J. (2022). Diatoms from inland aquatic and soil habitats as indestructible and nonremovable forensic environmental evidence. Journal of Forensic Sciences, 1–15. https://doi.org/10.1111/1556-4029.15017

Bull, P.A., Morgan, R.M., Sagovsky, A. ve Hughes, G.J.A. (2006). The transfer and persistence of trace particulates: experimental studies using clothing fabrics, Sci. Justice 46, 185–195. https://doi.org/10.1016/S1355-0306(06)71592-1

Büken, B., Üner, B., Çetinkaya, Ü., Çağdır, A.S. ve Kırangil, Ş.B. (2001) Adli tıp'da taramalı elektron mikroskobu (sem) uygulamaları.Adli Tıp Bülteni. 6(1), 23-31.

Cameron, N. G. (2004). "The use of diatom analysis in forensic geoscience." In Forensic Geoscience: Principles, Techniques and Applications, edited by K. Pye and D. J. Croft, Geological Society, London, Special Publications, 232, 277–280. https://doi.org/10.1144/GSL.SP.2004.232.01.25

Cameron, N. ve Peabody, A. (2010). Forensic science and diatoms, (J. Stoermer, E. Smol Eds.), The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 534–539.

Casamatta, D. A. ve R. G. Verb. (2000). "Algal colonization of submerged carcasses in a mid-order woodland stream." Journal of Forensic Sciences, 45(6), 1280–1285. https://doi.org/10.1520/jfs14880j

Cox, E.J. (2012). Diatoms and forensic science, (N. Márquez-Grant, J. Roberts Eds.), Forensic Ecology Handbook: From Crime Scene to Court, JohnWiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 141–151.

Erdem, A.K. The Independentturkish, (2021, July 26). Dünyada her yıl ortalama 372 bin, Türkiye'de 900 kişi suda boğularak ölüyor... Türkiye'de boğulma olayları açısından en riskli noktalar hangileri?. Erişim adresi: https://www.indyturk.com/node/391036/haber/d%C3%BCnyada-her-y%C4%B1l-ortalama-372-bin-t%C3%BCrkiyede-900-ki%C5%9Fi-suda-bo%C4%9Fularak-%C3%B6l%C3%BCyor

Falciatore, A. ve Bowler, C. (2002). "Revealing the molecular secrets of marine diatoms," Annual Review of Plant Biology, 53, 109-130. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.091701.153921

Friedrichs, L., Maier, M. ve Hamm, C. (2012). A new method for exact three-dimensional reconstructions of diatom frustules. J. Microsc. 248, 208–217.

Gautam, B. (2015). Review of Forensic Medicine and Toxicology (Including Clinical & Pathological Aspects). Chapter-10 Asphyxia (3rd ed.). Jaypeedigital Explore Health Science. https://doi.org/10.5005/jp/books/12589

Group, F.R. Author. (2021, November 16). Forensic Analysis of Diatoms in Drowning: Extraction and Procedure. ForensicReader.com, https://forensicreader.com/forensic-analysis-of-diatoms/ adresinden erişildi.

Hardy, C.R. ve Wallace, J.R. (2012). "Algae in forensic investigations." In Forensic Botany: A Practical Guide, edited by D. W. Hall and J. H. Byrd, 145–173. Oxford: Wiley-Blackman. https://doi.org/10.1002/9781119945734.ch9

Hofmann, E. (1878). Lehrbuch der GerichtlichenMedicin ("Textbook of Legal Medicine"). 629.

Horton, B.P., Boreham, S. ve Hillier, C. (2006). The development and application of a diatombased quantitative reconstruction technique in forensic science, J. Forensic Sci. 51 (3), 643–650. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00120.x

Hurlimann, J., Feer, P., Elber, F., Niederberger, K., Dirnhofer, R. ve Wyler, D. (2000). Diatom detection in the diagnosis of death by drowning. Int J Legal Med 114(1-2), 6-14. https://doi.org/10.1007/s004149900122

Incze, G. (1942). Fremdkorper in Blutkreislauf Ertrunkener. Zentralbl Allg Pathol Anat 79, 176.

Kakizaki, E., Kozawa, S., Matsuda, H., Muraoka, E., Uchiyama, T., Sakai, M. ve Yukawa, N. (2010). Freshwater bacterioplankton cultured fromliver, kidney and lungs of a decomposed cadaver retrieved from a sandy seashore: possibility of drowning in a river and then floating out to sea, Legal Medicine, 12 (4), 195–199.

