

**ULTRASOUND ORTAMINDA**  
*Esherichia coli*  
**DEZENFEKSİYONUNA**  
**SİSTEM PARAMETRELERİNİN ETKİSİ**

Seda HERGÜNVARIM  
Yüksek Lisans Tezi

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı  
Haziran 2013

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Seda Hergünvarım'ın "Ultrasound Ortamında *Esheria coli* Dezenfeksiyonuna Sistem Parametrelerinin Etkisi" başlıklı Çevre Mühendisliği Anabilim Dalındaki Yüksek Lisans Tezi 11/06/2013 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) :Prof. Dr. A. SAVAŞ KOPARAL

Üye :Prof. Dr. AYDIN DOĞAN

Üye :Yrd. Doç. Dr. FİLİZ B. KAREL

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri ve Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



## ÖZET

**Yüksek Lisans Tezi**

**ULTRASOUND ORTAMINDA**

*Escherichia coli*

**DEZENFEKSİYONUNA**

**SİSTEM PARAMETRELERİNİN ETKİSİ**

**Seda HERGÜNVARIM**

**Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. A. Savaş KOPARAL  
2013, 59 sayfa**

Su kaynaklarının azalması ve özellikle patojen mikroorganizmalarla kirlenmesi nedeniyle bir dezenfeksiyon işlemi uygulanması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Dezenfeksiyon amaçlı kullanılan klorun organik bileşikler ile tepkimesi sonucu oluşan dezenfeksiyon yan ürünlerinin ciddi sağlık etkileri olduğundan alternatif dezenfeksiyon yöntemlerinin kullanılması gündeme gelmiştir. Alternatif dezenfeksiyon yöntemlerin birisi de ultrasound ile dezenfeksiyondur. Bu çalışmada ultrasonik reaktörde, önemli sağlık sorunlarına sebep olan fekal kontaminasyon etmeni *Escherichia coli* giderimi ile dezenfeksiyon gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince ultrasonik sistemde farklı frekanslar ile çalışmalar yapılmış, çeşitli ortam iyonlarının ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ve sisteme ilave edilen farklı derişimlerdeki hidrojen peroksit ve farklı akış hızlarındaki azot gazının sistemin çalışmasında yarattığı etkiler incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Dezenfeksiyon, *Escherichia coli*, ortam iyonları

## ABSTRACT

### Master Thesis

# THE EFFECT OF SYSTEM PARAMETERS ON DISINFECTION OF *Escherichia coli* IN ULTRASONIC MEDIA

Seda HERGÜNVARIM

Anadolu University

Graduate School of Sciences

Environmental Engineering Program

Supervisor: Prof. A. Savaş KOPARAL

2013, 59 pages

As the water resources diminish and water contaminated with pathogen microorganisms is very hard to use again due to the fact that there is an essential need to do an adequate disinfection for these waters. Chlorine that is used as disinfection is known to create some unwanted chlorinated organic co-products are caused side effect. The problems in this traditional disinfection methods necessitate the new alternative methods in disinfection. One of these alternative method is the ultrasound disinfection. In this study, the effects of different frequencies for inactivation of *Escherichia coli* were investigated. Optimum microorganism inactivation was observed at 28kHz of frequency.  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ions which found in system, hydrogen peroxide and nitrogen (gas) which was added to the system for microorganism inactivation were studied.

**Key words:** Disinfection, *Escherichia coli*, Media ion

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımın baőlangıcından itibaren her konuda desteğini, hoőgörösünü ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. A.Savaş KOPARAL'a,

Çalıőmalarım sırasında ilgi ve destekleriyle yanımda olan hocalarım Yrd. Doç. Dr. Filiz Bayrakçı Karel ve Öğr. Gör. E. Esra Gerek'e,

Hiçbir yardım çağrımı cevapsız bırakmayan sevgili arkadaşlarım Ümit Yılmaz Yıldız, Erem Öztürkcan, Fadime Karaer 'e,

Bugüne kadar her durumda sevgileri ve her türlü destekleri ile yanımda olan sevgili aileme,

en içten teşekkürlerimi sunarım.

Seda Hergünvarım

Haziran 2013

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. SU KİRLİLİĞİ</b>	<b>3</b>
2.1. Su Kirliliği ve Kontrolü ile İlgili Yasal Düzenlemeler .....	5
<b>3. SULARDA BULUNABİLECEK MİKROORGANİZMALAR</b>	<b>6</b>
3.1. Sularla İlişkili Hastalıklar.....	8
3.2.Mikroorganizmalar .....	11
3.2.1. İndikatör Mikroorganizmalar.....	12
3.2.2. Escherichia Coli .....	12
3.2.3. E.coli'nin Neden Olduğu Hastalıklar .....	14
<b>4. DEZENFEKSİYON</b>	<b>16</b>
4.1. Dezenfeksiyon Yöntemleri.....	18
4.1.1.Ultrasound ile dezenfeksiyon.....	18
4.1.2. Metal iyonları ile dezenfeksiyon.....	19
4.1.3. Kloraminler ve Klor ile dezenfeksiyon.....	20
4.1.4. Ozon ile dezenfeksiyon.....	22
4.1.5. Elektrokimyasal dezenfeksiyon .....	23
4.1.6. UV ile dezenfeksiyon.....	24
<b>5. ULTRASOUND İLE DEZENFEKSİYON MEKANİZMASI</b>	<b>27</b>

5.1. Ultrasound ile mikrobiyal inaktivasyon .....	28
5.2. Ultrasound ile inaktivasyonu etkileyen faktörler .....	29
<b>6. BAKTERİYOLOJİK ÇALIŞMALAR</b>	<b>32</b>
6.1. Mikrobiyolojik Örnek Alma ve Kültür Yapma .....	32
6.1.1. Örnek alma ve alınan örneğin inokülasyona hazırlanması .....	33
6.1.2. Aktarma Teknikleri ve İnokülasyon .....	34
6.1.3. İnkübasyon.....	35
6.2.Suda Mikrobiyolojik Sayım Yöntemleri .....	35
6.2.1.Kültürel Sayım Yöntemi.....	37
6.2.2.Dolaylı Sayım Yöntemleri .....	38
<b>7. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEDEDEN YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR</b>	<b>40</b>
<b>8. DENEYSEL ÇALIŞMALAR</b>	<b>43</b>
8.1. Deney Düzenegi .....	43
8.2. Farklı Ultrasonik Frekans Değerlerinin Etkisinin İncelenmesi .....	44
8.3. Suda Eşlik Eden Çeşitli Ortam İyonlarının Etkisinin İncelenmesi .....	44
8.4.Ultrasonik Ortama İlave edilen Azot Gazının Etkisinin İncelenmesi .....	44
8.5. Hidrojen Peroksitin Ultrasonik Ortamdaki Etkisinin İncelenmesi.....	45
8.6. Ortam İyonları, Hidrojen Peroksit ve Azot Gazı Varlığının Ultrasonik Ortamdaki Etkilerinin İncelenmesi.....	45
<b>9. DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI</b>	<b>46</b>
9.1. Farklı Ultrasonik Frekans Değerlerinin Etkisinin İncelenmesi .....	46
9.2. Suda Eşlik Eden Çeşitli Ortam İyonlarının Etkisinin İncelenmesi .....	47
9.3.Ultrasonik Ortama İlave edilen Azot Gazının Etkisinin İncelenmesi .....	49
9.4. Hidrojen Peroksitin Ultrasonik Ortamdaki Etkisinin İncelenmesi.....	50
9.5. Ortam İyonları, Hidrojen Peroksit ve Azot Gazı Varlığının Ultrasonik Ortamdaki Etkilerinin İncelenmesi.....	51

<b>10. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ</b>	<b>52</b>
<b>11. ÖNERİLER ve TARTIŞMALAR</b>	<b>53</b>
<b>12. KAYNAKLAR</b>	<b>54</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

3.1. a) <i>Alcanigenes sp.</i> , b) <i>Bacillus sp.</i> , c) <i>Opercularia coarctata</i> , d) <i>Pseudomonas sp.</i> , e) <i>Vorticella convellaria</i> , f) <i>Rotifer</i> .....	7
6.1. Kültür elde etme aşamaları.....	32
8.1. Ultrasonik reaktör.....	43
9.1. $1 \times 10^5$ cfu/mL başlangıç bakteri derişiminde farklı ultrasonik frekansların etkisi.....	46
9.2. (1) Ultrasonik reaktör çalıştırılmadan önceki mikroorganizma sayısı, (2) 20 dakika çalıştırılması sonrası mikroorganizma sayısı, (3) 60 dakika çalıştırılması sonrası mikroorganizma sayısı.....	46
9.3. Farklı derişimlerdeki $\text{HCO}_3^-$ iyonunun ultrasonik sisteme etkisi .....	47
9.4. Farklı derişimlerdeki $\text{SO}_4^{-2}$ iyonlarının ultrasonik sisteme etkisi .....	47
9.5. Farklı derişimlerdeki $\text{NO}_3^-$ iyonlarının ultrasonik sisteme etkisi.....	48
9.6. $\text{NO}_3^-$ , $\text{SO}_4^{-2}$ , $\text{HCO}_3^-$ iyonlarının birlikte ultrasonik sisteme etkisi.....	48
9.7. 28 kHz'de farklı akış hızlarındaki azot gazının etkisi.....	49
9.8. (1) Azot gazı ilavesi öncesi mikroorganizma sayısı, (2) 20 dakika sonunda mikroorganizma sayısı, (3) 60 dakika sonunda mikroorganizma sayısı.....	49
9.9. . 5 mg/L hidrojen peroksitin 28 kHz ultrasonik ortamda ve yalnız başına etkisi.....	50
9.10. 10 mg/L hidrojen peroksitin 28 kHz ultrasonik ortamda ve yalnız başına etkisi.....	50
9.11. 20 mg/L hidrojen peroksitin 28 kHz ultrasonik ortamda ve yalnız başına etkisi.....	51
9.12. 200 mg/L $\text{SO}_4^{-2}$ , 50 mg/L $\text{HCO}_3^-$ , 50 mg/L $\text{NO}_3^-$ , 10 mg/L $\text{H}_2\text{O}_2$ ve 16 L/h $\text{N}_2$ gazının sisteme etkisi.....	51

## ÇİZELGELER DİZİNİ

3. 1. Su kaynaklı hastalık yapıcılar ve özellikleri (WHO, 2008).....	10
6. 1. Su dezenfeksiyon proseslerinde kullanılan farklı ultrasound çalışmaları.....	42

## 1.GİRİŞ

İnsanların yaşamlarını sağlıklı bir biçimde sürdürebilmelerinde içinde buldukları çevrenin önemi büyüktür. İnsan dışındaki her şey olarak tanımlanan çevrenin, çok sayıda ve farklı türler içeren hastalık yapıcı mikroorganizmalardan arındırılması gerekmektedir. Mikroorganizma miktarının belli oranın üzerine çıktığı durumlarda kişisel ve çevresel özelliklere bağlı olarak değişik şiddetler de bulaşıcı hastalıklara hatta salgınlara yol açtığı bilinmektedir. Örneğin içme sularının kullanılabilir kalitede olabilmesi için öncelikle *Escherichia coli* olmak üzere patojen mikroorganizmaların olmadığı tespit edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, yaşadığımız mekanların, çalıştığımız ortamların ve kullandığımız ürünlerin, mikroorganizmalardan arındırılması günlük yaşamımızda giderek önem kazanmaktadır.

İnsan ve hayvan dışkılarının içerdiği fekal kontaminasyon etmenlerinin ve diğer mikroorganizmaların su kirliliğine sebep olduğu ve sağlık riski oluşturdukları bilinmektedir. Bu sağlık risklerini önlemek ve sağlıklı içme ve kullanma suyu eldesi için, sularda farklı arıtma yöntemleri uygulanmaktadır. Bu arıtma yöntemlerinden başlıcaları havalandırma, klasik koagülasyon, flokülasyon, çökeltme, filtrasyon, dezenfeksiyon ve ileri dezenfeksiyondur. Arıtma yöntemlerinin son ve en önemli basamağı olan dezenfeksiyonda asıl amaç sudaki zararlı mikroorganizmaları uzaklaştırmak, yok etmek, etkisiz hale getirmek veya sayı olarak zararsız düzeye indirgenmesi işlemleridir.

Dezenfeksiyon işleminde kalıcı etki sağlaması ve maliyetinin diğer dezenfektanlara oranla daha uygun olması nedeniyle en çok klor tercih edilmektedir. Klora alternatif olarak kullanılan dezenfektanlar ise; potasyum permanganat, hidrojen peroksit, perasetik asit, formaldehit gibi kimyasallardır. Ayrıca alternatif dezenfeksiyon yöntemleri arasında UV (ultraviyole radyasyonu), ozon, ısı, ters ozmos, ultrafiltrasyon, iyonizasyon ve ultrasonik sistemler yer almaktadır.

Dağıtım şebekelerinde bakiye klor bırakması sebebiyle günümüzde de kullanımı devam eden klorun bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bu önemli dezavantaj olan dezenfeksiyon yan ürünleri (DYÜ), klorun organik bileşikler ile tepkimeye girmesi sonucunda oluşur. Bunların başında haloasetik asitler (HAA)

ve trihalometanlar (THM) gelmektedir. İçme suyunda en sık rastlanan THM bileşiği ise toplam kloroform (TTHM) formudur.

Dezenfeksiyon amaçlı kullanılan klor ve klorun organik bileşikler ile tepkimesi sonucu oluşan dezenfeksiyon yan ürünlerinin, kanser meydana getirme riski, karaciğer, böbrek ve sinir sistemi hastalıklarına yol açması, çocuklarda gelişme geriliği, kalp rahatsızlıkları gibi ciddi sağlık etkileri yarattığı gözlenmiştir. Ayrıca klorun, akut ve kronik etkileri de yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular arasındadır.

Klora alternatif olarak kullanılan bir başka kuvvetli dezenfektan ise ozondur. Ozonun avantajı düşük konsantrasyonlarda bile kuvvetli bir dezenfektan olması ve klorlu organik bileşiklerin oluşumuna yol açmamasıdır. Ancak yüksek maliyetlidir ve kalıntı bırakmadığından arıtılan suya dağıtım sistemine verilmeden önce kalıcı bir dezenfektan katılması gerekir.

Bir diğer dezenfeksiyon yöntemi olan ultraviyole ışınları ise, herhangi bir katı madde içeriği bulunmayan berrak ve renksiz sulara uygulanmaktadır. Bulanıklık yaratan katı maddeler UV radyasyonunun mikroorganizmaya ulaşmasında bir engel teşkil ettiğinden, sulara UV ile dezenfeksiyon işleminin kullanımını sınırlandırmaktadır.

Günümüzde kullanılan dezenfeksiyon yöntemlerinin bazı riskleri ve eksiklikleri bulunduğundan birçok yöntemin beraber çalıştırılması ve dezavantajların en aza indirilmesi üzerinde durulmaktadır. Bu nedenle birçok dezenfeksiyon yöntemi birbirlerinin açıklarını kapatacak şekilde kombine çalıştırılarak daha güvenli hibrit sistemler elde edilmeye başlanmıştır.

Yüksek lisans tezi kapsamında gerçekleştirilen bu çalışmada, ileri dezenfeksiyon yöntemleri arasında sayılan ultrasonik reaktörde, önemli sağlık sorunlarına sebep olan, su ortamında bulunabilecek önemli indikatör mikroorganizmalardan biri olan fekal kontaminasyon etmeni olan *Escherichia coli* giderimi ile su arıtımı gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma süresinde ultrasonik sistemde farklı frekanslar ile çalışmalar yapılmış, çeşitli ortam iyonlarının ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ), sisteme ilave edilen farklı derişimlerdeki hidrojen peroksit ve farklı akış hızlarındaki azot gazının sistemin çalışmasında yarattığı etkiler incelenmiştir.

## 2.SU KİRLİLİĞİ

Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği'nde su kirliliği, "Su kaynağının kimyasal, fiziksel, bakteriyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yoldan biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, balıkçılıkta, su kalitesinde ve suyun diğer amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde veya enerji atıklarının boşaltılması" olarak tanımlanır (Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, 2004).

Dünya su rezervleri ile ilgili yapılan çalışmaya göre dünya, kaliteli su kaynakları açısından oldukça fakir bir görünüm sergilemektedir. Dünyada toplam 1.4 milyar metreküp su bulunmakta, ancak bu suyun %98'i okyanus ve denizlerdeki tuzlu sudan oluşurken, temiz suyun önemli bir kısmı kutuplarda ancak %1'i göl, nehir ve ulaşılabilir akiferlerde bulunmaktadır (Türkman ve ark., 1999).

Dünya üzerindeki nüfusun yaklaşık % 20'si güvenilir olmayan içme suyu kullanmakta, yılda 200 milyon civarında insan su ile bağlantılı hastalıklara yakalanmakta ve 2 milyondan fazla insan kirli suların kaynaklanan hastalıklar nedeniyle yaşamını yitirmektedir. Yeryüzündeki tüm hastalıkların yarısına yakını sularla ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde atık suların ancak %5'inin arıtılabilmesi, endüstriyel ve evsel atıkların çevreye denetimsiz bir şekilde verilmesi de ayrı bir sorundur (Irmak, 2008).

Suyun doğada sürekli dönüşümü ile sonsuz bir kaynak olduğu düşünülmektedir. Ancak dünya üzerinde içme suyu kaynakları gün geçtikçe azalmakta ve sağlıklı içme suyu temini de gitgide zorlaşmaktadır. Gelişen ve sayıları hızla artan endüstriyel tesisler, hızlı kentleşme, çarpık yapılaşmanın bir sonucu olan çevre kirliliği beraberinde su kaynaklarını da kullanılamaz hale getirmiştir. Türkiye'nin su zengini bir ülke olmayışı göz önüne alındığında, su kaynaklarının korunması için gerekli önlemlerin devlet ve vatandaşlarca alınması gerekmektedir.

Su kirliliği oluştuğu bileşenlerine göre birkaç grupta incelenmektedir. Halk sağlığı açısından en önemli kirlenme şekillerinden biri olarak sayılan mikrobiyolojik kirlenme, alıcı ortama atılan ve akıtılan atıkların içinde patojenik

mikroorganizmaların bulunmasından kaynaklanmaktadır. Alıcı ortamda mikrobiyolojik kirlenmeyi oluşturan patojenik mikroorganizmaların türünü ayrı ayrı belirlemek pratik açıdan çok zordur. Bu nedenle mikrobiyolojik kirlenmenin belirlenmesi indikatör olarak adlandırılan belli mikroorganizmaların yardımıyla yapılmakta, bu iş için ise genel olarak koliform bakteri grubu kullanılmaktadır (Kocasoy, 1991).

Organik kirlenme ise alıcı ortamdaki organik madde derişiminin artmasından kaynaklanmaktadır. Su içerisindeki organik bileşikler; bitki ve hayvan artıklarının doğal bozunmasından, endüstriyel, kentsel ve zirai kirlenmeden ve atık su arıtımı sırasında doğal organik maddelerle halojenürlerin tepkimelerinden ileri gelir (Montgomery, 1985). Alıcı ortamın kirlenmesi ile ilgili çalışmalarda genellikle kirliliğe neden olan organik kirleticiler ayrı ayrı belirlenmektedir. Bunun yerine, bu kirleticilerin etkilerinin dolaylı bir yoldan verebilen Biyolojik Oksijen İstemi (BOİ), Kimyasal Oksijen İstemi (KOİ) gibi bazı parametreler kullanılmaktadır (Kocasoy, 1991).

Böylece alıcı ortama atılan organik kirleticilerin fazla olması, sadece ortamın ekolojik dengesini bozmakla kalmayıp, hoş olmayan kokulara, ayrıca oksijen değerinin 4 mg/L'nin altına düşmesi de birçok balık türünün yok olmasına neden olur (Kocasoy, 1991).

İnorganik kirlenme ise suya eklenen birçok maddeden kaynaklanmaktadır. Bunların arasında demir, mangan, klorür, ağır metaller, azot, fosfor ve diğer birçok madde sayılabilir. Bu parametrelerin her birinin çevreye etkisi farklı olup, zararsız hale getirme yolu ise, çöktirme ve seyreltmedir (Kocasoy, 1991).

Alıcı ortamlardaki doğal sıcaklığı değiştirerek doğal dengeyi bozan kirlenmeye ısıl kirlenme denmektedir. Alıcı ortamın sıcaklığını değiştirebilecek ısı kaynaklarının varoluşu ekolojik dengeyi ve su kalitesini önemli ölçüde etkiler. Isıl kirlenmenin ana kaynağı termal santrallerdir. Ancak, değişik endüstrilerin soğutma suları da ısıl kirlenmeye neden olabilir (Kocasoy, 1991).

## 2.1. Su Kirliliği ve Kontrolü ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Ülkemizde hava, su, toprak kirliliğini önlemek ve dolayısıyla; canlı ve cansız varlığını korumak ve geleceğini garanti altına almak üzere geçmişten günümüze kadar çeşitli yasa ve yönetmelikler çıkarılmıştır. Bu yasalardan birisi de Anayasamızın 56. Maddesinde “Herkes sağlıklı ve dengeli bir çevrede yaşama hakkına sahiptir. Çevreyi geliştirmek, çevre sağlığını korumak ve çevre kirliliğini önlemek devletin ve vatandaşların ödevidir” şekilde yer alan hükümdür.

İçme suyu kaynaklarının korunmasını yönelik 1593 Sayılı Umumi Hıfzıssıhha Kanunu ile içme amaçlı su sağlanan su kaynaklarının korunması, lağım sularının dere, çay ve nehlere verilmesine sınırlama getirilmiştir (Umumi Hıfzıssıhha Kanunu, 1930).

Su kirliliği ve kontrolü ile ilgili ülkemizde yasal düzenlemeler bulunmaktadır. Bu konuda ilk yasal düzenleme 4 Nisan 1971’de 13799 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan 1380 sayılı “Su Ürünleri Kanunu” dur (Çiçek, 2006).

11 Ağustos 1983 tarihli Resmi Gazete’ de çevrenin korunması amacıyla 2872 nolu “Çevre Kanunu” yayımlanmıştır. Bu kanunun amacı, büyük vatandaşların ortak varlığı olan çevrenin korunması, iyileştirilmesi; kırsal ve kentsel alanda arazinin ve doğal kaynakların en uygun şekilde kullanılması ve korunması; su, toprak ve hava kirlenmesinin önlenmesi; ülkenin bitki ve hayvan varlığı ile doğal ve tarihsel zenginliklerinin korunarak, bugünkü ve gelecek kuşakların sağlık, uygarlık ve yaşam düzeyinin geliştirilmesi ve güvence altına alınması için yapılacak düzenlemeleri ve alınacak önlemleri ekonomik ve sosyal kalkınma hedefleriyle uyumlu olarak belirli hukuki ve teknik esaslara göre düzenlenmektedir (Çiçek, 2006)

Çevre Kanunu uyarınca düzenlenen " Su kirliliği Kontrolü Yönetmeliği", 04.09.1988 gün ve 19919 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanmak suretiyle yürürlüğe girmiştir. Yönetmeliğin amacı, ülkenin yeraltı ve yerüstü su kaynakları potansiyelinin her türlü kullanım amacıyla korunması, en iyi bir biçimde kullanımının sağlanması ve su kirlenmesinin önlenmesidir (Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, 2004).

### 3. SULARDA BULUNABİLECEK MİKROORGANİZMALAR

İnsanlar, yaşamsal ve ekonomik gereksinimleri için, suyu hidrolojik çevrimden alırlar ve kullandıktan sonra aynı döngüye iade ederler. Bu işlemler sırasında suya karışan maddeler suların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirerek, “Su Kirliliği” olarak adlandırılan olguyu ortaya çıkarırlar. Artan nüfus ve gelişen endüstrileşme sonucunda yoğunlaşan su kullanımı, su kirliliğini hızlandıran bir etken olarak karşımıza çıkarır (Uslu ve Türkman, 1998). Su kirliliği özellikle içilebilir su kaynaklarının bakteriyolojik kirlenmesi, sağlıklı içme suyu temin edilmesindeki problemler, çözülmesi gereken en önemli sorunlardan biridir.

Uluslararası seyahatlerin yaygınlaşması, insanların demografik ve davranış özelliklerinin değişmesi, ekolojik değişiklikler, halk sağlığı çalışmalarının yetersizliği ve mikroorganizmalardaki yapı ve davranış değişiklikleri su ile bulaşan enfeksiyonların sıklığını etkileyen faktörlerdir. Toplumdaki aktif hastaların ya da taşıyıcıların bağırsaklarında bulunan hastalık yapıcı bakteriler, virüsler ve protoozonlar dışkı ile suya geçmekte; sonuçta su, enfeksiyon kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. Böyle kontamine suların içilmesi, gıda hazırlamada kullanılması, banyo yapılması, hatta inhale edilmesiyle çeşitli enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Su ile bulaşan enfeksiyöz ishaller, dünyadaki tüm ölüm nedenleri arasında 2. sırada yer almaktadır. Sadece ABD’deki ishallerli hastaların yıllık tıbbi bakım ve iş gücü kayıplarının maliyeti 6 milyar dolar olarak hesaplanmıştır (Irmak, 2008).

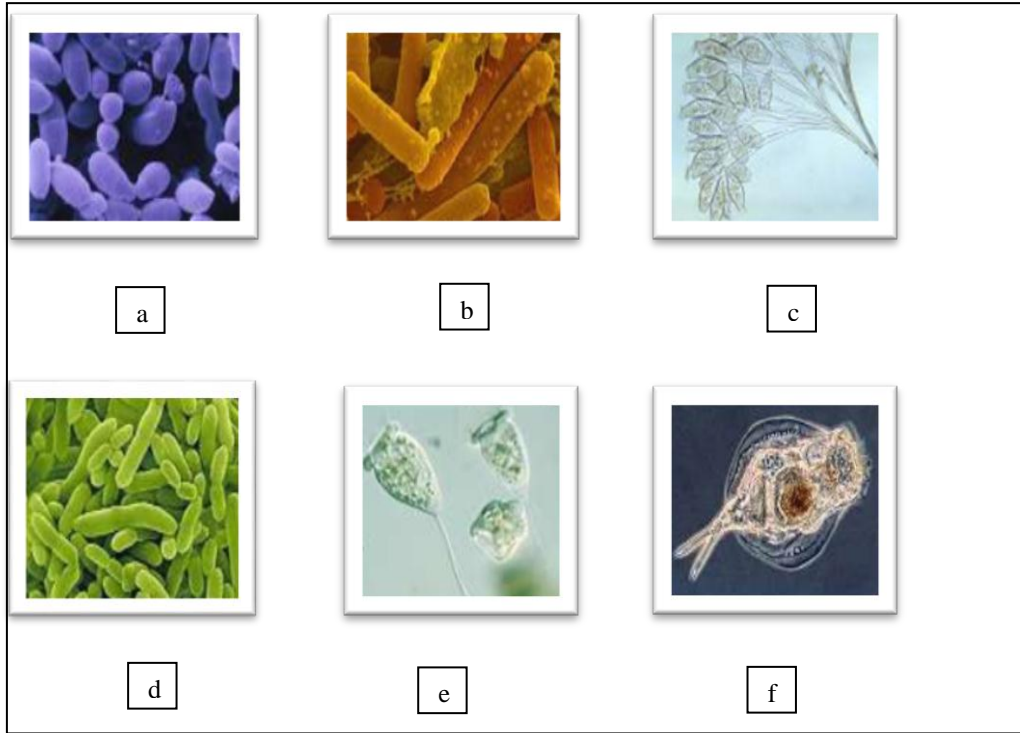
Su kirliliğinin sebepleri arasında yer alan mikroorganizmalar en basit yaklaşımla, boyutları 1 ile 100 µm arasında değişen, mikroskobik boyutlarda küçük organizmalar olarak tanımlanabilir. Sulara özellikle insan ve hayvan dışkılarıyla karışan hastalık yapıcı (patojen) bakteriler ve virüsler önemli bir sağlık riski oluşturduğu bilinmektedir. Patojenler, hastalar ve hastalık taşıyıcılardan idrar ve dışkı yoluyla su ortamlarına ulaşırlar. Su kaynaklarının hijyenik açıdan emniyetli olabilmesi için, suyun fekal (dışkı veya idrarla) kirlenmeye maruz kalıp kalmadığının belirlenmesi gerekir.



Su kirliliğine sebep olan, atıksularda sıklıkla karşılaşılan ve insanlar için patojen özelliği bulunan mikroorganizmalar; bakteriler, mantarlar (fungiler), protozoalar, metazoalar (helmintler) ve virüsler olarak sınıflandırılmaktadır.

İnsan ve hayvan dışkıları 1 gramında yaklaşık  $10^{12}$  sayıda bakteriyel patojen içermektedir. Dışkının ağırlık cinsinden yaklaşık %9'u bakteriden oluşmaktadır. Atıksularda bulunabilecek bakteri grupları aşağıdaki şekilde gruplandırılabilir:

- Gram negatif fakültatif anaerobik bakteriler (*Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Esherichia coli*, *Klebsiella* ve *Shigella türleri*)
- Gram negatif aerobik bakteriler (*Pseudomonas*, *Alcaligenes sp.*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*)
- Gram pozitif spor üreten bakteriler (*Bacillus sp.*)
- Spor oluşturmayan gram pozitif bakteriler (Şahinkaya, 2007)



Şekil 3.1. a) *Alcanigenes sp*, b) *Bacillus sp.*, c) *Opercularia coarctata*, d) *Pseudomonas sp.*, e) *Vorticella convellaria*, f) *Rotifer*

### 3.1. Sularla İlişkili Hastalıklar

Su ile bağlantılı hastalıklar, bulaşma yollarına göre dört grupta incelenebilir (Mandell ve ark., 1990).

#### a) Sulardan Kaynaklanan Hastalıklar:

Özellikle ılıman ve sıcak iklimlerde insan ve hayvan dışkıları ile kirlenen sularda bol miktarda mikroorganizma bulunur. Aynı şebekeden su temin eden insanların enfekte olmaları nedeniyle salgınlar çıkar. Tifo, kolera, viral hepatit bu gruba giren enfeksiyon hastalıklarıdır (Mandell ve ark., 1990).

#### b) Su Yokluğundan Kaynaklanan Hastalıklar:

Suyu çok kıt olan yörelerde kişisel hijyenin sürdürülmesi güçleşir. Vücudun, yiyecek maddelerinin ve giysilerin yıkanmaması nedeniyle hastalık yayılma olasılığı artar. Trahom ve bazı bağırsak hastalıkları (Basilli Dizanteri) bu gruba girer. Bu hastalıkların önlenabilirliği, kullanılan su miktarının artırılması ile ilişkilidir (Mandell ve ark., 1990).

#### c) Suda Yaşayan Canlılarla Bulaşan Hastalıklar:

Bazı parazit yumurtaları suda yaşayan omurgasız canlılarda (ör: salyangoz) yerleşir ve gelişir. Olgunlaşan larvalar suya dökülür; suyun içilmesi ya da kullanılması sonucu enfeksiyona yol açarlar. Şistosomiyazis bu grubun tipik örneği olup; GAP bölgesinde sulu tarıma geçilmesi ile birlikte ülkemiz için büyük bir sorun haline geleceği düşünülmektedir. Viral hepatit ve tifonun bulaşmasında rol oynayan midyeler bu canlılara örnek gösterilebilir (Mandell ve ark., 1990).

#### d) Sularla Bağlantılı Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar:

Vektörlüğünü sivrisineklerin yaptığı Sıtma bu gruba girer. Bu sorun durgun su birikintilerinin ortadan kaldırılması ve suyun borularla taşınması ile giderilebilir (Mandell ve ark., 1990).

Bazı mikroorganizmaların sağlık üzerine etkileri daha detaylandırılmak istendiğinde *Escherichia coli* gıda zehirlenmeleri dışında idrar yolları enfeksiyonlarının ve sistitin en önemli nedenidir. Bebeklerde ve yetişkinlerde gastrointestinal enfeksiyonlara neden olduktan sonra kan yoluyla taşınarak menenjitte sebep olabilmekte, buna ilaveten diyabet hastalarında, alkol bağımlılarında akciğer iltihabına neden olmaktadır. Ayrıca sinüzit, prostat iltihabı, kemik iliği iltihabı, kalp zarı iltihabı, beyin abseleri, karaciğer çıbanları, karın içi

çıbanlar ve cerehatlı tiroid bezi iltihabı gibi çok çeşitli enfeksiyonlarda da *Escherichia coli*'ye rastlanmaktadır (Mandell ve ark., 1990).

*Bacillus cereus* enfeksiyonları bağırsak sistemi enfeksiyonları ve bağırsak sistemiyle ilgili olmayan enfeksiyonlar olmak üzere ikiye ayrılır. Bağırsak sistemiyle ilgili olmayan enfeksiyonlar; göze ait enfeksiyonlar ve yara enfeksiyonları, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, solunum bölgesi enfeksiyonları ve kalp iç zarı iltihablarıdır (Marley ve Saini, 1995).

*Pseudomonas aeroginosa*, lokal iltihaplarla birlikte bazen ölümlü sonuçlanan enfeksiyonlara, özellikle menenjitte neden olmaktadır. Göz enfeksiyonları, kalp zarı iltihabı, solunum yolları enfeksiyonları, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, kulak iltihapları ve idrar yolları enfeksiyonlarına sebep olabilmektedir (Tümbay, 1981).

Çeşit olarak da, sayı olarak da oldukça çok olan sularla ilişkili hastalıkların en önemlileri şunlardır:

- İshal
- Basilli ve Amipli Dizanteri
- Giardiyaz
- Bağırsak Parazitozları
- Gine Kurdu Hastalığı (Dracunculiasis)
- Tifo ve Paratifolar
- Kampilobakter Enfeksiyonu
- Kolera
- Viral Gastroenteritler
- Hepatit A ve Hepatit E
- Lejyoner Hastalığı
- Leptospiroz
- Trahom
- Sıtma
- Anemi
- Arsenik Zehirlenmesi (Irmak, 2008).

Dünya Sağlık Örgütü raporunda yer alan su kaynaklı hastalık yapıcılar ve farklı kaynaklardaki gösterdikleri özellikler Çizelge 3.1. 'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Su kaynaklı hastalık yapıcılar ve özellikleri (WHO 2008)

Patojen	Sağlık Riski	Su Kaynaklarındaki Kalıcılığı*	Klor Direnci	İnfectivite*	Önemli hayvan kaynağı
<b>Bakteri</b>					
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Yüksek	Çoğalabilir	Düşük	Düşük	Hayır
<i>Campylobacter jejuni, C. coli</i>	Yüksek	Orta	Düşük	Orta	Evet
<i>Escherichia coli</i> – Patojenik	Yüksek	Orta	Düşük	Düşük	Evet
<i>E. coli</i> – Enterohaemorrhagic	Yüksek	Orta	Düşük	Yüksek	Evet
<i>Legionella</i> spp.	Yüksek	Çoğalabilir	Düşük	Orta	Hayır
Non-tuberculous <i>Mycobacteria</i>	Düşük	Çoğalabilir	Yüksek	Düşük	Hayır
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Orta	Çoğalabilir	Orta	Düşük	Hayır
<i>Salmonella</i> Tifi	Yüksek	Orta	Düşük	Düşük	Hayır
Other <i>Salmonella</i>	Yüksek	Çoğalabilir	Düşük	Düşük	Evet
<i>Shigella</i> spp.	Yüksek	Kısa	Düşük	Yüksek	Hayır
<i>Vibrio cholerae</i>	Yüksek	Kıtsadan uzuna	Düşük	Düşük	Hayır
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Orta	Uzun	Düşük	Düşük	Evet
<b>Virüsler</b>					
Adenovirüsler	Orta	Uzun	Orta	Yüksek	Hayır
Enterovirüsler	Yüksek	Uzun	Orta	Yüksek	Hayır
Astrovirüsler	Orta	Uzun	Orta	Yüksek	Hayır
Hepatit A virüsü	Yüksek	Uzun	Orta	Yüksek	Hayır
Hepatit E virüsü	Yüksek	Uzun	Orta	Yüksek	Potensiyel
Norovirüsler	Yüksek	Uzun	Orta	Yüksek	Potensiyel
Sapovirüsler	Yüksek	Uzun	Orta	Yüksek	Potensiyel
Rotavirüsler	Yüksek	Uzun	Orta	Yüksek	Hayır
<b>Protozoa</b>					
<i>Acanthamoeba</i> spp.	Yüksek	Çoğalabilir	Düşük	Yüksek	Hayır
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Yüksek	Uzun	Yüksek	Yüksek	Evet
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	Yüksek	Uzun	Yüksek	Yüksek	Hayır
<i>Entamoeba histolytica</i>	Yüksek	Orta	Yüksek	Yüksek	Hayır
<i>Giardia intestinalis</i>	Yüksek	Orta	Yüksek	Yüksek	Evet
<i>Naegleria fawleri</i>	Yüksek	Çoğalabilir	Düşük	Orta	Hayır
<i>Toxoplasma gondii</i>	Yüksek	Uzun	Yüksek	Yüksek	Evet
<b>Helmintler</b>					
<i>Dracunculus medinensis</i>	Yüksek	Orta	Orta	Yüksek	Hayır
<i>Schistosoma</i> spp.	Yüksek	Kısa	Orta	Yüksek	Evet

\* Sudaki infective periodun uzunluğu: kısa, 1 haftaya kadar; orta, 1 hafta ile 1 ay arası; uzun, 1 aydan uzun.

\*\* Gönüllü insan ve hayvanlar üzerinde yapılmış çalışmalardan elde edilen sonuçlar. Infectivite doz: 1-102arası yüksek, 102-104 orta, 104 den fazla düşük.

### 3.2.Mikroorganizmalar

Geçmişte mikroorganizmalar bitkiler ve hayvanlar olarak iki temel grupta toplanmıştı. Taksonomik güçlüklerden dolayı son eğilim mikroorganizmaları üç grupta toplamaktır, bunlar protista, bitkiler ve hayvanlardır.

Mikroorganizmalar, doğada organik ve anorganik maddeler arasındaki geçişi sağlarlar. Bu biyosferde yaşamın sürdürülebilmesi için gereklidir. C, O, N, S ve P gibi maddelerin biyojeokimyasal çevrimleri mikroorganizma faaliyetleri ile oluşur. Mikroorganizmalar aynı zamanda, bazı atıkların arıtılması ve yeniden kullanılabilir hale gelebilmesi açısından da büyük önem taşırlar.

%0,12 den az, çok az sayıda bazı mikroplar insan, hayvan ve bitkilerde hastalık yapmakta ve patojen olarak adlandırılmaktadır. Patojen olmayan mikroplara genellikle saprofitler denilmektedir.

İnsan ve hayvanlardan çok sayıda patojen atıldığından ham atıksu ve araziden süzülen sular patojen içermektedir. Sonuç olarak her su kütlelerinde bir miktar patojen bulunur. Bu nedenle içme suyu kaynaklarının patojenler yönünden sürekli denetlenmesi ve patojenlerin belli bir derişimin altında tutulması gerekir. Dünyanın pek çok yerinde içme suları patojenlerden arındırılabilmesi için arıtıma tabi tutulmaktadır.

Patojenler, hastalık yapan organizma tarafından enfekte edilmiş insanlardan idrar ve dışkı yoluyla atılmaktadır. Patojeni almış kişilerin hastalık belirtisi göstermesi şart değildir.

Su kaynaklarının hijyenik açıdan emniyetli olabilmesi için suyun fekal kirlenmeye maruz kalıp kalmadığının belirlenmesi gereklidir. Bu amaçla bazı prosedürler geliştirilmiş olup, bunların çoğu indikatör organizmanın varlığının belirlenmesine dayanır. İndikatörler, normal olarak hastalık yapmayan, dışkıda çok sayıda bulunan ve patojenlere oranla çok daha kolay tayin edilebilen mikroorganizmalardır. Yüzeysel sularda patojenlerin indikatör organizmalardan daha hızlı öldüğü varsayıldığından, indikatör organizmaların belli bir sayının altında oluşu, çoğu durumda patojenlerin olmadığını garanti eder.