Kale, A. ve Karthick, B. (2015). The diatoms: Big significance of tiny glass houses. Resonance, 20: 919-930.

Krstic, S., Duma, A., Janevska, B., Levkov, Z., Nikolova, K. ve Noveska, M. (2002). Diatom in Forensic expertise of Drowning. A Macedonian Experience. Forensic Science International 127(3), 198-203. https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00125-1

Kumral, B., Büyük, Y., Fidancı, G., Özbay, M., Melez, D.O., Cun, E. ve Cenger, D.E. (2011). İstanbul'da Otopsisi Yapılmış Suda Boğulma Sonucu Ölüm Olgularında Diatom Varlığının Değerlendirilmesi. Adli Tıp Dergisi, 25(1), 33-40.

LeGresley, M. ve McDermott, G. (2010). "Counting Chamber Methods - Haemocytometer, Palmer-Maloney Cell and Sedgewick-Rafter Cell," In: Karlson, B., Cusack, C. ve Bresnan, E. Eds. Microscopic and Molecular Methods For Quantitative Phytoplankton Analysis (s. 25-30). IOC Manuals and Guides No. 55, UNESCO, Paris.

Levin, E.A., Morgan, R.M., Scott, K.R. ve Jones, V.J. (2017). The transfer of diatoms from freshwater to footwear materials: An experimental study assessing transfer, persistence, and extraction methods for forensic reconstruction. Science and Justice 57, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.scijus.2017.05.005

Ludes, B., Coste, M., North, N., Doray, S., Tracqui, A. ve Kintz, P. (1999). Diatom analysis in victim's tissues as an indicator of the site drowning. International journal Legal Med 112(3), 163-166. https://doi.org/10.1007/s004140050224

Magni, P.A., Pacini, T., Pazzi, M., Vincenti, M., Dadour, I. ve Falasco, E. (2015). Alibi Verification Using Diatoms. A Presentation before the 67th Annual Scientific Meeting of the American Academy of Forensic Sciences (Advance Program), February 16-21, Orlando, Florida.

Magni, P.A., Mohan, M., Vadiveloo, A. ve Moheimani, N.R. (2020). Transferability of Australian diatoms to clothing: Assessment of several extraction methods on different fabric types under laboratory conditions, Forensic Science International, 312. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110297

Mann, D.G. ve Vanormelingen, P. (2013). An Inordinate Fondness? The Number, Distributions, and Origins of Diatom Species, Eukaryotic Microbiology. 60(4), 414-20. https://doi.org/10.1111/jeu.12047

Mishra, S., Gupta, A.K., Mishra, M.K. ve Mishra, V. (2016). Study on Variation of Diatoms Flora in Gomati River at Jaunpur for Forensic Consideration, IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS),11(4), 59-62. http://doi.org/10.9790/3008-1104015962

Parmar, P., Rathod, G.B., Rathod, S. ve Parikh, A. (2014). Nature helps to solve the crimes-Diatoms study in case of drowning death, International archives of Integrated medicine 1(3), 58-65.

Pollanen, M.S. (1998). Forensic Diatomology and Drowning. Elsevier.

Porawski, R. (1966). Investigation of occurrence of diatoms in organs in death from various causes. Journal of Forensic Medicine, 13(4), 134-137.

Rana, A. ve Manhas, S. (2018). Significance of Diatoms in Diagnosis of Drowning Deaths: A Review Peer Reviewed Journal of Forensic & Genetic Sciences 1(5). http://doi.org/10.32474/PRJFGS.2018.01.000121

Rolón Brunetti, A.F. (2018). Forensic Limnology: Current Relevance and Future Outlook: [Master's Thesis, University of Amsterdam].

Round, F.E., Crawford, R.M. ve Mann, D.G. (1990). Biology of diatoms. In: Round FE, Crawford RM, Mann DG (eds) Diatoms: Biology and Morphology of the Genera. Cambridge University Press, Cambridge, 1–130.

Saini, E., Khanagwal, P. ve Singh, R. (2017). A systematic databasing of diatoms different geopraphical localities and sites of Haryana for advancing validation of forensic diatomology (Haryana, India), Data in Brief, 10, 63-68. https://doi.org/10.1016/j.dib.2016.11.072

Sankhla, M.S., Kumari, M., Nanadan, M. ve Kumar, R. (2016). Forensic identification of drowning death by the use of diatom analysis, International Journal of Developmental Research 6(9), 9491-9493.