En çok kullanılan indikatör organizmalar, koliform bakteri olup, tanım olarak, aerob ve fakültatif aerob, gram negatif, spor yapmayan, 35°C'de 48 saatte laktozu gaz oluşumuyla fermente eden çubuk şeklindeki bakterilerin tümünü

içermektedir. Bu grupta *Escherichia coli* ile normal olarak bağırsakta bulunmayan Enterobakter aerogenes sayılabilir. Çalışma kapsamında bakteriyolojik kirlenmeyi ölçmek için indikatör olarak *E.coli* kullanılmıştır.

### 3.2.1. İndikatör Mikroorganizmalar

Su ve atıksularda, patojen bakteri, virüs, protozoaların direk tayin edilmesi zor, pahalı ve uzun zaman alan laboratuvar çalışmalarını gerektirmektedir. Bu nedenle kendileri patojen olmadıkları halde patojen organizmaların suda bulunup bulunmadığını anlamak amacıyla indikatör (gösterge) mikroorganizmalar kullanılmaktadır. İdeal bir indikatör mikroorganizmanın aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekmektedir (Şahinkaya, 2007).

- Sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında yaşmalıdır.
- İndikatör organizma, patojen mikroorganizma bulunduğu suda mevcut olmalıdır.
- Fakat temiz suda (patojen bulundurmayan) suda mevcut olmalıdır.
- Patojenlerden daha fazla bir sayıda atıksu da bulunmalıdır.
- Patojenler dezenfeksiyona karşı dirençli olmalıdır.
- Çevre çoğalmamalıdır.
- İndikatör organizma patojen olmamalıdır.
- Kolay bir şekilde varlığı ve sayısı tayin edilebilmelidir (Şahinkaya, 2007).

### 3.2.2. Escherichia Coli

*Escherichia coli*, pediyatrist ve bakteriyolog olan Theodore Esherich tarafından bebek dışkılarında keşfedilmiştir ve adını ondan almaktadır.

*Escherichia coli*; normal bağırsak florasına ait, koliform grup bakteriler içinde yer alan, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, 35°C'de 48 saatte laktozdan gaz ve asit oluşturabilen gram negatif bir bakteridir. Biyolojik sınıflandırmada bağırsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler ailesinde yer almaktadır. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0,1-0,5 µm çapındadır. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalmaktadır. Bağırsak florasına ait bir bakteri olduğundan dolayı kontaminasyon yolu dışkıdır.

*E.coli*'nin bağırsak florasında zararsız bir konumda iken, vücuda dışarıdan alındığında hastalık etmeni oluşturan türleri bulunmaktadır. Fekal koliform oluşundan dolayı gıda, içme ve kullanma suyu, deniz ve havuz vb. yerlerde fekal kontaminasyon göstergesi olarak *E.coli* aranmaktadır. İnsanın bir günde dışkı yoluyla vücudundan geçen *E.coli* bakteri sayısı 100milyar ila 10trilyon arasındadır (James ve ark., 1998).

*E.coli* türü içinde farklı özelliklere sahip olan suş olarak adlandırılan çeşitli tipler yer almaktadır. Ve tür içerisinde çeşitlilik hakimdir. Bu çeşitlilik, kısmen farklı ortamlarda yaşayan bakterilerin ufak mutasyonlar biriktirerek farklılaşmasından dolayı olsa da, büyük bir bölümü bazı genlerin başka bakterilerden ediniminden meydana gelmektedir. Çeşitli patojen *E.coli* türlerinin farklı suşlarından kaynaklandıkları, bunların birbirinden bağımsız olarak virülans genlerinin 'yatay transfer' yoluyla elde ettikleri gösterilmiştir. Genomunda 'genetik ada' olarak adlandırılan bölgelerde dışardan alınan genler kümelenmektedir. Laboratuvarında kullanılan standart *E.coli* suşunun adı K12'dir. *E.coli* K12'nin ve O157:H7 serotipli bir suşun genom dizinleri çözülmüştür. K12 genomu yaklaşık 4200 genden oluşmaktadır, O157:H7 genomu ise K12'nin genomundan %25 daha büyüktür. K12 suşu hastalık yapan faktörleri taşımamaktadır. Hatta K12 suşu ilk izolasyonundan günümüze kadar geçen yıllar zarfında, kapsül yapma yeteneğini kaybederek laboratuvar ortamına uyum sağlamış, artık doğal ortamında başka *E.coli* türleriyle rekabet edemeyecek kadar zayıflamıştır. *E.coli* aşağıda belirtilen 3 sebepten dolayı çok önemli bir enterik bakteridir ( James ve ark., 1998).

-*E.coli* insan bağırsak florasında doğal olarak bulunan bir bakteri olduğu için suyun içinde *E.coli* bulunması suya patojenik enterik bakteri bulaştığının göstergesidir.

-*E.coli* farklı türlerde toksin üreten ve vücudun çeşitli bölgelerinde enfeksiyona sebep olan patojenik mikroorganizmaların oluşumuna sebep olur.

-*E.coli* genetik mühendisliği açısından önemli bir mikroorganizmadır. Şuan rekombinant DNA teknolojisi yoluyla birçok önemli biyolojik ürünler elde edilebilmektedir. *E.coli* materyallerin eldesinden sıklıkla kullanılan bir bakteridir. Bakteriyel konjügasyon, genetik rekombinasyon, operon kavramları ilk *E.coli*'de keşfedilmiştir. DNA'nın çoğalması, RNA transkripsiyonu, protein sentezi gibi

moleküler biyolojinin pek çok önemli mekanizması, metabolizmanın çoğu ayrıntısı bu organizmada yapılan araştırmalarla anlaşılmıştır. En az 10 Nobel Ödülü *E.coli*'de yapılan araştırmalara dayanmaktadır ( James ve ark., 1998).

Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa bazı kültürlerde de normalden uzun hatta Y harfi şeklinde dallanan filamanlı şekiller bulunabilir. Her iki şeklin birlikte bulunması olasıdır. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareketli olmakla birlikte hareketleri yavaştır. Hatta hareketsiz görünebilirler (Bilgehan, 1993).

Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram negatiftirler. Etraflarında kapsül maddeleri bulunur ve organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur (Bilgehan, 1993).

*E. coli* buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Fakültatif anaerobtur ve en iyi üreme ısısı 37°C'dir. 15-45 °C'de de üreyebilirler. pH 7.2'de iyi ürerler. *E. coli* ısıya karşı oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısısına uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir (Bilgehan, 1993).

### 3.2.3. *E.coli*'nin Neden Olduğu Hastalıklar

Bağırsak florasının normal bir üyesi olan *E.coli* ile konak organizma arasında uyumlu bir ilişki olduğundan bakteri normal habitatında hastalık oluşturmaktadır. Ancak ortama geçmesi halinde ki, bu aynı organizmada başka bir organ (idrar yolu enfeksiyonu ile mesaneye geçmek gibi) veya başka bir konak organizmanın bağırsağı olabilir, *E.coli* bir hastalık etmeni olabilmektedir. Bazı *E.coli* tipleri içinde buldukları hayvan içinde zararsız olmalarına rağmen insana geçtiklerinde hastalık oluşmasına neden olmaktadır. Bu hastalıklar arasında başlıcaları; ishalli hastalıklar olmakla beraber idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastiti, septisemi ve gram-negatif pnömoni de sayılabilir. *E.coli*'nin tavuk, dana ve başka hayvanlarda da hastalık yapabildiği gösterilmiştir (Evans Jr. ve Evans, 1990).

İshale yol açan *E.coli* serotipinin belirlenmesi için O ve H antijenlerine bakılmakta, O antijeni *E.coli*'nin suşunu, H antijeni ise serotipini belirlemektedir.



İshale yol açan *E.coli* serotipleri virülans özellikleri, patojenik mekanizmaları, klinik sendromları ve farklı O:H antijenlerine göre farklı gruplara ayrılmaktadırlar. Bu gruplar:

- Enteropatojenik *E.coli* (EPEC)
- Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC)
- Enteroinvazif *E.coli* (EIEC)
- Diffuse-adhering *E.coli* (DAEC)
- Enteroagregatif *E.coli* (EAEC)
- Enterohemorajik *E.coli* (EHEC)'dir.

Uropatojenik *E.coli* (UPEC) ise idrar yolu enfeksiyonlarının nedeninin %90'ını oluşturmaktadır. Bu *E.coli* tipleri idrar yolu epitel hücrelerine özellikle bağlanabilen fimbriumlara sahiptirler. Kadınların üretrasının erkeklerinkinden daha kısa olması nedeniyle bu enfeksiyon kadınlarda daha sıkça görülmektedir. Dışkıdan gelen bakteriler üretrayı tırmanıp mesaneye ulaşmaktadır. Mesane enfeksiyonu sistit olarak adlandırılmakta, tedavi edilmediğinde böbrek yangısına (piyelonefrit) dönüşebilmektedir (Evans Jr. ve Evans, 1990).

#### 4.DEZENFEKSİYON

Bir materyal üzerinde veya bir ortamda bulunan ve infeksiyon riski oluşturabilecek mikroorganizmaların; uzaklaştırılması (membran teknikleri), yok edilmesi (Ultrasound, dezenfektan kullanımı), etkisiz hale getirilmesi (UV kullanımı) veya sayı olarak zararsız düzeye indirilmesi işlemlerine dezenfeksiyon yöntemleri denir. Uygulamada sterilizasyon tanımı ile karıştırılmamalıdır. Sterilizasyon işleminde Cansız bir ortamdaki mikroorganizmalar; endospor formlar, dayanıklı suşlar, virüsler, funguslar ve Prionlar gibi tüm yaşam şekillerinin öldürülmektedir.

Dezenfeksiyon işlemi kimyasal ve kimyasal olmayan yöntemler olarak iki grupta incelenebilir. Oksidasyon potansiyeline sahip kimyasal maddeler klor ( $Cl_2$ ), klordioksit ( $ClO_2$ ), brom ( $Br_2$ ), iyot ( $I_2$ ), potasyum permanganat ( $KMnO_4$ ), bromklorit ve ozondur. Kimyasal olmayan ya da enerji ile bağlantılı olanlar ultraviyole radyasyonu ve gama radyasyonudur (Montgomery, 1985).

Dezenfeksiyon için ısı ya da kimyasal maddeler kullanılır. Dezenfeksiyon işleminin etkinliği;

- Dezenfekte edilecek materyalin daha önceki temizliği,
- Materyal üzerindeki organik ve inorganik madde yoğunluğu,
- Uygulanan dezenfektanın konsantrasyonu ve uygulama süresi,
- Dezenfekte edilen maddenin özelliği (lümenli olup olmaması, yüzey düzgünlüğü vs.),
- Üzerinde biyofilm olup olmaması,
- Mikroorganizmanın dirençlilik özellikleri,
- Dezenfeksiyon ısı ve pH'sı gibi birçok faktörden etkilenmektedir.
- Buna göre işlemin etkinliği genel olarak, mikroorganizmaya bağlı faktörler, dezenfektana bağlı faktörler ve çevresel faktörler olarak sıralanabilir (Reynolds, 1999).

Dezenfeksiyon işleminde en önemli değişken temas süresidir. Sabit dezenfektan derişimi için, temas süresi ne kadar fazla ise o kadar çok bakteri ölür. Bu gözlem ilk kez Chick tarafından yapılmıştır ve en basit model olarak sıkça kullanılmaktadır (Reynolds, 1999).

Chick Yasası

$$\frac{dN}{dt} = -k \cdot N_t \quad (2.1)$$

- $N_t$  : Herhangi bir t anındaki yaşayan mikroorganizma sayısı
- t : süre
- k : sabit (süre<sup>-1</sup>)

Öldürme hızı bazı durumlarda zamanla artabilir ya da azalabilir. Bu durumda;

$$\ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -k \cdot t^m \text{ olur; burada:} \quad (2.2)$$

m: sabit

- $m < 1$  ise öldürme hızı zamanla azalır,
- $m > 1$  ise öldürme hızı zamanla artar.

Sıcaklığın dezenfektan etkisi Van't Hoff – Arrhenius eşitliği ile gösterilir.

Sıcaklık arttıkça öldürme hızı artar.

$$\ln\left(\frac{t_2}{t_1}\right) = \frac{E \cdot (T_2 - T_1)}{R \cdot T_1 \cdot T_2} \quad (2.3)$$

$t_1, t_2$ :  $T_1$  ve  $T_2$  sıcaklıklarında (K), verilen bir öldürme yüzdesine ulaşmak için gereken süre

- E: Etkileşme enerjisi, J/mol (cal/mol)
- R: Gaz sabiti, 8,314 J/mol K (1,99 cal/ mol K)

Dezenfektanların etkinliği, mikroorganizmaların tiplerinden de etkilenir. Örneğin, büyümekte olan bakteriler kolaylıkla öldürülebilir. Bunun tam aksine bakteriyel sporlar çok dirençlidir ve kimyasal dezenfektanlar az etkilidir ya da hiç etkili değildir. Bu nedenle ısı gibi diğer dezenfektan etkiler kullanılır (Reynolds, 1999).

Askıda katı madde içeren sularda, yabancı organik maddeler, yükseltgen dezenfektanların çoğu ile tepkimeye girerek bunların etkilerini düşürür

Dezenfektan tipine bağılı olarak dezenfeksiyonun etkinliği derişime bağılıdır (Reynolds, 1999).

$$C^n \cdot t_p = k \quad (2.4)$$

- C: dezenfektan derişimi
- $t_p$ : sabit bir ölüm yüzdesine ulaşılan süre, t (yüzde yok olma süresi)
- $n > 1$  ise temas süresi dozajdan daha etkin
- $n < 1$  ise temas süresi ve dozaj aynı etkiye sahip (Reynolds, 1999).

#### 4.1. Dezenfeksiyon Yöntemleri

Dezenfeksiyon işleminde kullanılan başlıca yöntemler ve kısa açıklamaları şu şekilde verilebilir;

##### 1-Fiziksel yöntemler

- Isı ile dezenfeksiyon
- Ultraviyole ışık ile dezenfeksiyon

##### 2-Kimyasal yöntemler

- Alkali ve asitler ile dezenfeksiyon
- Yüzey aktif kimyasal maddeler ile dezenfeksiyon
- Metal iyonları ile dezenfeksiyon
- Halojenler ile dezenfeksiyon
- Ozon ile dezenfeksiyon
- Potasyum permanganat ile dezenfeksiyon (Şengül ve Şengül, 1998).

##### 4.1.1.Ultrasound ile dezenfeksiyon

Ses dalgaları, değişik ortamlar içinde yayılan boyuna dalgalardır. Bu dalgalar her hangi bir ortamda (yani gazlar, katılar veya sıvılar), ortamın özelliklerine bağılı olan bir hızla yayınırlar. Ses dalgası bir ortamda yayılırken; ortamın parçacıkları, dalganın hareket doğrultusu boyunca yoğunluk ve hacim değişiklikleri üreterek titreşirler. Bu parçacık hareketi, dalga hareketinin yönüne dik olan enine dalga hareketindeki durumun tersidir. Ses dalgaları şeklinde ortaya çıkan yer değiştirmeler, denge konumundan itibaren her bir molekülün boyuna yer

değiştirmesini gerektirir. Bu sıkışma ve genişleme şeklinde yüksek ve alçak basınç düşmelerine yol açar. Frekanslarına göre, boyuna mekanik dalgalar üç gruba ayrılır.

1-) İşitilebilir dalgalar: İnsan kulağının duyarlık sınırı içinde olan ses dalgalarıdır. Bu dalgalar 20 Hz ile 20.000 Hz frekansları arasındadır. Bu sesler değişik yollarla yaratılabilir; müzik aletleriyle, boğazdaki ses telleriyle ve hoparlör ile.

2-) Ses altı dalgalar (dalgalı; işitilebilir mertebenin altındaki frekansta olan boyuna dalgalarıdır. Deprem dalgaları bu dalgalara örnektir.

3-) Ses ötesi dalgalar (Ultrasonik) dalgalar; işitilebilir mertebenin üstündeki frekansları olan boyuna dalgalarıdır. Örneğin, bu dalgalar, bir kuartz kristaline alternatif elektrik alanının uygulanmasıyla elde edilebilirler. Bu yol ile  $6 \times 10^8$  Hz (=600MHz) kadar yüksek ultrasonik frekanslar elde etmek mümkündür. Hava içinde bu frekansa karşılık gelen dalga boyu  $5 \times 10^{-5}$  cm'dir. Bu değer görünür ışık dalgalarının boyu ile aynı büyüklüktedir.

#### 4.1.2. Metal iyonları ile dezenfeksiyon

Ağır metallerin çoğu yalnız başına veya bileşikler halinde bazı yerlerde mikroorganizmaların kontrol edilmesinde kullanılabilir. Bu ağır metallerin, antibakteriyel etkileri birbirlerinden farklıdır, fakat antibakteriyel etkilerine göre bir sıraya sokarsak  $Hg^{++}$  ve  $Ag^+$  bu sıranın en başında yer alırlar. Bunlar 1 ppm'den daha az yoğunlukta uygulandıklarında bakterileri öldürecek etkiye sahiptirler. Buna oligodinamik etki de denmektedir. Yani yukarıda belirtildiği gibi metallerin özellikle gümüşün çok az miktarlarının mikroorganizmalar üzerine etki yapmasına mikrobiyoloji literatüründe oligodinamik etki denmektedir. Bir metalin oligodinamik etkisini laboratuarda görmek çok kolaydır. Üzerine herhangi bir mikroorganizma türünün aşılandığı katı bir ortam üzerine temiz ufak bir gümüş ya da bakır metal konduğunda, belirli bir süre sonra ortama bırakılan metalin etrafında herhangi bir büyümenin olmadığı görülür. Burada ortamın sahip olduğu metal iyonu miktarı ppm olarak ifade edilecek kadar azdır. Bu ortamdaki metal iyonu miktarının çok az olmasına rağmen hücreler tarafından bu iyonlar çok miktarda çekilmektedir. Örneğin bu metalin gümüş olması halinde maya veya bakteri hücreleri tarafından  $Ag^+$  iyonları  $10^5$ - $10^7$  adet iyon yoğunluğunda

çekildiklerinde ölüm gerçekleşmektedir. Bu nedenle metal iyonlarının etkinliği ortamdaki hücre sayısı ile de ilgilidir. Eğer çok sayıda hücre ortamda bulunacak olursa hücrelerin içinde yukarıdaki öldürücü yoğunluğa ulaşılmayabilir (Öner, 1986).

Gümüş, oligodinamik etkiye sahip olduğundan, sargı bezleri ve merhem gibi antiseptik sıhhi malzemelerin hazırlanmasında da kullanılabilir (Öner, 1986).

$Hg^{++}$ 'nin antibakteriyel etkisi hücre içinde yer alan enzimlerin –SH (sülfidril grupları) grupları tarafından ortadan kaldırılabılır. Bu ağır metal iyonları hücre içine girdiklerinde –SH grupları ile birleşerek merkaptidler oluşturur. Daha önce belirtildiği gibi bu metallerin iyon formları öldürücüdür. Merkaptidlerin oluşması ile hücre içinde bu iyonlar ortadan kalmaktadır. Hücre içine alınan bu tür metal iyonlarının bazıları merkaptidlerin oluşmasına neden olduklarından hücre içinde pasif duruma geçmektedir. Ancak pasif duruma geçirilemeyen metal iyonları öldürücü etkiye sahip olabilmektedir. Bu yüzden hücreler ancak  $10^5$ - $10^7$   $Ag^+$  aldıklarında ölmektedir (Öner, 1986).

#### 4.1.3. Kloraminler ve Klor ile dezenfeksiyon

Klor gazı ilk defa 1774'de Scheele tarafından hazırlanmış, ancak kimyasal bir element olarak 1808'de kabul edilmiştir. İlk kullanımları 1825'te atıksu arıtımında Fransa'da Javal suyu (potasyum çözültisi içinde çözülmüş gaz halinde klor olarak) uygulamasıdır. Avrupa ülkelerinde ise 1831'de kolera epidemik hastalığının ortaya çıkmasıyla kullanılmaya başlanmıştır. Klor ya da klor bileşiklerinin dezenfektan olarak kabul edilmesi ise iki yıl gibi kısa bir süre olmuştur. Kloraminasyon, klor ve amonyağın aynı anda veya ard arda eklenmesiyle ilk kez Ottawa, Kanada ve Denver'da 1917 yılında olmuştur. II. Dünya Savaşı sırasında amonyak eksikliği nedeniyle kloraminasyon prosesinin popülaritesi düşmüştür. Ancak son zamanlardaki klorlama ile oluşan yan ürünler nedeniyle yeniden uygulanmaya başlanmaktadır (Pontius, 1990).

Oda sıcaklığında sarı-yeşil renkli zehirli bir gaz olan klor, suya eklendiği zaman suyla birlikte hipokloriz asit ve daha sonra iyonlarına ayrışarak hipoklorit iyonuna dönüşür. Eğer suda amonyak varsa klor suya eklendiği zaman inorganik bileşik olan kloraminleri (monokloramin, dikloramin, trikloramin) oluşturur.

Monokloramin ilk önce oluşan kloramindir ve tek basına dezenfektan olarak kullanılabilir. İnsanlarda yapılan gözlemler sonucu, içme suyu dezenfeksiyonunda monokloramin kullanılması ile hemodiyaliz hastalarında olumsuz sağlık etkileri azaltılmaktadır. Diyaliz küvetlerinde kloraminler hemoglobini metahemoglobine okside etmekte ve hemoglobinin denaturasyonuna sebep olmaktadır. Bunlara ek olarak, monokloramin heksozmonofosfatın dönüşünü engelleyerek kırmızı kan hücrelerinin oksidatif hasardan korunmalarına yardımcı olurlar. Laboratuvar hayvanlarında yapılan bir araştırmada, 90 gün boyunca farelere ve tavşanlara içinde 100 mg/L'den fazla kloramin bulunan su verilmiştir. Düşük dozları hiçbir etkiye sebep olmamıştır. Yüksek dozda (10-100 mg/L) ise 3 ay sonra yapılan ölçümlerde kırmızı kan hücreleri sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir (Pontius, 1990).

Atıksu arıtım tesislerinde en yaygın kullanılan klor bileşikleri, klor gazı ( $Cl_2$ ), kalsiyum hipoklorit [ $Ca(OCl)_2$ ], sodyum hipoklorit ( $NaOCl$ ), ve klor dioksit ( $ClO_2$ )'dir. Klor gazı suya ilave edildiğinde ard arda iki reaksiyon görülür. Bunlar hidroliz ve iyonizasyondur. Suda bulunan  $HOCl$  ve  $OCl^-$ 'nin miktarları serbest klor olarak adlandırılır.  $HOCl$ ,  $OCl^-$ 'e göre daha kuvvetli bir dezenfektandır (Metcalf ve Eddy, 1981).

Dünyada ve Türkiye'de pek çok içme suyu arıtma tesisinde dezenfektan olarak kullanılan klorun, doğal organik maddelerle reaksiyona girerek "dezenfeksiyon yan ürünleri" olarak tanımlanan klorlu-organik bileşiklerin oluşumuna yol açtığı bilinmektedir.

Sindirim sistemi kanseri ile içme suyunda düşük seviyede bulunan THM'lere uzun süreli maruz kalınması arasında bir bağıntı olduğu bilinmektedir. Klorlanmış su içenlerin bağırsak ve mesane kanserine yakalanma riskleri klorlanmamış su içenlere göre daha yüksektir. ABD Çevre Koruma Örgütü (USEPA) Ulusal Birincil İçme Suyu Kirletici Standartları'nda THM'lerin kanserojen oldukları ve karaciğer, böbrek ve sindirim sistemi üzerinde olumsuz etkileri olduğu belirtilmektedir (Tokmak ve ark., 2000).

1998 yılında USEPA tarafından yürürlüğe konulan talimatlarda toplam THM (TTHM) miktarı 80  $\mu g/L$  olarak belirtilmiştir. Söz konusu sınır değeri 2000 yılı itibari ile 40  $\mu g/L$  olarak belirtilmektedir. Avrupa Birliği'nin 1995 yılında

öngördüğü yönergeyle, kloroform ve bromodiklorometan limit değerleri sırasıyla 40 ve 15 µg/L olarak belirlenmiştir (Tokmak ve ark., 2000).

Sudaki toplam organik karbon (TOK) miktarı, sıcaklık, pH, klor dozu ve sudaki bromür derişimi gibi faktörler THM oluşumunu etkilemektedir. Su arıtma sürecinde başlayan THM oluşumu, suda serbest klor bakiyesi bırakılması nedeniyle dağıtım sisteminde de devam etmektedir (Tokmak ve ark., 2000).

#### 4.1.4. Ozon ile dezenfeksiyon

Ozon, 1783’de Van Marum tarafından keşfedilmiş ve 1840’ta Schonbein tarafından da isimlendirilmiştir. İlk elektrik akımıyla ozon üretim cihazı Siemens tarafından yapılmış ve bu tip cihazlarla ilk ticari uygulamaları 1893’te başlamıştır. Ozon, ilk olarak aynı yılda, içme suyu dezenfeksiyonunda Hollanda’ da kullanılmıştır. 1987’de ise yine birleşik devletlerde 5 arıtma tesisinde tat, koku ve THM öncülerini gidermek için ozon ile dezenfeksiyon uygulanmaktaydı. Ozon, THM’ların oluşumunu azaltmak için oldukça etkilidir, fakat çöktirmeden sonra ozonlamanın yapılması, ham suya ozonlama yapılmasında daha etkili sonuçlar alınmasını sağlamaktadır (Pontius, 1990; Taylor ve ark., 1993).

Ozonun avantajı düşük konsantrasyonlarda bile kuvvetli bir dezenfektan olmasıdır. Dezavantajı ise yüksek maliyetidir. Özellikle tesiste kurulması gereken ozon üretim ekipmanının maliyeti oldukça yüksektir. Ayrıca ozonun kalıcı bir özelliği bulunmamaktadır, bu yüzden dağıtım sistemine verilen suya ilave bir kalıcı dezenfektan, örneğin kloramin, katılır. Ozonun başka bir avantajı ise kullanımını esnasında halojenli organik bileşiklerin oluşmamasıdır.

Ancak ozon doğal humik maddelerle reaksiyona girerek, biyolojik parçalanmaya karşı humik maddelerden daha hassas olan organik maddeleri oluştururlar. Bunun sonucunda ise borularda bakteri oluşumu gözlenebilir ki bu da su kalitesine ve borularda su akışına zararlı olabilir. Sudaki organik maddelerle etkileşmesinden dolayı koku ve tat veren organik maddelerin giderilmesinde de ozon kullanılabilir. Ayrıca ozon uygulanması ile indirgenmiş demir ve mangan tuzlarının çözünmeyen oksitlere dönüştürülerek dağıtımdan önce uzaklaştırma yoluna da gidilmektedir (Samsunlu, 1999).



Bakiye ozon ölçüm yöntemleri ozonun organik maddeyi oksitleme kabiliyetine dayanmaktadır. Burada indigo, mavi renkli boya, kolorimetrik işlem için kullanılmaktadır. Asidik şartlarda ozon hızla indigoyu oksitleyerek renksizleştirir. Ozon içeren sudan kaynaklanan standart indigo çözeltisindeki bu renk açılması spektrofotometre ile ölçülür (Samsunlu, 1999).

Suda brom olması durumunda doğal suların ozonlanması sırasında, HOBr (hipobromis asit) ve OBr<sup>-</sup> (hipobromit, BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> (bromat) ve bromlu organik yan ürünler ortaya çıkmaktadır (Shukairy ve ark., 1994).

Ozon kuvvetli bir oksidant olup, içme suyu arıtımı için uygulanan dezenfeksiyon işlemlerinde genellikle 1-2 mg/L derişimlerde kullanılmaktadır.

#### 4.1.5. Elektrokimyasal dezenfeksiyon

Su dezenfeksiyonu elektrokimyasal olarak da gerçekleştirilebilmektedir. Son zamanlarda bu konu üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır. Suyun elektrokimyasal dezenfeksiyonu en az uygulama alanı gerektiren dezenfeksiyon sürecidir. Elektrokimyasal süreçle yapılan dezenfeksiyonun en önemli avantajı, dezenfekte etme özelliğine sahip kimyasalların kullanılacağı yerde üretilmesidir. Böylece klorlamada endişe yaratan klorun depolanması ve taşınması sırasında meydana gelebilecek tehlikelerin önüne geçilmektedir (Tüzel, 2002).

Elektrokimyasal dezenfeksiyonda doğru akım veya düşük veya yüksek frekanslı (0,5-800 Hz) alternatif akım uygulanabilmektedir. Fakat yapılan çalışmalarda doğru akımın dezenfeksiyonda alternatif akımdan çok daha etkili olduğu bulunmuştur. Elektrokimyasal su dezenfeksiyonunda elektrot malzemesi olarak grafit, granüler aktif karbon, aktif karbon lif ve gümüş kullanılabilir. Bazı durumlarda NaCl ve NaBr gibi maddeler suya eklenerek sürecin etkinliği artırılmaktadır (Tüzel, 2002).

Elektrokimyasal su arıtımı ile boyutları virüslerden bakteri ve algelere kadar değişen yaklaşık 40 mikroorganizma türü sudan başarılı olarak giderilebilmektedir (Tüzel, 2002).

Elektrokimyasal su dezenfeksiyonunun etki mekanizması, temel olarak, bakterilerin anotta direkt olarak yükseltgenmesine ya da elektrokimyasal olarak

bir yükseltgen üretilerek bakterilerin elektrokimyasal reaktörde indirekt yolla yükseltgenmesine dayanmaktadır (Tüzel, 2002).

Direkt yükseltgeme ile elektrokimyasal dezenfeksiyonda, elektrokimyasal reaktöre sabit gerilim uygulanması ile bakteri hücrelerinin solunum aktivitesinin azalması sağlanmakta ve sonuçta ölümüne sebep olunmaktadır. Bu yöntem hücre içi koenzim A'nın elektro yükseltmesine dayanmaktadır (Tüzel, 2002).

İndirekt yükseltgeme ile elektrokimyasal dezenfeksiyonun prensibi elektrokimyasal bir hücrede bir yükseltgen üretilmesine dayanmaktadır. Üretilen yükseltgen de genellikle klordur. Suda her zaman bulunan klorür elektrokimyasal olarak yükseltgenerek ya da suya ilave edilen sodyum klorür ile klor veya hipoklorit üretilerek kirleticilerin dezenfeksiyonunda kullanılabilir (Tüzel, 2002).

#### **4.1.6. UV ile dezenfeksiyon**

Güneş ışığı ile birlikte mikrobiyal yıkım için anılan kısa dalga boylu UV ışığının, bulunduğundan bu yana biosidal etkileri olduğu bilinmektedir. UV dezenfeksiyonunun dizayn kuralları 1940'larda teklif edilmişti. UV yolcu gemilerinde içme suyu arıtımı için kabul edilmektedir. Arıtmadan sonra, uygulamalarda bakiye dezenfeksiyon etkisinin bulunmaması nedeniyle içme ve kullanma suyu temininde UV'ye karşı çok az talep olmaktadır (Pontius, 1990).

254 nm UV ışınımı ile sularda mikroorganizmal yaşam %99,99 oranında önlenmektedir. Genel olarak ultraviyole sistemler, sularda mikrobiyolojik dezenfeksiyon sağlamak ve kullandığımız sularda hijyen sağlamak üzere kullanılmaktadır. İşlevi temel olarak DNA üzerinde dimerizasyona neden olup replikasyonun engellenmesi üzerinedir (Montgomery, 1985).

Mikroorganizmaların UV tarafından yıkımı, UV enerjisinin hücredeki genetik madde olan DNA tarafından absorblanmasıyla gerçekleşmektedir. Maksimum mikroorganizmaların yıkımı, nükleik asitlerin UV'yi absorblama kapasiteleriyle bağlantılı olarak 265 nm dalga boyunda gerçekleştiği bilinmektedir. UV radyasyonunun tüm mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu şüpheli olmasına rağmen, UV enerjisinin etkisi mikroorganizmaların dayanıklılığına bağlıdır (Montgomery, 1985).

Günümüzde düşük basınçlı cıvalı ark lambaları UV radyasyonunun dezenfeksiyon amacıyla kullanımında en yaygın kaynaktır. Cıvalı ark lambalarının ürettiği 254 nm dalga boyunda monokromatik ışık optimum germisidal etkiyi sağlamaktadır (Metcalf ve Eddy, 1981).

254 nm dalga boyundaki radyasyon mikroorganizmanın hücre duvarından geçerek, hücre içindeki DNA ve RNA tarafından absorblanır. Bu da hücrenin çoğalmasını engeller ve hücrenin ölmesine neden olur. UV radyasyonun bakterisit etkinliği suyun berrak olmasına bağlıdır. Bulanıklığa neden olan kirleticiler UV radyasyonunun doğrudan bakteriye ulaşmasını engelleyecektir (Metcalf ve Eddy, 1981).

UV radyasyonunun su dezenfeksiyonunda etkin olabilmesi için en etkili yöntem, suyun ince bir film tabakası şeklinde UV lambalar arasından geçirilmesidir (Metcalf ve Eddy, 1981).

UV radyasyonun kimyasal bir ajan olmaması nedeniyle suda toksik bir kalıntı oluşturması söz konusu değildir. Buna rağmen sudaki bazı bileşikler UV radyasyon ile değişikliğe uğrayabilmektedir. Ancak bunların daha sonra zararsız formlara dönüştüğü düşünülmektedir. Bu nedenle UV radyasyonun, çevreye zararlı ya da faydalı etkilerinin olmadığı düşünülmektedir (Metcalf ve Eddy, 1981).

UV ile dezenfeksiyon sürecinin etkinliği aşağıdaki faktörlere bağlıdır;

- UV ışın yoğunluğu,
- Temas süresi,
- Atık su kalitesi (bulanıklık, toplam askıda katı madde).

Dezenfekte edilecek atık suyun bulanıklığı önemli sorunlar yaratabilmektedir. Eğer dezenfekte edilecek suyun kalitesi kötüyse, UV ışını katılara nüfuz edemez ve sürecin etkinliği azalır.

Sonuç olarak:

- UV ile dezenfeksiyon çevresel olarak güvenli, kimyasal olmayan, toksik yan ürünler üretmeyen fiziksel bir süreçtir.
- UV radyasyonu bakteri ve virüsleri yok etmede etkilidir.

- Ozon ile dezenfeksiyonda olduğu gibi UV ile dezenfeksiyonda da mikroorganizmaların yeniden çoğalmasını engellemek için ikinci bir dezenfektan uygulanmalıdır.
- UV dezenfeksiyon sisteminin işletimi ve bakımı nispeten kolaydır.
- UV ile dezenfeksiyon birkaç dakikada yeterli dezenfeksiyon seviyesini sağlar, oysa klorlamada bu süre 1/4-1/2 saat arasındadır.
- UV ile dezenfeksiyon klorlama sırasında meydana gelen toplam çözünmüş katılarda artış oluşturmaz.
- UV ile dezenfeksiyonda aşırı dozlama gibi bir endişe yoktur.
- UV ile dezenfeksiyonun kontrolü kolaydır ve dezenfeksiyondan çıkan suyun kalitesinde fazla bir değişim gözlenmez.
- UV ile dezenfeksiyon bulanıklık sorunundan etkilendiği için ikincil arıtmıdan çıkan atık sulara uygulanması sınırlı olmaktadır.
- UV dozajı, dezenfeksiyon verimini etkilemektedir. UV dozajı, değişik sayıda lamba kullanılarak veya UV lambaları etrafındaki hidrolik bekleme süreleri ayarlanarak kontrol edilebilmektedir.
- UV ile dezenfeksiyon klorlama için iyi bir alternatiftir.
- UV ile dezenfeksiyonunun temel avantajı, standart dezenfeksiyon yöntemlerinden klorun kullanım ve taşınım gibi sorunları eleyen, ışığa dayanan bir yöntem olmasıdır (Spellman, 1999).

## 5. ULTRASOUND İLE DEZENFEKSİYON MEKANİZMASI

Bir sıvı ortamdaki kimyasal sistemlere ultrasound'un mekanik etkileri kavitasyon etkileri sonucunda oluşur ve bu kuvvetler biyolojik sistemler üzerinde büyük etkilere sahiptir. Akustik kavitasyon kabaca geçici (transient) ve sabit (stable) olmak üzere iki türe ayrılabilir. Geçici kavitasyon, gaz ya da buhar ile dolu kabarcıklar düzensiz salınımına uğradıklarında ve sonunda hızla içine çekildiklerinde (implode) meydana gelir. Bu durum yüksek yerel sıcaklık ve basınç meydana oluşturur bu da biyolojik hücreleri parçalar ve / veya bazı enzimleri denature edebilir. Hızla içe çekilen kabarcıklar çözücü içinde yüksek kesme (shear) kuvvetleri ve sıvı jeti de üretir bunlar aynı zamanda hücre duvarına / membrana fiziksel olarak zarar verebilecek yeterli enerjiye sahiptirler (Mason ve ark., 2003).

Ultrasound akustik kavitasyon sonucu artan bir takım fiziksel, mekanik ve kimyasal etkiler ile bakterileri inaktif hale getirebilir ve bakteriyel kümeleri ya da flokları ayırabilir (Joyce ve ark., 2003).

Çökmede kavitasyon kabarcıkları bir takım süreçler ile bakterileri ya da biyolojik hücreleri mekanik olarak zayıflatmak ya da parçalamak için yeterli enerji üretir (Joyce ve ark., 2003).

- Bakteriyel hücrelerin yüzey rezonansından kaynaklanan güçler kavitasyon ile oluşur. Gaz kabarcıklarının sönmelerinden kaynaklanan basınç ve basınç düşüşleri bakteriyel çözeltilere giren ve bakteriyel hücre duvarının içinde ya da yanında bulunan gaz kabarcıklarının sönmelerinden kaynaklanır. Bakteriyel hücre frekansa bağlı olarak belli bir süre mekanik olarak zorlandığında zarar görür.
- Microstreaming'in neden olduğu kesme kuvvetleri bakteriyel hücrelerde meydana gelir.
- Sulu ortamlarda kavitasyon boyunca radikallerin ( $H^+$  ve  $OH^-$ ) oluşumu sayesinde kimyasal bozunum. Radikaller bakteriyel hücre duvarının kimyasal yapısını bozar ve hücre duvarını zayıflatır.
- Suyun bu sonokimyasal degradasyonunda son ürün kuvvetli bir bakterisit olan hidrojen peroksit'tir ( $H_2O_2$ ) (Joyce ve ark., 2003).

Sonikasyon tek başına kuvvetli bir dezenfeksiyon sağlar. Buna rağmen, sadece ultrasound kullanılarak %100 ölüm oranına ulaşmak için yüksek ultrasonik yoğunluk gerekir. Bu durum tekniği büyük ölçekli mikrobiyal dekontaminasyonda kullanmak için maliyetli hale getirebilir. Ancak, diğer tekniklere (klorlama, UV vb.) ek olarak dekontaminasyonda ultrasound ile hibrit sistemlerin kullanılması klasik metodları da maliyet açısından aşağı çekebilir. Bununla birlikte bazı mikroorganizmaların biyositler, ultraviyole ışığı ve ısı ile arıtım gibi dezenfeksiyon tekniklerine karşı dirençli hale gelmeleri de hibrit sistemlere ilgiyi artırmaktadır.