Sarın, A.B. (2020). Antalya'da 2009-2018 Yılları Arasındaki Suda Boğulma Olgularının Adli Tıp Açısından Değerlendirilmesi [Uzmanlık Tezi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı].

Scott, K.R., Morgan, R.M., Jones, V.J., Cameron, N.G. (2014). The transferability of diatoms to clothing and the methods appropriate for their collection and analysis in forensic geoscience (London, UK), Forensic Science International, 241, 127-137. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.05.011

Scott, K.R., Morgan, R.M., Cameron, N.G., Jones, V.J. (2019). Freshwater diatom transfer to clothing: Spatial and temporal influences on trace evidence in forensic

reconstructions, Science & Justice, 59(3), 292-305. https://doi.org/10.1016/j.scijus.2018.11.004
Singh, M., Kulshrestha, P. ve Satpathy, D.K. (2004). Synchronous use of maggots and diatoms in decomposed bodies. Journal of Indian academy of Forensic Medicine 26(3), 121- 124.
Singh, R., Kumar, S. ve Thakar, M.K. (2006). Forensic analysis of diatoms-A review. Anil Aggarwal Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology, 7(2). https://www.anilaggrawal.com/ij/vol_007_no_002/papers/paper002.html
Sitthiwong, N., Ruangyuttikarn, W., Vongvivach, S. ve Peerapornpisal, Y. (2014). Detection and identification of diatoms in tissue samples of drowning victims. Chiang Mai Journal Of Science, 41(5), 1020-1031.
Siver, P.A., Lord W.D. ve McCarthy, D.J. (1994). Forensic Limnology: the use of freshwater algal community ecology to link suspects to an aquatic crime scene in southern New England, Journal of Forensic Sciences, 39 (3), 847–853.
Spaulding et al. (2021). Diatoms.org: supporting taxonomists, connecting communities. Diatom Research 36(4): 291-304. doi:10.1080/0269249X.2021.2006790
Thakar, M.K. ve Singh, R. (2010). Diatomological mapping of water bodies for the diagnosis of drowning cases, J. Forensic Legal Med. 17 (1), 18–25. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2009.07.016
Tamasaka, L. (1949). Diatom Content of Bone Marrow in Corpses in water Orv Hetil 16, 509-511.
Timperman, J. (1972). The diagnosis of drowning-a review. Journal of Forensic Science, 1(4), 397-409. https://doi.org/10.1016/0300-9432(72)90015-5
Türkoğlu, A., Tokdemir, M., Börk, T., Tunçez, F. T., Yaprak, B., ve Şen, M. (2014). Elazığ'da 2005-2012 Yılları Arasında Meydana Gelen Suda Boğulma Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi. Fırat Tıp Dergisi, 19(3), 145-150.
Uitdehaag, S., Dragutinovic A. ve Kuiper, I. (15 July 2010). Extraction of diatoms from (cotton) clothing for forensic comparisons. Forensic Science International, Volume 200, Issues 1–3, 112-116. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.03.039
Vanormelingen, P., Verleyen, E. ve Vyverman, W. (2008). The diversity and distribution of diatoms: from cosmopolitanism to narrow endemism. Biodivers Conserv 17,393–405. https://doi.org/10.1007/s10531-007-9257-4
Verma, K. (2013). Role of diatoms in the world of forensic science, Journal of Forensic Research 4 (2). http://doi.org/10.4172/2157-7145.1000181
Williams, D.M. ve Kociolek, J.P. (2017). Historical biography of diatoms in Australasia: A preliminary assessment. In: Ebach MC (Eds); Handbook of Australasian Biogeography. CRC press, Boca Raton, 17-46.
World Health Organization, (2021, April 27). Drowning. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drowning
Yadav, G., Mishra, K., Gupta, K. ve Shailesh. (2013). Identification of Site Specific Diatom at Yamuna River of Allahabad, IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS), 8 (2), 87-89.
Yorulmaz, C. (1999). Suda boğulma Adli Tıp, Cilt 1. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları; 405-457.
Yorulmaz, C. ve Çakalır, C. (1999). Suda Boğulma. İçinde: Soysal Z, Çakalır C. (Ed.) Adli Tıp Cilt I, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Rektörlük No: 4165, Fakülte No: 224, İstanbul, 459-74.

Yoshimura, S., M. Yoshida, Y. Okii, T. Tokiyasu, T. Watabiki ve A. Akane. (1995). "Detection of green algae (Chlorophyceae) for the diagnosis of drowning." International Journal of Legal Medicine 108(1), 39–42. https://doi.org/10.1007/BF01845616