### 5.1. Ultrasound ile mikrobiyal inaktivasyon

Ultrasoundun bakterisidal etkisi intasellüler kavitasyon ile ilgilidir. Kavitasyon ile kabarcık oluşumuna dayanan bu olay genellikle mikrobiyal hücreyi öldürmektedir (Piyasena ve ark., 2003). Kavitasyon sırasında içleri gaz dolu yüksek enerjili küçük baloncuklar meydana gelir (Leighton, 2007). Ultrasound sırasında bu mikroskobik baloncukların patlamalarıyla mekanik bir şok oluşur. Bu şok dalgaları kinetik enerjiye dönüşerek bir ses dalgası ve titreşim oluştururlar. Oluşan ses dalgaları 570 km' lik hızla hareket ederler. Patlamalarda baloncukların çevrelerindeki moleküllerin birbirleriyle çarpışmaları sonucunda yüksek ısı (5500 °C) ve basınç (50 Mpa) noktaları oluşur (Leighton, 1998). Oluşan bu mekanik şok ile hücredeki yapısal ve fonksiyonel yapılar parçalanarak hücre parçalanması gerçekleşir (Skauen, 1976). Sıvı bir ortama uygulanan ultrasound ile sıvının alanda hareketiyle kavitasyon baloncukları patlar ve  $\text{OH}^-$  ve  $\text{H}^+$  reaktif radikalleri üretilir. Bu radikallerin oksijen ile reaksiyona girmesiyle  $\text{H}_2\text{O}_2$  (hidrojen peroksit) meydana gelir (Lea ve ark., 2005). Yoğun kabarcık oluşumu, sıcaklık ve basınç değişimlerini engelleyerek serbest radikal oluşumuyla DNA yıkımı, hücre zarı parçalanması ve hücre duvarı bozulmasını gerçekleştirir (Manvell, 1997). Yüksek ultrasound protein bozulmalarına ve serbest radikallerin oluşumlarına sebep olabilmesiyle meyveli ya da yüksek yağlı yiyeceklerde olumsuz etki yapabilmektedir (Williams, 1994).

Ultrasound ile inaktivasyon, vejetatif hücreler üzerine oldukça etkili olmasına rağmen ultrasoundun tek başına sporlar üzerine bir etkisi yoktur.

Kullanılan diğerk yardımcı yöntemler sporların inaktivasyonunu arttırabilmektedir (Anonymus, 2000).

Valero ve ark.' larının (2007) yaptığı çalışmada, 1,4 litre portakal suyuna 500 kHz' lik frekansta ve 250 W gücünde 15 dakika boyunca sonikasyon uygulanmıştır. Uygulama sonucunda toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında 1,08 logaritmik birim azalma gözlenmişken aynı uygulamada maya ve küf sayısında önemli bir azalma meydana gelmediğı belirtilmiştir.

Son yıllarda ultrasoundun gıdalardaki etkileri *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* ile yapılan çalışmalarda 5 ve 6 log cfu/mL altında azalmalarla önemli sonuçlar elde edilmiştir (D'Amico ve ark., 2006).

## 5.2. Ultrasound ile inaktivasyonu etkileyen faktörler

Ultrasound kullanımını ve verimini etkileyen birtakım faktörler bulunmaktadır.

Bunlar:

- Ultrasound dalgalarının büyüklüğü yani amplitüd,
- Mikroorganizma ile etki ettiği süre,
- Mikroorganizmanın türü,
- Gıdanın yapısı,
- Ultrasoundun uygulandığı sıcaklık.

Mikrobiyal inaktivasyon, uygulama süresiyle paralel olarak artmaktadır. Canlılık fraksiyonu ile uygulama zamanı arasında belirli bir ilişki gözlenmiştir. Buna dayanarak ultrasound dalgalarına karşı mikrobiyal direnç, desimal redüksiyon zamanından (D değeri) hesaplanmakta; D değeri ise, verilen sıcaklık, pH ve amplitudde canlı hücrelerin sayısını bir logaritmik birim azaltan ya da populasyonun %90'ını öldürebilmek için gerekli olan süre olarak tanımlanmıştır (Çil, 2007).

Düşük şiddetli ultrasounun gentamisin ile beraber kullanımında *Escherichia coli* üzerinde etkisi (Peterson ve Pitt, 2000) ve 20 kHz şiddetindeki ultrasoundun etkisi de 45 – 60 °C sıcaklıkla beraber *Aspergillus flavus* ve *Penicillium digitatum* sporları üzerine etkisi artmaktadır (Lopez-Malo ve ark., 2005).

Kavitasyon oluşabilmesi için ultrasonik frekans değerinin 2,5 MHz' in altında olması gerekmektedir (Allinger, 1975).

Ultrasonik dalgaların amplitüdünün yükselmesi, birim zamanda patlayan kavitasyon baloncukların sayısının artışına, bu da mikrobiyal inaktivasyonun artmasına sebep olmaktadır (Suslick, 1988). Patlama yoğunluğu, yüksek basınçlarda daha kuvvetli olmasına rağmen, patlayan baloncuk sayısı daha azdır. Bu yüzden belirli bir basınç değerinin üzerinde ultrasoundun öldürücü etkisi azalmaktadır (Whillock ve Harvey 1997). Ultrasounda karşı vejetatif hücrelerin dirençlerinin farklı olmalarına rağmen, hidrostatik basınç ve amplitüd düzeyinin inaktivasyon etkisinin mikroorganizmadan bağımsız olduğu belirtilmiştir (Pagan ve ark., 1999b). Pek çok vejetatif hücrenin inaktivasyonunda basınç altında ve ısı ile uygulanan ultrasoundun additif etkili olduğu belirlenmiştir (Pagan ve ark., 1999b; Raso ve ark., 1998b). Bu şekilde kombine uygulamalar *Streptococcus faecium* ve *Bacillus subtilis* sporları üzerine sinerjistik etki sağlanmıştır (Raso ve ark., 1998a).

Çalışmalar mikrobiyal özelliklerinde ultrasound ile mikrobiyal inaktivasyonda etkili olduğunu göstermiştir. Büyük hücreli organizmaların küçük hücrelere, çubuk şekilli bakterilerin de kok türlerine göre ultrasounda karşı daha duyarlı olduğu belirtilmiştir. (Ahmed ve Russell, 1975; Jacobs ve Thornley, 1954). Gram pozitiflerin gram negatiflere göre, anaerobik türlerinde aerobiklere göre, bakteri sporlarının vejetatif hücrelere göre daha dirençli oldukları belirtilmiştir (Ahmed ve Russell, 1975; Sanz ve ark., 1985).

Vejetatif hücrelerin ultrasouna karşı farklı direncine rağmen, inaktivasyon etkisi üzerine hidrostatik basınç ve ultrasoundun amplitud etkisinin mikroorganizmadan bağımsız olduğu belirtilmiştir (Pagan ve ark., 1999b).

Çevresel faktörler içinde yer alan ortam asitliğinin, ultrasound direncinden bağımsız olduğu bazı araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Pagan ve ark., 1999a; Kinsole ve ark., 1954).

Su aktivitesindeki azalmanın ultrasounda karşı mikrobiyal direnci arttırmakta olduğu, fakat bu artışın düşük olduğu belirtilmiştir (Pagan, 1997; Alvarez ve ark., 2006).



Ultrasound sisteminin başka yöntemlerle kombine edilmesi sırasında uygulamayı etkileyen birçok faktör bulunmuştur. Bir ultrasound uygulamasının etkinliğinin, bu etkiye maruz kalan mikroorganizmanın tipine bağlı olduğu belirtilmiştir. Mikroorganizmalar, özellikle sporlar inaktivite edici etkilere karşı oldukça dirençlidir. Bu nedenle ürünün güvenliği için ultrasound uygulama süresinin uzun tutulması gerekmektedir. Ultrasound herhangi bir pratik uygulamada kullanılacaksa, basınç uygulamasıyla (manosonikasyon), sıcaklık uygulamasıyla (termosonikasyon) ya da basınç+sıcaklık (manotermosonikasyon) birlikte uygulanması gerektiği belirtilmektedir (Piyasena ve ark., 2003).

Manosonikasyon uygulamasının sıcaklık uygulaması ile eş zamanlı yapılmasının da yüksek mikrobiyal inaktivasyon sağladığı belirtilmiştir. Pek çok vejetatif hücrede manotermosonikasyon öldürücü etkisi additif düzeyde bulunmuşken, *B.subtilis* üzerinde bir sinerjistik etki gözlenmemiştir (Raso ve ark., 1998c; Pagan ve ark., 1999a).

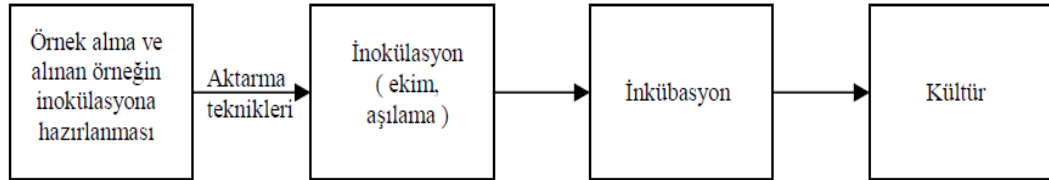
Basınç altında ultrasound ve sıcaklık uygulamasının eş zamanlı yapılması durumunda mikroorganizma ve enzim inaktivasyonu oldukça yüksektir. Bu nedenle, daha kısa süreli bir uygulama ile ya da daha düşük basınçta aynı inaktivasyon seviyesine ulaşılabilmektedir (Raso ve ark., 1998c).

## 6. BAKTERİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

### 6.1. Mikrobiyolojik Örnek Alma ve Kültür Yapma

Mikroorganizmaların laboratuvar koşullarında üretilmeleri, saf olarak elde edilmeleri, çeşitli özelliklerinin incelenmesi, biyolojik olarak ve metabolik ürünlerin elde edilmesi için çeşitli besleyici ortamlar kullanılır. Bakterilerin büyük bir çoğunluğu ve mantarlar cansız ortamlarda üretilmektedirler. Bu gibi mikroorganizmaların üretilmeleri, saf olarak elde edilmeleri, koloni ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi, biyolojik ürünlerin elde edilmesi için onları organizmanın dışında üretmek amacı ile kullanılan cansız, besleyici ortamlara besiyeri adı verilir (Temiz, 1996).

Üzerinde veya içinde mikroorganizma üretilmiş (ya da üremiş) besiyerlerine kültür denir. Besiyerinde yalnızca tek bir mikroorganizma türü üretilmiş kültürler saf kültür olarak adlandırılır. Kültür yapma (kültivasyon); mikroorganizmaların buldukları tekniklerle alınarak, uygun bir besiyerine aktarılması ve burada gelişmelerinin sağlanması aşamalarını içerir (Temiz, 1996).



Şekil 6.1. Kültür elde etme aşamaları

Kültür Elde Etme Aşamaları:

1. Örnek alma ve alınan örneğin inokülasyona hazırlanması
2. İnokülasyon (Ekim, Aşılama)
3. İnkübasyon
4. Kültür

Ancak kültür yapmadaki bu aşamalardan daha önce bir takım ön hazırlıkların gerçekleştirilmesi gereklidir. Bu amaçla yapılacak ilk işlem steril besiyerinin hazırlanmasıdır. Bunun için önce kültürü yapılacak örneğe veya incelenecek mikroorganizma ya da mikroorganizma grubuna uygun bir

besiyerinin seçimi yapılır. Daha sonraki aşamada ise, bu besiyeri usulüne uygun olarak hazırlanır ve sterilize edilerek kullanıma hazır hale getirilir (Temiz, 1996).

### **6.1.1. Örnek alma ve alınan örneğin inokülasyona hazırlanması**

Örnek alma ve alınan örneğin inokülasyona hazırlanması kültür yapmadaki en önemli aşamalardan birisidir. Her zaman olduğu gibi, bu aşamada da aseptik koşullara tümüyle uyulmalıdır. Bu amaçla, örneğin alınmasında kullanılan araç gereç ile örneğin aktarılacağı örnek kapları daha önceden sterilize edilmelidir. Örneğin alınması ve örnek kabına aktarılması anında Bunzen beki alevi altında çalışılmalıdır. Alınan örnek, çoğunlukla bir takım ön işlemlerden geçirilerek inokülasyona hazır hale getirilir. Özellikle mikrobiyolojik sayımlarda, incelenecek örneğin dilüsyonları yapılır. Dilüsyon yapma, gerçekte bir seyreltme işlemidir ve bu amaçla uygun dilüsyon sıvılarından yararlanılır (Temiz, 1996).

- Dilüsyon hazırlama işlemi:

Kültür sayım yapılacak bir örnekte her milimiltrede binlerce hatta milyonlarca mikroorganizma bulunabilir. Bu durum dikkate alınarak, genellikle incelenecek sıvı örneğin uygun seri dilüsyonları hazırlanır. Dilüsyon hazırlama, mikrobiyolojik yönden incelemeye alınan orjinal örnek içindeki mikroorganizma sayısının belli oranlarda sulandırılarak daha aza indirilmesini amaçlayan bir işlemdir. Dilüsyon yapılırken her bir deney tüpünden 1 ml örnek alınarak bir sonraki deney tüpüne aktarılır. Böylece her bir aktarmada örnek on kat seyreltilmiş olur. Dilüsyon hazırlarken dikkat edilecek en önemli konu, her aktarmada ayrı bir steril pipetin kullanılması ve aktarılacak örneğin, aktarmadan hemen önce kuvvetlice çalkalanarak homojen bir karışımın sağlanmasıdır (Temiz, 1996).

### 6.1.2. Aktarma Teknikleri ve İnokülasyon

İnokülasyon, ekim ve aşılama isimleriyle de anılmaktadır. İnokülasyon, incelenecek örneğin steril bir besiyerinin üstüne yada içine, aktarma tekniklerinden yararlanılarak, uygun bir şekilde aktarılması olayıdır. Aktarma esnasında kullanılacak olan öze ve pipet gibi gereçler mutlaka steril olmalıdır. Hiç bir şekilde, incelenecek olan örneğe veya aktarma yapılacak olan steril besiyerine sterilize edilmemiş öze veya pipet daldırılmamalıdır. Pipet kutusu içinde veya kağıda sarılı vaziyette sterilize edilmiş olan pipetler, Bunzen beki alevi altında usulüne uygun olarak çıkarılır ve bek alevinden seri bir şekilde geçirilerek aktarma işleminde kullanılır. Aktarma işlemi tamamlandıktan sonra, pipetler tekrar alevden geçirilmez; doğrudan içinde dezenfektan çözeltisi bulunan uygun bir kaba konur. Öze ise işlem bittikten sonra tekrar alevde tutularak sterilize edilir. Böylece de çalışılan bölgenin kontaminasyon riski ortadan kaldırılmış olur. Aktarma işlemleri gerçekleştirilirken, gerek aktarılacak örneği ve gerekse aktarma yapılacak steril besiyerini içeren tüp veya balon gibi cam kapların ağız kısımları, işlemler öncesi ve sonrasında ayrı ayrı olmak üzere mutlaka Bunzen beki alevinden geçirilmelidir. Bu işlem ile kapların ağız kısmındaki boşluklarda konveksiyon akımları yaratılmakta ve böylece de kapların ağız kısımlarından hava yoluyla girebilecek mikroorganizmalar uzaklaştırılabilmektedir. Aktarma tamamlandıktan sonraki alevden geçirme işlemiyle, aktarma anında kapların ağız kısımlarına herhangi bir şekilde kontamine olabilecek mikroorganizmaların yakılarak öldürülmesi de amaçlanmaktadır. Alevden geçirme anında, tüp, balon veya erlenmayer gibi kapların ağızlarındaki pamuk tıkaç usulüne uygun olarak çıkarılır. Bu esnada, pamuk tıkaç hiçbir şekilde, kontaminasyon kaynağı olabilecek yüzeylere temas ettirilmemelidir. Aktarma işlemi seri bir şekilde gerçekleştirilir. Aktarma ve inokülasyon işlemleri biter bitmez, kabın ağız kısmı alevden geçirilir ve pamuk tıkaç kabın ağızına tekrar yerleştirilir (Temiz, 1996).

### 6.1.3. İnkübasyon

Kültür elde etmedeki son aşamadır. İnkübasyon, ekim yapılmış besiyerini içeren kabın, uygun bir inkübatörde, belli bir sıcaklık derecesinde ve belli bir süre tutulması işlemidir. İnkübasyon için genellikle etüv veya su banyosu gibi inkübatörlerden yararlanır. Petri kutularının inkübasyonu için sadece etüvden yararlanır. Petri kutuları, inokülasyonları takiben, belli bir süre beklendikten sonra ters çevrilerek inkübatöre yerleştirilir. Bu durumda, petri kutusu içinde oluşabilecek su buharının kapakta kondense olup besiyerine damlama, böylece de kültürün kontaminasyonu ile olduğundan fazla sayıda veya büyük koloni oluşumu risklerinin önüne geçilmiş olur. İnkübasyon sıcaklığı ve süresi, ekim yapılan örnek veya çalışılan mikroorganizmanın özelliği ya da çalışmanın amacına göre belirlenir (Temiz, 1996).

### 6.2.Suda Mikrobiyolojik Sayım Yöntemleri

Mikrobiyolojik problemlerin çözümünde, mikroorganizma sayısı incelenen örneğin mikrobiyolojik kalite yönünden değerlendirilmesini sağlamaktadır. Birçok mikrobiyolojik sayım yöntemi geliştirilmiştir. İncelenen örneğin özelliğine göre bu yöntemlerden uygun olanı seçilir (Temiz, 1996).

Sayım sonuçları, incelenen örneğin sıvı, katı veya yüzey olmasına göre sayı/mL, sayı/g veya sayı/cm<sup>2</sup> olarak verilmektedir. Katı besiyerinde koloni sayımına dönük sayım yöntemlerinde ise sonuçlar sayı yerine cfu/mL, cfu/g veya cfu/cm<sup>2</sup> şeklinde belirtilmektedir. Sayım sonuçları mevcut standart, tüzük, yönetmelik, vb. kaynaklarda belirtilen limitlerle karşılaştırılarak, incelenen örneğin mikrobiyolojik kalitesi hakkında karara varılabilir (Temiz, 1996).

Mikrobiyolojik sayım yöntemleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir;

1.Doğrudan Sayım Yöntemleri: Mikroorganizma kolonileri veya hücrelerinin doğrudan sayıldığı yöntemdir.

- Kültürel sayım yöntemleri (canlı sayım, koloni sayımı)
- Dökme plak yöntemi
- Çift tabakalı dökme plak yöntemi
- Agar yüzeyine yayma yöntemi
- Agar damlatma yöntemi

- Dönen tüp yöntemi
  - Lam üzerinde mikroskopik sayım yöntemi
  - Membran filtre sayım yöntemi
  - Petri film sayım yöntemi
- a. Doğrudan Mikroskopik sayım yöntemleri (canlı ve ölü hücrelerin toplam sayımı)
- Thoma lamı ile sayım yöntemi
  - Petroff-Hauser lamı ile sayım yöntemi
  - Howard lamı ile küflü saha sayımı
  - Breed'in yayma yöntemi
  - Membran filtre yöntemi
  - Floresan mikroskobu yöntemleri
- b. Flow sitometri (canlı ve ölü hücrelerin toplam sayımı)
2. Dolaylı Sayım Yöntemleri
- a. En muhtemel sayı yöntemi
- b. Tüp dilüsyon yöntemi
- c. Türbidimetrik sayım yöntemi
- d. Hücre içeriğindeki belirli bazı maddeleri belirleme prensibine dayalı sayım yöntemleri
- e. Kuru madde tayinine dayalı sayım yöntemi
- f. Toplam sediment miktarı tayinine dayalı sayım yöntemi
- g. McFarland yöntemi
- h. Metabolik aktiviteye dayalı sayım yöntemleri
- Renk maddeleri indirgenmesine dayalı sayım yöntemleri
  - Empedans ölçümüne dayalı sayım yöntemleri
  - Mikrokolorimetri (Temiz, 1996).

Mikrobiyolojik sayım yöntemlerinin bu çeşitliliğine rağmen, bunların tümü sık olarak kullanılmamaktadır. En yaygın olarak kullanılanlar, dökme plak yöntemi, agar yüzeyine yayma yöntemi, direkt mikroskopik sayı yöntemleri, en muhtemel sayı yöntemi, renk maddeleri indirgenme testleri, türbidimetrik yöntemlerdir (Temiz, 1996).

### 6.2.1.Kültürel Sayım Yöntemi

Bu yöntemlerde katı besiyerleri kullanılmakta ve inkübasyonu takiben, besiyerinde gelişen mikroorganizma kolonileri sayılarak sonuca gidilmektedir. Bu nedenle kültürel sayım yöntemleri koloni sayımı olarak da adlandırılabilir. İncelenen örnekte yalnızca canlı mikroorganizmalar sayıldığından, bu sayımlar canlı sayım olarak da isimlendirilir (Temiz, 1996).

Kültürel sayım yöntemlerinde, ilk aşamada sayım yapılacak örneğin ekimlere hazırlanması gerekir. Daha sonra örneğin uygun seri dilüsyonları hazırlanarak uygun agarlı bir besiyerine ekimleri gerçekleştirilir. En son aşamada ise inkübasyon işlemine geçilir. İnkübasyon sonrası, canlı bir bakteri katı bir besiyerinde bir koloniye eşdeğerdir varsayımından hareketle koloniler sayılır. Toplam sayımın dilüsyon faktörü ile çarpılmasıyla elde edilen sonuç incelenen örneğin özelliğine göre cfu/mL, cfu/g veya cfu/cm<sup>2</sup> olarak verilir (Temiz, 1996).

Dökme plak yöntemiyle kültürel sayım yöntemi; incelemeye alınan örnekteki canlı mikroorganizmaları saymayı amaçlayan bir yöntemdir. Dökme plak yöntemi, petri kutuları ve katı besiyerleri kullanılarak gerçekleştirilir. İncelenecek örnek homojen hale getirilir ve dilüsyon serileri hazırlanır. Ekim yapılacak dilüsyonlar belirlenir. Sterilize edilmiş petri kutularına, steril pipet ile seçilen dilüsyondan 1 mL aktarılır. Çalışmalar üç paralel çalışmaya olacak şekilde yapılmalıdır. Vakit geçirilmeden her bir petriye 15-20 mL eritilmiş ve 44-48°C'ye soğutulmuş steril katı bir besiyeri dökülür. Agar katılaşmadan hemen, petri kutularına düz bir yüzey üzerinde sekiz hareketi çizdirilerek örnek ile besiyerinin homojen karışımı sağlanır ve agarın katılaşması beklenir. Aynı besiyeri sterilize kontrolü için, steril iki tane boş petri kutusuna dökülür ve agarın katılaşması beklenir. Petri kutuları ters çevrilerek, sıcaklığı ayarlanmış ve istenilen sıcaklığa erişmiş bir inkübatöre yerleştirilir. İnkübasyon sonunda 50-500 koloni içeren petri kutular sayıma alınır (Temiz, 1996).

$$\text{cfu/mL} = \text{sayım sonucu} \times \text{dilüsyon faktörü} \quad (5.1)$$

Yüzeğe yayma yöntemiyle kültürel sayım işleminde; yüzeğe yayma yönteminin uygulaması basit ve kolaydır. Petri kutusuna agarlı besiyeri dökülürken oluşabilecek hava kabarcıkları ekim öncesi steril bir iğne öze ile ortadan kaldırılır (Temiz, 1996).

Bu yöntemde, yaklaşık 50°C'deki erimiş steril agarlı besiyeri, aseptik koşullarda steril petri kutularına 15-20 ml miktarda dökülür. Agarın katılaşmasından sonra petri kutuları etüvde kurutulur, agar yüzeyinin kuru olması çok önemlidir. İncelenecek dilüsyondan veya sıvı örnekten belli bir miktarda alınarak kuru agar yüzeyine aktarılır ve steril dragalski özesi ile yayılır. Dragalski özesi her kullanımdan hemen önce alkole daldırılır ve daha sonra bunzen beki alevinden geçirilir ve alkolün yanıp uzaklaşması sağlanır. Öze ekim öncesinde besiyerinin boş kısmına değdirilerek soğutulur. Ekimler yine üç paralel olacak şekilde yapılır. Ekim yapılan petri kutuları 10-15 dakika bekletilir ve daha sonra inkübasyona alınır. Bekletmenin amacı, besiyerinin inokulumu absorblamasının sağlamasıdır (Temiz, 1996).

### **6.2.2.Dolaylı Sayım Yöntemleri**

Mikroorganizmaların belirli bazı hücresel özellikleri, metabolik faaliyetleri, bulanıklık gibi besiyerinde oluşturduğu değişiklikler dikkate alınarak dolaylı bir şekilde mikroorganizma sayılarının belirlenmesi ya da tahmin edilmesine yönelik yöntemlerdir. Bu yöntemlerde ilk aşamada standartlar oluşturulmakta, daha sonra alınan sonuçlar bu standartlarla karşılaştırılarak mikroorganizma sayıları belirlenmektedir (Temiz, 1996).

Dolaylı sayım yöntemleri içinde yer alan türbidimetrik sayım yöntemlerinde spektrofotometre veya kolorimetreden yararlanılmaktadır. Yöntem, incelenecek olan sıvı örnekte mikroorganizma sayısı ne kadar çoksa, bu sıvının bulanıklığı da o kadar çok olacaktır prensibine dayanmaktadır (Temiz, 1996).

Türbidimetrik sayım yöntemlerinde, kendisi fazlaca bulanık olmayan sıvı besiyerleri tercih edilmelidir. Bir mikroorganizmanın ışınları tutma gücü, onun büyüklüğüne, şekline ve şeffaflık derecesine bağlıdır (Temiz, 1996).

Saf bir mikroorganizma kültüründeki mikroorganizma sayısının belirlenmesi için, ilk aşamada bu mikroorganizmanın farklı derişimlerdeki



süspansiyonları kullanılarak standart bir mikroorganizma derişimi-ışık yoğunluğu eğrisi hazırlanır. Daha sonra mikroorganizma sayısı belirlenecek örneğin ışık yoğunluğu belirlenir ve standart eğride bu değere karşılık gelen mikroorganizma sayısı bulunur (Temiz, 1996).

Mcfarland yönteminde ise; baryum klorür ile sülfirik asit karıştırılınca meydana gelen baryum sülfat, ortamda opal renkli bir bulanıklık oluşturmaktadır. Baryum klorür ile sülfirik asit oranlarının değiştirilmesiyle farklı bulanıklıkta çözeltiler oluşmakta olup, bunlara karşılı gelen bakteri sayısı da, bulanıklığın artması ile doğru orantılı olarak artmaktadır (Temiz, 1996).

## 7.KONU İLE İLGİLİ ÖNCEDEDEN YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Literatür taraması yapılarak konuyla ilgili önceden yapılmış çalışmalar incelenmiştir.

Mason ve arkadaşları (2003) suyun biyolojik olarak dekontaminasyonunda olası ultrasound kullanımlarını çalışmışlardır. Eskiden endüstrilerdeki hakim olan endüstriyel ölçekte atıksu arıtımı için ultrasound kullanımının çok maliyetli olacağı yönünde düşünce, su ve atıksu arıtma tesislerinin işletilmesinde bazı ultrasonik sistemlerin kullanılmaya başlamasıyla değişmiştir. Bu çalışmada da bakteriyel büyüme üzerinde ultrasound ve klorlamanın ayrı ayrı ve birlikte etkileri incelenmiştir.

Blume ve Neis (2003) ultrasonik ön arıtım ile geliştirilmiş atıksu dezenfeksiyonu çalışmışlardır. Düşük yoğunlukta (30 W/l) 20s ultrasound uygulaması atıksu örneklerinin partikül boyut dağılımını değiştirmiştir, ortalama partikül yarıçapı 70 µm'den 11 µm'ye düşmüştür. Beklendiği gibi partikül boyut dağılımındaki bu değişim UV'nin dezenfeksiyon verimini etkilemiştir. İkincil arıtmıdan gelen suyun tek başına UV ile arıtımı fekal koliformlarda 2,5 log units'lik bir azalma sağlarken sonikasyon ile ön arıtım dezenfeksiyon verimini açık bir şekilde arttırmaktadır. Ön arıtım yapıldığında cfu konsantrasyonundaki azalma 3,3 ile 3,7 log units arasında değişmiştir. Bir ultrasound basamağı uygulaması maliyet verimliliği açısından da yararlı olabilir.

Phull ve arkadaşlarının (1997) yaptığı çalışmada mikroorganizmaların giderilmesinde ultrasoundun etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlar su dezenfeksiyonu için ultrasoundun verimli bir şekilde kullanılabileceği ve çeşitli avantajlarının olduğu göstermektedir. Klor ile birlikte kullanıldığında su örneklerinde bulunan bakteri sayısını önemli bir şekilde azaltmıştır. Aynı zamanda ultrasound kullanımı dezenfeksiyon için gerekli klor miktarını da azaltmıştır.

Joyce ve arkadaşları (2003) bakteriyel süspansiyonların arıtımında ultrasound ile çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmada amaç farklı güç ve frekanslarda ultrasound kullanılarak bunun *Bacillus subtilis* üzerindeki etkisini araştırmaktır. 20 ve 38 kHz'de yapılan düşük frekanslı çalışmalarda sonuçlar

*Basillus* türlerindeki ölüm yüzdesinde önemli bir artış göstermiştir. Çalışmada mikrobiyal aktivitenin ölçülmesi için canlı hücre sayım tekniği kullanılmıştır.

Scherba ve ark. (1991) sulu bir çözeltide, 24 kHz frekansta ve farklı ses yoğunluğundaki ultrasoundun, *E.coli* inaktivasyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Ultrasounda maruz kalma süresi arttıkça, bakteri popülasyonundaki azalma artmış, ancak ses yoğunluğunun artırılmasının ölüm oranını etkilemediğini bildirmişlerdir.

*E.coli*'nin biyofilmlerde ultrasound ile inaktive edilmesinin gıda ve su endüstrilerinde yararlı olabileceği düşünülmektedir (Johnson ve ark., 1998; Rediske ve ark., 1999; İnce ve Belen, 2001). Johnson ve ark. (1998) 70kHz'lik ultrasound uygulamasıyla bir antibiyotik (gentamisin sulfat) kombinasyonunun biyofilmdeki *E.coli* sayısının 2 saatte %97 azalttığını göstermişlerdir.

Limaye ve Coakley de (1998) *E.coli* ve *Saccharomyces cerevisiae*'yi, 1 veya 3 MHz ultrasound kullanarak sırasıyla 4.5 ve 11.5 dk'da, %95.5 oranında konsantre etmişlerdir.

İnce ve Belen (2001) deiyonize suda *E.coli* konsantrasyonunun 20kHz ultrasonikasyonla azaldığını göstermişlerdir, ayrıca eklenen katı maddelerle (seramik granülleri, metalik çinko partikülleri ve aktif karbon) *E.coli* inaktivasyonu artırılmıştır. En etkili materyalin, aktif yüzeyi nedeniyle aktif karbon olduğu kaydedilmiştir. Bu partiküllerin sonikasyon esnasında kavitasyonu da arttırdığı belirtilmiştir (Jimenez-Munguia ve ark., 2001).

Hulmans ve arkadaşları (2010), ultrasound su dezenfeksiyon sistemleri üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Yüksek akış hızı, yüksek güç ve yüksek enerji ile daha hızlı bakteri giderimleri ile istenen bakteri derişimleri elde edilmiştir.

Su dezenfeksiyonunda sıklıkla kullanılan ultrasound uygulamaları kapsamında, gerçekleştirilen farklı çalışmaların, deney koşulları ve önemli sonuçlarını içeren bir literatür taraması Çizelge 6.1.'de gösterilmektedir:

**Çizelge 6.1.** Su dezenfeksiyon proseslerinde kullanılan farklı ultrasound çalışmaları

Dezenfeksiyon işlemi	İnaktive edilen mikroorganizma	Deney şartları	İşlem süresi	Giderim verimi (%)	Kaynak
US	<i>Cryptosporidium Parvum oocysts</i>	1MHz, 4.1W	2.4	87.8	Olvera ve ark. 2008
US	<i>Esheria coli</i>	24 kHz, 160W	120	92.3	Paleologou ve ark. 2007
US+ 25-50mg/l H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>Esheria coli</i>	24 kHz, 160W	120	99,99	Paleologou ve ark. 2007
US	<i>Esheria coli XLI- Blue</i>	27.5 kHz, 42w/mL	3	99	Furuta ve ark. 2004
US+ Elektroliz	<i>Klebsiella pneumonia</i>	40kHz	15	100	Joyce ve ark. 2003
US	<i>B.subtilus</i>	27kHz, 300W	60	96	Mason ve ark. 2003

## 8.DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Gerçekleştirilen bu yüksek lisans çalışmasında ultrasound ortamında *Escherichia coli* dezenfeksiyonuna sistem parametrelerinin yarattığı etkiler belirlenmiştir. Çalışmalarda kullanılan *Escherichia coli* Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi'nden temin edilmiştir. Ultrasonik reaktör ile yapılan çalışmalar 28, 45 ve 100 kHz frekanslarda ve üç frekansın sırayla verildiği ardışık frekans (multi frekans) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar steril kabin (Heraeus KSP-18 ClassII) içinde ortam sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Su dezenfeksiyon çalışmalarında kullanılan çözelti, steril edilmiş distile suya farklı derişimlerde *Escherichia coli* eklenerek elde edilmiştir. Farklı başlangıç derişimleri, bir gün önceden hazırlanan bakteri kültüründen belli seyreltmeler yapılarak uygun miktarlarının çözeltiye eklenmesi ile elde edilmektedir. Çalışmalar 100 mL çözelti ile başlangıç çalışma çözeltilisinden ve işlem boyunca belirli zaman aralıklarında reaktörden örnekler alınarak yapılmıştır. Alınan örnekler nütrient agar katı besi ortamlarına ekim yapılmış ve bakterilerin gelişmesi için nütrient agarda 37 °C' de inkübe edilmiştir. Uygun süre ve sıcaklıkta inkübe edildikten sonra gelişen koloniler sayılmıştır.

### 8.1. Deney Düzenegi

Çalışmalarda kullanılan ultrasonik reaktör, 28, 45, ve 100 kHz frekanslarda ses üreten iki adet transducer bulunduran bir sistemdir. Ultrasonik reaktör Şekil 8.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 8.1. Ultrasonik reaktör

## 8.2. Farklı Ultrasonik Frekans Değerlerinin Etkisinin İncelenmesi

$1 \times 10^5$  cfu/mL başlangıç bakteri derişimlerinde gerçekleştirilen çalışmada farklı frekansların yarattığı etkiler incelenmiştir. Deneşlerde kullanılan bakteri giderimine en etkili olacak frekans değeri belirlenmiştir. 100 mL distile suya  $1 \times 10^5$  cfu/mL derişimlerde bakteri eklenerek hazırlanan çalışma çözeltisi ile 28, 45 ve 100 kHz ve ardışık frekanslarda ultrasonik reaktörde çalışılmıştır. Başlangıç ve 10 dakika ara ile alınan örneklerin gerekli dilüsyonları yapılarak katı besiyerine ekilmiş ve  $37^\circ\text{C}$  de inkübe edilmiştir. Ekim yapılan petri ler sayılarak bakteri miktarındaki azalma belirlenmiştir.

## 8.3. Suda Eşlik Eden Çeşitli Ortam İyonlarının Etkisinin İncelenmesi

Çalışmada  $1 \times 10^5$  cfu/mL başlangıç bakteri derişiminde, 100 mL çalışma çözeltisi ile 28 kHz ultrasonik frekansta 200 mg/L  $\text{SO}_4^{-2}$ , 100 mg/L  $\text{SO}_4^{-2}$ , 50 mg/L  $\text{HCO}_3^-$ , 25 mg/L  $\text{HCO}_3^-$ , 25 mg/L  $\text{NO}_3^-$  ve 50 mg/L  $\text{NO}_3^-$  iyonlarının ultrasonik sisteme etkisi incelenmiştir. Başlangıç ve 10 dakika ara ile alınan örneklerin gerekli dilüsyonları yapılarak katı besiyerine ekilmiş ve  $37^\circ\text{C}$  de inkübe edilmiştir. Ekim yapılan petri ler sayılarak bakteri miktarındaki azalma belirlenmiştir.

## 8.4. Ultrasonik Ortama İlave edilen Azot Gazının Etkisinin İncelenmesi

Başlangıç hücre derişimi  $1 \times 10^5$  cfu/mL ve farklı akış hızlarında (8 L/h, 12 L/h, 16 L/h) sisteme ilave edilen azot gazının ultrasonik ortamdaki etkileri incelenmiştir. Başlangıç ve 10 dakika ara ile alınan örneklerin gerekli dilüsyonları yapılarak katı besiyerine ekilmiş ve  $37^\circ\text{C}$  de inkübe edilmiştir. Ekim yapılan petri ler sayılarak bakteri miktarındaki azalma belirlenmiştir.

### **8.5. Hidrojen Peroksitin Ultrasonik Ortamdaki Etkisinin İncelenmesi**

Başlangıç hücre derişimi  $1 \times 10^5$  cfu/mL olan, farklı derişimlerde (5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L) sisteme ilave edilen hidrojen peroksitin ultrasonik ortamda ve yalnız başına bakteri çözeltilisinde yarattığı etkiler incelenmiştir. Başlangıç ve 10 dakika ara ile alınan örneklerin gerekli dilüsyonları yapılarak katı besiyerine ekilmiş ve 37°C 'de inkübe edilmiştir. Ekim yapılan petriyeler sayılarak bakteri miktarındaki azalma belirlenmiştir.

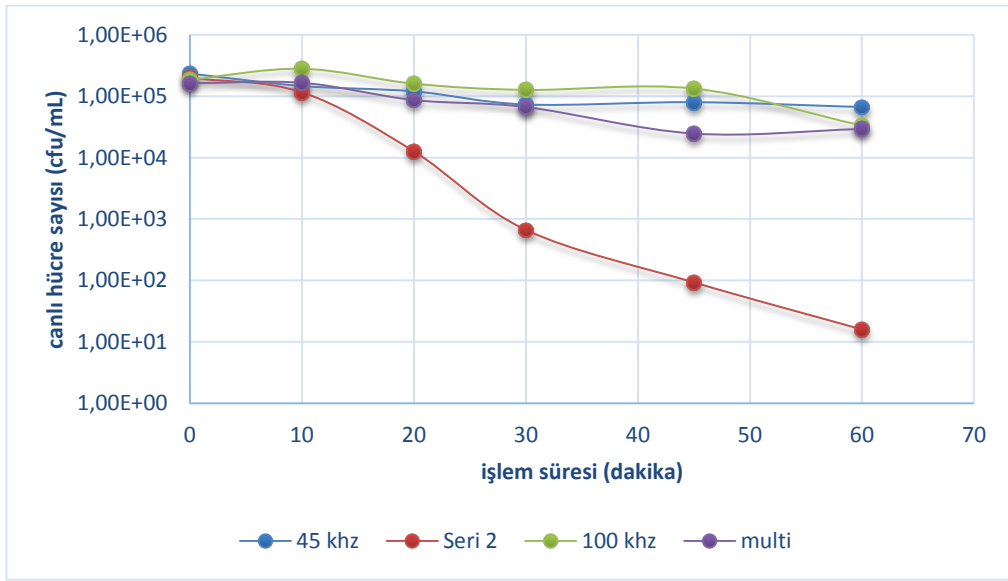
### **8.6. Ortam İyonları, Hidrojen Peroksit ve Azot Gazı Varlığının Ultrasonik Ortamdaki Etkilerinin İncelenmesi**

Başlangıç hücre derişimi  $1 \times 10^5$  cfu/mL olan ve ultrasound ortamına ilave edilen 200 mg/L  $SO_4^{-2}$ , 50 mg/L  $HCO_3^{-}$ , 50 mg/L  $NO_3^{-}$  ortam iyonlarının, 10 mg/L  $H_2O_2$  ve 16 L/h akış hızına sahip azot gazının sistemde yarattığı etkiler incelenmiştir. Başlangıç ve 10 dakika ara ile alınan örneklerin gerekli dilüsyonları yapılarak katı besi yerine ekilmiş ve 37°C de inkübe edilmiştir. Ekim yapılan petriyeler sayılarak bakteri miktarındaki azalma belirlenmiştir

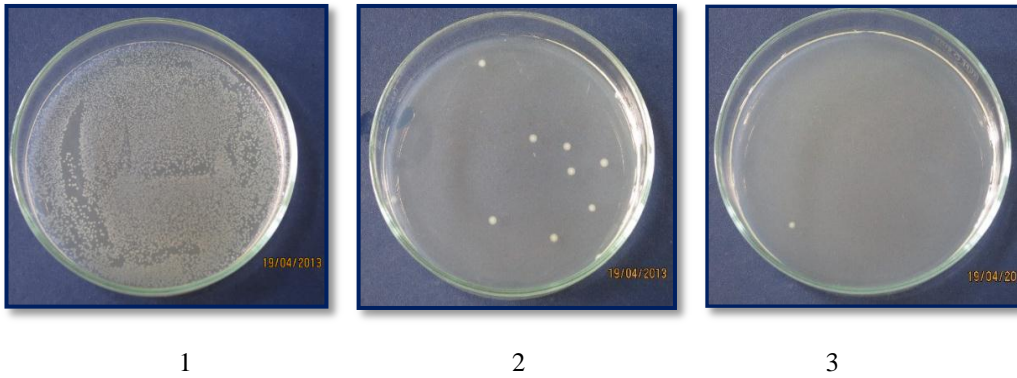
## 9. DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI

### 9.1. Farklı Ultrasonik Frekans Değerlerinin Etkisinin İncelenmesi

$1 \times 10^5$  cfu/mL başlangıç bakteri derişimlerinde gerçekleştirilen farklı frekans etkisinin incelendiği çalışmanın sonuçları Şekil 9.1.'de verilmektedir. En iyi bakteri giderimi sağlayan frekans değeri olan 28 kHz ile yapılan çalışma ile elde edilen mikroorganizma sayıları Şekil 9.2.'de gösterilmektedir.



Şekil 9.1.  $1 \times 10^5$  cfu/mL başlangıç bakteri derişiminde farklı ultrasonik frekansların etkisi

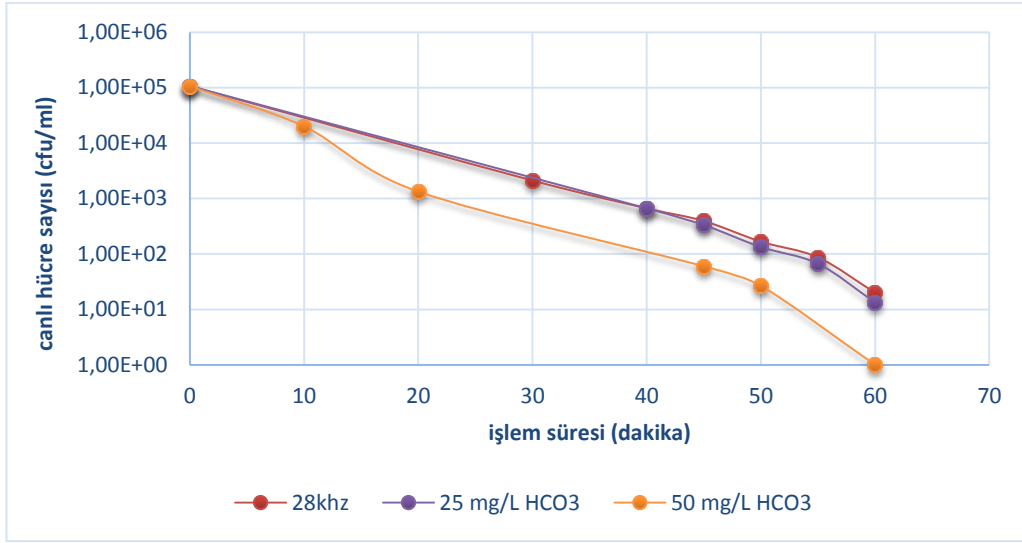


Şekil 9.2. (1) Ultrasonik reaktör çalıştırılmadan önceki mikroorganizma sayısı, (2) 20dakika çalıştırılması sonrası mikroorganizma sayısı, (3) 60dakika çalıştırılması sonrası mikroorganizma sayısı

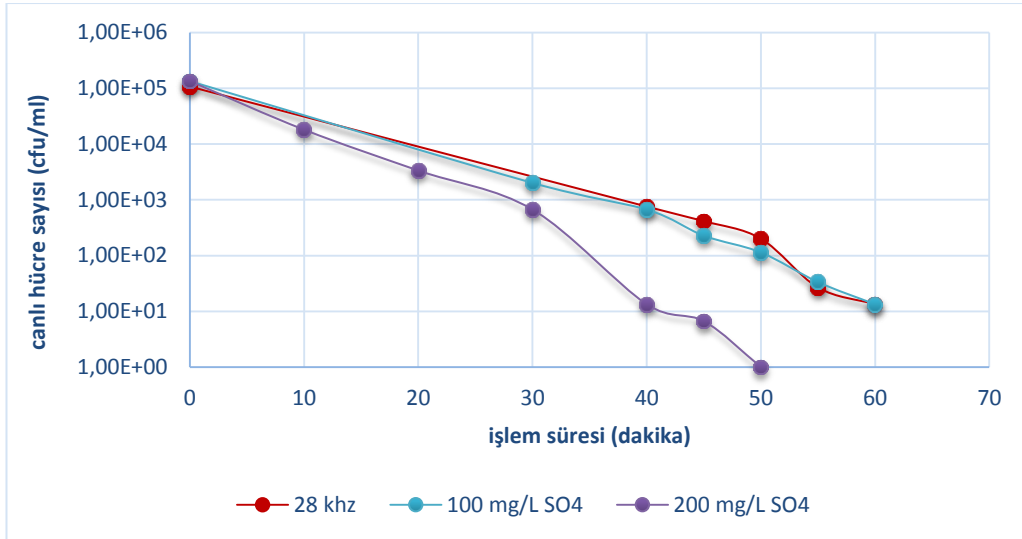


## 9.2. Suda Eşlik Eden Çeşitli Ortam İyonlarının Etkisinin İncelenmesi

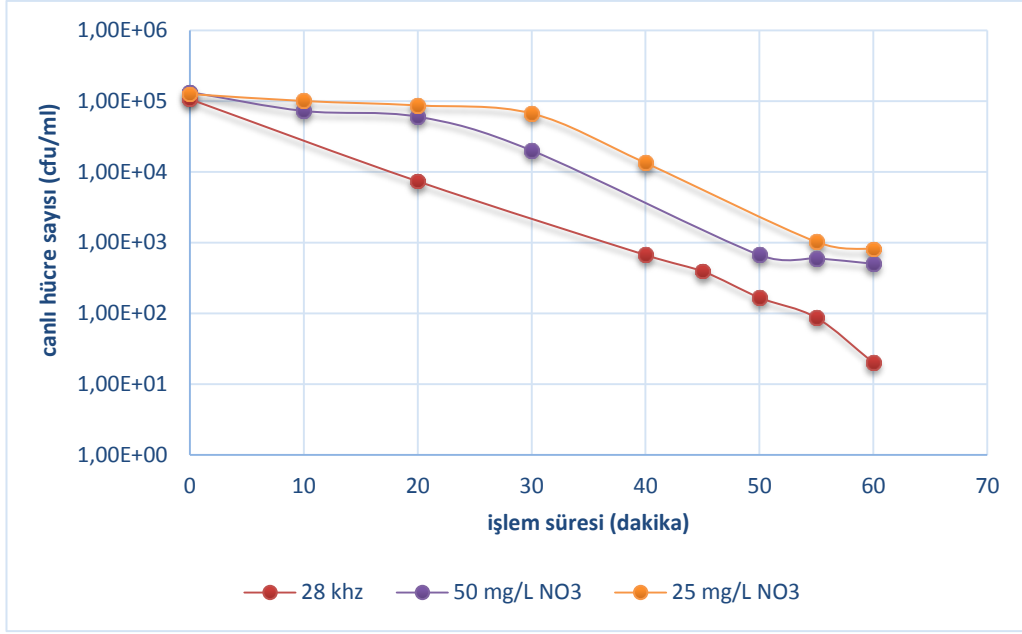
Suda eşlik eden çeşitli ortam iyonlarının,  $1 \times 10^5$  cfu/mL başlangıç bakteri derişimlerine farklı derişimlerde ayrı ayrı ve birlikte ( $200 \text{ mg/L SO}_4^{-2}$ ,  $100 \text{ mg/L SO}_4^{-2}$ ,  $50 \text{ mg/L HCO}_3^-$ ,  $25 \text{ mg/L HCO}_3^-$ ,  $25 \text{ mg/L NO}_3^-$  ve  $50 \text{ mg/L NO}_3^-$ ) ultrasonik sisteme etkisi ile ilgili sonuçlar Şekil 9.3. , Şekil 9.4. , Şekil 9.5. ve Şekil 9.6.'da verilmiştir.



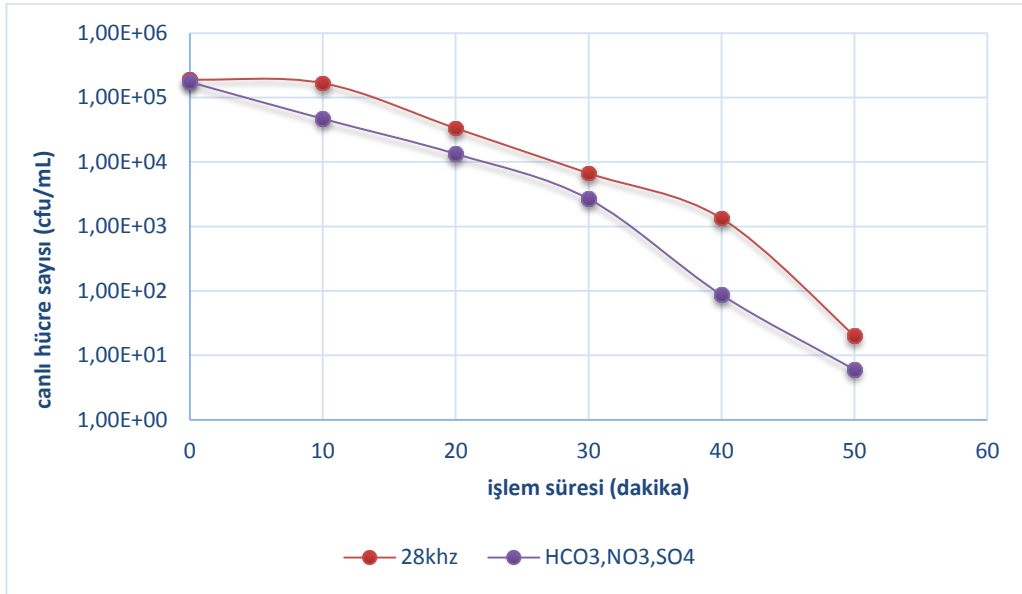
Şekil 9.3. Farklı derişimlerdeki HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonunun ultrasonik sisteme etkisi



Şekil 9.4. Farklı derişimlerdeki SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> iyonlarının ultrasonik sisteme etkisi



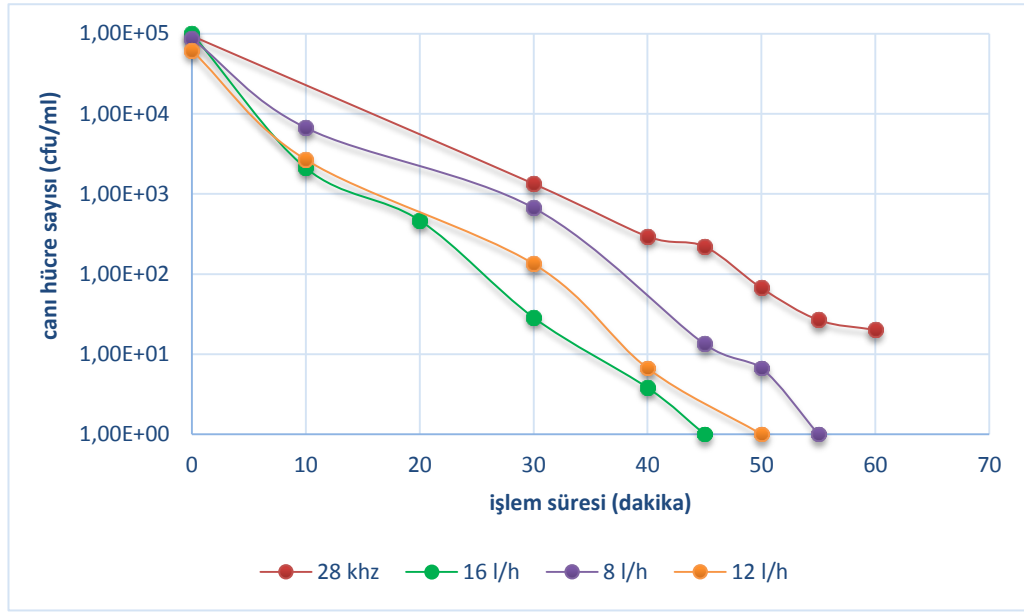
Şekil 9. 5. Farklı derişimlerdeki NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonunun ultrasonik sisteme etkisi



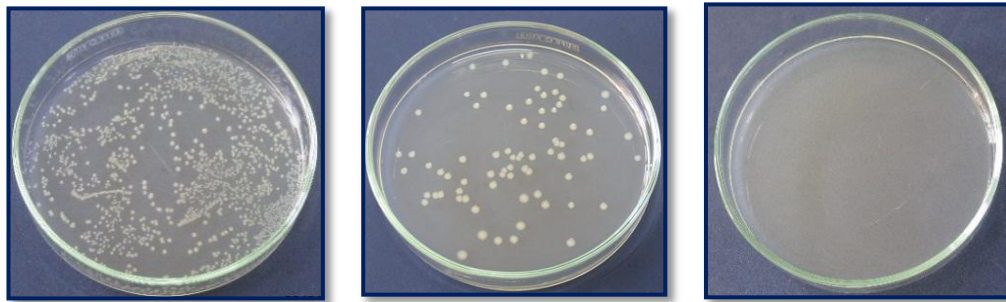
Şekil 9. 6. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonlarının birlikte ultrasonik sisteme etkisi

### 9.3.Ultrasonik Ortama İlave edilen Azot Gazının Etkisinin İncelenmesi

Başlangıç hücre derişimi  $10^5$  cfu/mL olan ve farklı akış hızlarında (8 L/h, 12 L/h, 16 L/h) sisteme ilave edilen azot gazını içeren çalışma çözeltilisine 28 kHz frekansta ultrasonik güç uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 9.7.'de gösterilmektedir. Azot gazı ilavesi ile elde edilen mikroorganizma sayıları Şekil 9.8.'de verilmiştir.



Şekil 9.7. 28 kHz'de farklı akış hızlarındaki azot gazının etkisi



1

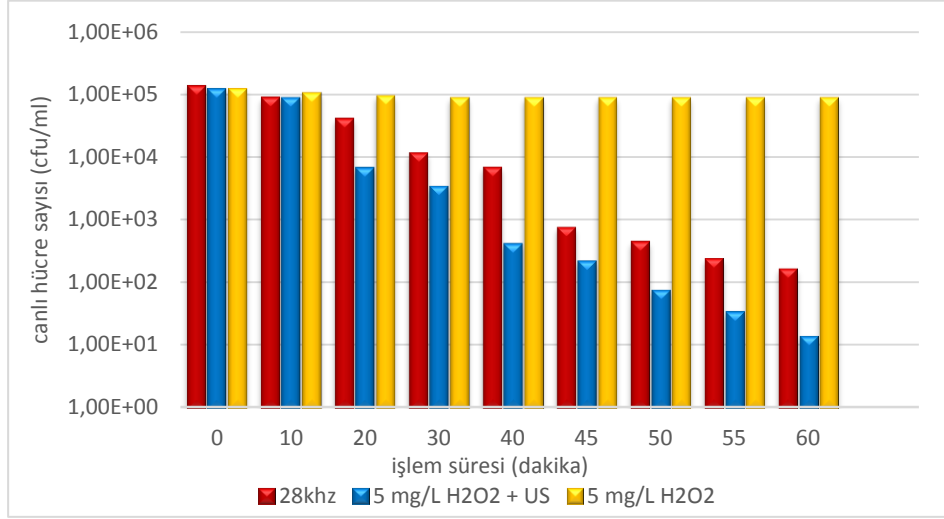
2

3

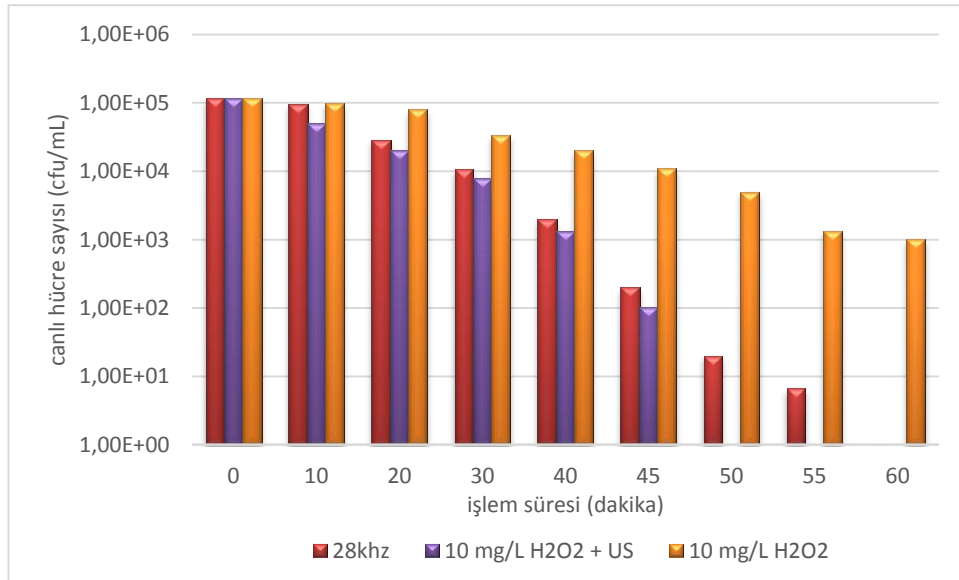
Şekil 9.8. (1) Azot gazı ilavesi öncesi mikroorganizma sayısı, (2) 20 dakika sonunda mikroorganizma sayısı, (3) 60 dakika sonunda mikroorganizma sayısı

#### 9.4. Hidrojen Peroksitin Ultrasonik Ortamdaki Etkisinin İncelenmesi

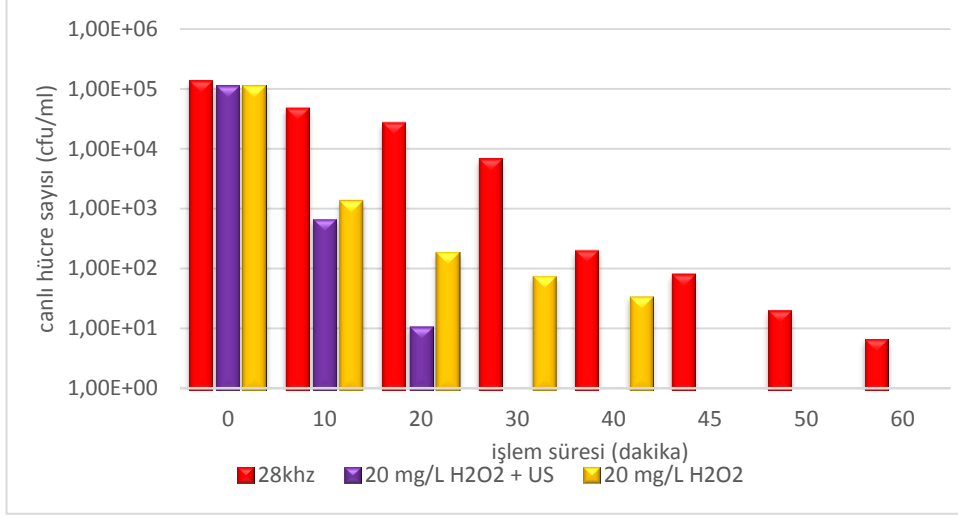
Başlangıç hücre derişimi  $1 \times 10^5$  cfu/mL olan, farklı derişimlerde (5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L) sisteme ilave edilen hidrojen peroksitin ultrasonik ortamda ve yalnız başına yarattığı etkiler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 9.9. , Şekil 9.10. ve Şekil 9.11.'de verilmiştir.



Şekil 9.9. 5 mg/L hidrojen peroksitin 28 kHz ultrasonik ortamda ve yalnız başına etkisi



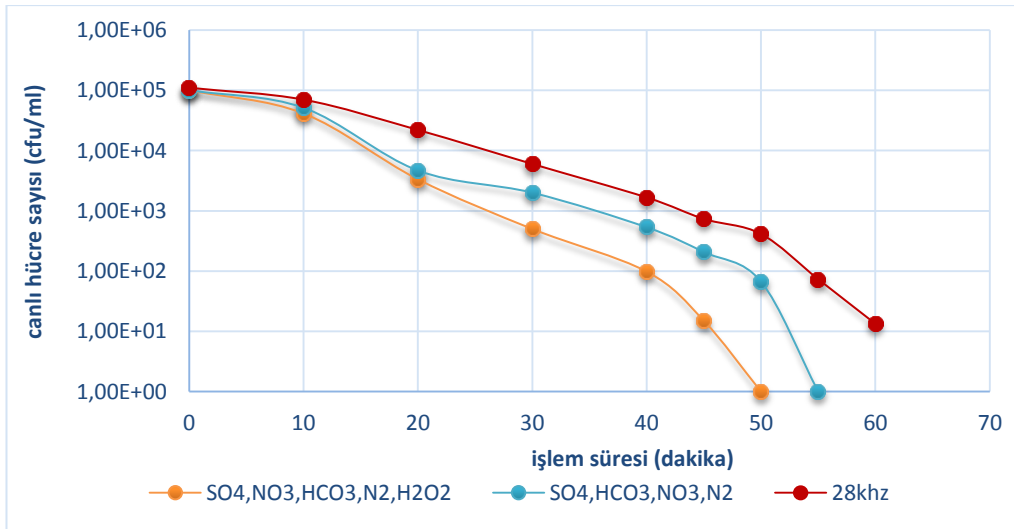
Şekil 9.10. 10 mg/L hidrojen peroksitin 28 kHz ultrasonik ortamda ve yalnız başına etkisi



Şekil 9.11. 20 mg/L hidrojen peroksitin 28 kHz ultrasonik ortamda ve yalnız başına etkisi

### 9.5. Ortam İyonları, Hidrojen Peroksit ve Azot Gazı Varlığının Ultrasonik Ortamdaki Etkilerinin İncelenmesi

Başlangıç hücre derişimi  $1 \times 10^5$  cfu/mL olan ve ultrasound ortamına ilave edilen 200 mg/L  $\text{SO}_4^{2-}$ , 50 mg/L  $\text{HCO}_3^-$ , 50 mg/L  $\text{NO}_3^-$  ortam iyonlarının, 10 mg/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve 16 L/h akış hızına sahip azot gazının sistemde yarattığı etkiler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 9.12.'de verilmiştir.



Şekil 9.12. 200 mg/L  $\text{SO}_4^{2-}$ , 50 mg/L  $\text{HCO}_3^-$ , 50 mg/L  $\text{NO}_3^-$ , 10 mg/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve 16 L/h  $\text{N}_2$  gazının sisteme etkisi

## 10. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Başlangıç hücre derişimi  $1 \times 10^5$  cfu/mL olan çalışma çözeltileri ile gerçekleştirilen deneylerde, farklı frekans uygulamalarının farklı etkileri gözlenmiştir. En iyi mikroorganizma giderimi 28 kHz frekans değerinde görülmektedir (Şekil 9.1., Şekil 9.2. ).

Sisteme eşlik eden iyonların kavitasyon başlatıcı zayıf noktaları meydana getirmesi ile daha çok miktarda kavitasyon oluşturduğu bilinmektedir. Ultrasonik reaktör sisteminde  $SO_4^{2-}$  ve  $HCO_3^-$  iyonları için derişim arttıkça mikroorganizma inaktivasyonunda artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 9.3., Şekil 9.4.).  $NO_3^-$  iyonunun varlığı ise, ultrasoundun inaktivasyon verimine etkisi görülmemiştir (Şekil 9.5.). Üç iyonun en yüksek derişimlerinin ultrasonik sisteme ilavesinin mikroorganizma inaktivasyonunu olumlu yönde etkilediği görülmektedir (Şekil 9.6.).

Farklı akış hızlarında ultrasonik sisteme ilave edilen azot gazının akış hızı arttıkça daha fazla mikroorganizma dezenfeksiyonu sağladığı kaydedilmiştir (Şekil 9.7. ve Şekil 9.8.).

Başlangıç hücre derişimi  $1 \times 10^5$  cfu/mL olan ve farklı derişimlerde (5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L) sisteme ilave edilen hidrojen peroksitin, ultrasonik ortamda ve yalnız başına uygulandığında oluşturduğu etkileri incelenmiştir. Hidrojen peroksit derişimi arttıkça mikroorganizma inaktivasyonu artmıştır. (Şekil 9.9. ve Şekil 9.10.) En iyi mikroorganizma giderimi 20 mg/L derişime sahip hidrojen peroksit ilave edilen sistemde elde edilmiştir. (Şekil 9.11.)

Ultrasound ortamında  $1 \times 10^5$  cfu/mL hücre derişimine sahip çözeltilere, tüm sistem parametrelerinin aynı anda uygulandığında, yalnız ultrasound etkisinden daha kısa sürede mikroorganizma dezenfeksiyonu sağladığı görülmektedir (Şekil 9.12.)

## 11. ÖNERİLER ve TARTIŞMALAR

Yapılan çalışmalarda ultrasonik ortamda sistem parametrelerinin *Esherichia coli* dezenfeksiyonuna etkileri üzerine çalışılmış, hedeflenen mikroorganizma inaktivasyon verimlerine ulaşılmıştır. Ultrasonik sistemde farklı farklı frekansların, ortamda bulunabilecek iyonların, ilave edilen hidrojen peroksit ve azot gazının mikroorganizma giderim performansına olumlu veya olumsuz olan etkileri incelenmiştir. Tez ile ultrasound sisteminde mikroorganizma giderimine etkili olabilecek birçok parametre incelenmiş, literatüre katkı sağlayacak veriler elde edilmiştir. Bu konu ile ilgili çalışmanın içme ve kullanma suyu artımında önemli bir gelişme olacağı ve ulusal kazanımlar sağlayacağı açıktır.

Çalışma ile içme ve kullanma suyunun ultrasound ile mikrobiyolojik olarak arıtılabileceği sonucuna varılmıştır. Ultrasonik sistemin tek başına veya hibrit olarak çalıştırılması ile çok daha yüksek verimlerde mikroorganizma inaktivasyonu sağlanabileceği söylenebilir.

Yapılan çalışmalar küçük ölçekli (laboratuar ortamında) gerçekleştirilmiş olup bu çalışmaların pilot ölçekli ve daha büyük sistemlerde denemesi bu çalışma sonucunda önerilebilir. Ayrıca hedeflenen su ortamında bulunabilecek spesifik mikroorganizmalar için ayrı çalışmalar ile ultrasound sisteminde test edilmesi bir başka öneri olarak düşünülebilir.

## 12.KAYNAKLAR

- Ahmed, F.I.K. ve Russell, C., (1975), “Synergism between ultrasonic waves and hydrogen peroxide in the killing of microorganisms”, *Journal of Applied Bacteriology*, **39**, 31-41.
- Allinger, H., (1975), “Ultrasonic disruption”, *American Laboratory*, **10**, 75–85.
- Alvarez, I., Manas, P. ve Condon S., (2006), “Inactivation of Salmonella softenberg 775W by ultrasonic waves under pressure at different water activities”, *International Journal Food Microbiology*, **108**, 218-225.
- Anonymus, (2000), *Food and Drug Administration Report Kinetics of Microbial*.
- Bilgehan, H., (1993), *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, Barış Yayınları.
- Blume, N., Neis, U., (2003), “Improved wastewater disinfection by ultrasonic pre-treatment”, *Ultrasonics Sonochemistry*, **11**, 333 – 336.
- Çiçek, A., (2006), *Çevre Sağlığı*, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Ön Lisans Programı, 5.Baskı, Eskişehir.
- Çil, S., (2007), *Escherichia coli'nin sonikasyonla inaktivasyonuna farklı amplitüd, pH ve sıcaklığın etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- D’Amico, D.J., Silk, T.M., Wu, J. ve Guo, M., (2006), “Inactivation of microorganism in milk and apple cider treated with ultrasound”, *Journal of Food Protection*, **69**, 556-563.
- Evans Jr. DJ. ve Evans DG., (1990), “Colonization factor antigens of human pathogens”, *Current Topics Microbiol Immunol*, **151**, 129.
- Furuta, M., Yamaguchi, M., Tsukamoto, T., Yim, B., Stavarache, C.E., Hasiba, K., Maeda, Y., (2004), “Inactivation of Escherichia coli by ultrasonic irradiation”, *Ultrasonics Sonochemistry*, **11**(2), 57-60.
- Hulmans, A., Joris, K., Lambert, N., (2010), “Evaluation of process parameters of ultrasonic treatment of bacterial suspensions in a pilot scale water disinfection system”, *Ultrasonics Sonochemistry*, **17**, 1004-1009.
- Irmak, H., (2008), *Sularla İlişkili Hastalıklar*, T.C. Sağlık Bakanlığı, Ankara.
- İnce, N.H. ve Belen, R., (2001), “Aqueous phase disinfection with power ultrasound: process kinetics and effect of solid catalysts”, *Environmental Science and Technology*, **35**(9), 1885-1888.



- James, P.N., Theodore, S., ve Richard, L.G., (1998) , “Enterogregative Esherichia coli”, *Emerging Infectious Diseases*, **4**(2), USA.
- Jacobs, S.E. ve Thornley, M.Y., (1954), “The lethal action of the ultrasonic waves on bacteria suspended in milk and other liquids”, *Journal of Applied Bacteriology*, **17**, 38-56.
- Jimenez-Munguia, M.T., Arce-Garcia, M.R., Argaiz, A., Palou, E. ve Lopez-Malo, A., (2001), “Mold spore inactivation during cavitation due to ultrasound treatments”, IFT Annual Meeting Technical Program Abstracts, 154.
- Johnson, L.L., Peterson, R.V. ve Pitt, W.G., (1998), “Treatment of bacterial biofilms on polimeric biomaterials using antibiotics and ultrasound”, *Journal of Biomaterial Science, Polymer Ed.*, **9**(11), 1177-1185.
- Joyce, E., Phull, J.P., Lorimer, J.P., Mason, T.J., (2003), “The development and evaluation of ultrasound for the treatmentof bacterial suspensions”, *Ultrasonic sonochemistry*, **10**(6), 315 – 318.
- Kinsale, H., Ackerman, E., ve Reid, J.J., (1954), “Exposure of microorganisms measured sound fields”, *Journal of Bacteriology* , **68**, 373-380.
- Kocasoy, G. (Ed.), (1991), *Atıksu Arıtma Sistemleri*, TMMOB Kimya Mühendisleri Odası İstanbul Şubesi, 2.Baskı, İstanbul.
- Lea, S.C., Price, G.J. ve Walmsley, A.D., (2005), “A study to determine whether cavitation occurs around dental ultrasonic scaling instruments”, *Ultrasonics Sonochemistry*, **12**, 233-236.
- Leighton, T.G., (1998), *The principle of cavitation*, (Ed: Mason, T.J.), *Ultrasound in food processing*, Blackie Academic and Professional, London, 151-178.
- Leighton, TG., (2007), “What is ultrasound?”, *Prog Biophys Molecüler Biology*, **93**, 3–83.
- Limaye, M.S. ve Coakley, W.T., (1998), “Clarification of small volume microbial suspensions in an ultrasonic standing wave”, *Journal of Applied Microbiology*, **84**(6), 1035-1042.

- Lopez–Malo, A., Paulo, E., Jimenez–Fernandez, M., Alzamora, S.M. ve Guerrero, S.,(2005), “Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials”, *Journal Food English*, **67**, 87-93.
- Mandell, G.L., R.G. Douglas, J.E. Bennet. (1990), *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 3th edition, Churchill Livingstone Inc., 2340.
- Manvell, C., (1997), “Minimal processing of food”, *Food Science and Technology*, **11**, 107-111.
- Marley, E.F., Saini, N.K., (1995), “Fatal Bacillus cereus Meningoencephalitis in on Adult with Acute Myelogenous Leukemia”, *Southern Medical Journal*, **88**(9), 969.
- Mason, T.J., Joyce, E., Phull, J.P., Lorimer, J.P., (2003), “Potential uses of ultrasound in the biological decontamination of water”, *Ultrasonics Sonochemistry*, **10**, 139 – 232.
- Metcalf ve Eddy, (1981), *Wastewater Engineering*, McGraw Hill, New York, USA.
- Montgomery J. M., (1985), *Water Treatment Principles and Designs*, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley&Sons, Inc., USA.
- Olvera M., Eguia A., Rodrigez O., Chong E., Pillai S.D., Ilangovan K., (2008), “Inactivation of Cryptosporidium parvum oocysts in water using ultrasonic treatment”, *Bioresource Technology*, **99**(6), 2046-2049.
- Öner, M., (1986), *Genel mikrobiyoloji*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, İzmir.
- Pagan, R., (1997), *Resistance frente al calor y los ultrasonidos bajo presion de Aeromonas hydrophila, Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes*, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
- Pagan, R., Manas, P., Raso, J. ve Condon, S., (1999a), “Resistance of Listeria monocytagenes to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures”, *Food Microbiology*, **16**, 139-148.
- Pagan, R., Manas, P., Raso, J. ve Condon, S., (1999b), “Bacterial resistance to ultrasonic waves under pressure (manosonication) and lethal

(manothermosonication) temperatures”, *Applied and Environmental Microbiology*, **65**(1), 297-300.

- Paleologoua A., Marakasa H., Xekoukoulotakisa N. P., Moyab A., Vergarab Y., Kalogerakisa N., Gikasa P., Mantzavinosa, D., (2007) “Disinfection of water and wastewater by TiO<sub>2</sub> photocatalysis, sonolysis and UV-C irradiation”, *4th European Meeting on Solar Chemistry and Photocatalysis: Environmental Applications*, **129**(1), 136–142.
- Peterson, R.V. ve Pitt, W.G., (2000), “The effect of frequency and power density on the ultrasonically-enhanced killing of biofilm-squestered *Escherichia coli*”, *Colloid and Surfaces B. Biointerfaces*, **17**, 219-227.
- Phull, S.S., Newman, A.P., Lorimer, J.P., Pollet, B., Mason, T.J., (1997), “The development and evaluation of ultrasound in the biocidal treatment of water”, *Ultrasonics Sonochemistry*, **4**, 157 – 164
- Piyasena, P., Mohareb, E. ve McKeller, R.C., (2003), “Inactivation of microbes using ultrasound: a review”, *Internal Journal Food Microbiol*, **87**; 207-216.
- Pontius, F.W., (1990), *Water Quality and Treatment*, Fourth Edition, McGraw Hill Inc.
- Raso, J., Palo, A., Pagan, R. ve Condon, S., (1998a), “In activation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment”, *Journal of Applied Microbiology*, **85**, 849-854.
- Raso, J., Palop, A., Pagan, R. ve Condon, S. (1998b),. “Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment”, *J Appl Microbiol.*, **85**:849-854.
- Raso, J., Barbosa-Canovas, G. V. ve Swanson, B. G. (1998c), “Initiation of germination and inactivation by high hydrostatic pressure of *Bacillus cereus* sporulated at different temperature”, *IFT Annual Meeting: Book of Abstracts.*, 154, Atlanta.
- Rediske, A.M., Rapoport, N., Pitt, W.G., (1999), “Reducing bacterial resistance to antibiotic with ultrasound”, *Letters in Applied Microbiology*, **28**(1), 81-84.
- Resmi Gazete, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, 31 Aralık 2004, Sayı: 25687.

- Resmi gazete, Umumi Hıfzıssıhha Kanunu, 6 Mayıs 1930, Sayı: 1489.
- Reynolds, T.D.(1999), *Unit Operations and Processes in Environmental Engineering*, (Ed: Reynolds, T.D., Richards, P.A.), PWS Pub.Co., Boston.
- Samsunlu, A., (1999), *Çevre Mühendisliği Kimyası*, SAM-Çevre Teknolojileri Merkezi Yayını, İstanbul,
- Sanz, B., Palacios, P., Lopez, P. ve Ordonez, J.A., (1985), “Effect of ultrasonic waves on The heat resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores”, *Fundamental and Applied Aspects of Bacterial Spores*, Academic Press, London, 251-259.
- Scherba, G., Weigel, R. M. ve O'Brien, W. D., (1991), “Quantitative assessment of germicidal efficacy of ultrasonic energy”, *Applied and Environmental Microbiology*, **57**(7), 2079-2084.
- Shukairy, H. M., Summers, R.S., Benz, M. A., ve Cummings, L., (1993), “Effects of Separation Processes on the Formation of Brominated THMs”, *Research and Thecnology Journal of American Water Works Association*, **85**(1); 88-95.
- Skauen, D., (1976), “A comparison of heat production and catitation intensity in several ultrasonic cell disrupters Ultrasonics”, **14**, 173-176.
- Spellman, F. R., (1999) *Choosing Disinfection Alternatives for Water/Wastewater Treatment*, Technomic Pub. Co., Lancaster,UK.
- Suslick, K. S. , (1988), *Ultrasound, its chemical, physical and biological effects*, Chapter 4, Homogeneous Sonochemistry, VCH Publishers, 125.
- Şahinkaya, E., (2007), *Çevre Mikrobiyolojisi*, Harran Üniversitesi Çevre Mühendisliği.  
[http://eng.harran.edu.tr/moodle/moodledata/60/Cevre\\_Mikrobiyolojisi\\_er\\_kan\\_sahinkaya\\_ders\\_notlari.pdf](http://eng.harran.edu.tr/moodle/moodledata/60/Cevre_Mikrobiyolojisi_er_kan_sahinkaya_ders_notlari.pdf)
- Şengül, B. ve Şengül, Ü., (1998), *İçme ve Kullanma Suları Klorlama Teknikleri*, Kayseri I. Atıksu Sempozyumu Bildiri Kitabı, (Ed: Atlı, V. ve Belenli, İ.), Kayseri Büyükşehir Belediyesi Su ve Kanalizasyon İdaresi, Kayseri, 132-138.

- Taylor, G.S., Hillis, P., ve Walker, I., (1993), "Pilot-Plant Trials on River Dee Water at Huntington", *Journal of the Institution of Water and Environment Management*, 7 (4); 333-343.
- Temiz, A. (1996), *Genel Mikrobiyoloji Teknikleri*, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara
- Tokmak, B., Çapar, G., Dilek, F. B. ve Yetiş, Ü. (1998), *Ankara İçme Suyunda Trihalometanlar*, 1.Ulusal Çevre Kirliliği Kontrolü Sempozyumu, *Türkiye'nin Çevre Sorunları*, 99, Türkiye Çevre Vakfı Yayını, Ankara.
- Tümbay, E., (1981), *Pseudomonas aeruginosa'nın Tıbbi ve Ekolojik Önemi*, 2. Ulusal KÜKEM Kongresi, İstanbul Üniv. Tıp Fak. 6. Kurultayı, 98-103.
- Türkman, A., Aslan, Ş. ve Özer, A., (1999), *İçme Suyu Kaynağı Kirlenmesine Bir Örnek*, Türkiye'de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu III, Cilt II, (Ed: Karpuzcu, M., Şenlier, N. ve Kınıllı, H.) Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Kocaeli, 936-945.
- Tüzel, O., (2002), *Elektrokimyasal Su Dezenfeksiyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Uslu, O. ve Türkman, A., (1998), *Su Kirliliği ve Kontrolü*, T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi-1, Ankara.
- Valero, M., Rescosio, N., Raua, D., Munoz, N., Marti, N. ve Lizama, V., (2007), "Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing", *Journal Food England*, **80**,509-516.
- Williams, A., (1994), "New Technologies in food processing: Part II", *Nutrition and Food Science*, **1**, 20-23.
- Whillock, G. O. H. ve Harvey, B. F., (1997), "Ultrasonically enhanced corrosion of 304L stainless steel I: The effect of temperature and hydrostatic pressure", *Ultrasonics Sonochemistry*, **4**, 23-31.