

BAKTERİLERE SESLENİYORUM!

Baran Onat YILDIRIM

Mehmet Umut ÖKSÜZ

Danışman: Hidayet TEREÇİ
(www.fencebilim.com)

Ocak, 2013
Amasya Bilim ve Sanat Merkezi

Projenin Amacı: Farklı sesaltı ve sesötesi dalgaların sucul ortamda *Escherichia Coli* bakterisi üzerine etkisinin incelenmesi

ÖZET

Bakteriler, yaşamın her aşamasında insanların karşısına çıkmaktadır. Özellikle patojen bakteriler farklı yollarla insanlara bulaşarak hastalık yapabilmektedir. Sucul ortamlar, insan yaşamının farklı alanlarında sıklıkla kullanılmasından dolayı sucul ortamlardan bakterilerin uzaklaştırılması insan sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Escherichia coli'ler, doğada yaygın olarak bulunmakta, insan bağırsak florasında bulunmakla birlikte bazı hastalıklara yol açabilmektedir. Bu çalışmada, *Escherichia coli* W3110 bakterisine sucul ortamda sesaltı ve sesötesi dalgalarının etkisi araştırılmıştır. Araştırma için aynı şartlar altında kontrol ve deney grubu oluşturuldu. Sadece deney grubundaki bakterilere ses dalgaları uygulandı. Kontrol ve deney grubundan farklı zaman aralıklarında alınan bakteri örnekleri katı besiyerine ekim yapılarak, 37 °C'de 36 saat inkübatörde kaldıktan sonra koloni sayımları yapıldı. Farklı frekanstaki ses dalgaları için aynı işlemler tekrar edilerek çalışma sonunda bulgular elde edildi.

Elde edilen bulgular, ses dalgalarının sucul ortamdan *E. coli* bakterisini uzaklaştırmada kullanılabileceğini gösterdi. Kontrol grubundaki bakterilerin besin olmayan ortamlarda bile belirli bir sürede çoğalarak maksimum sayıya ulaştıktan sonra azalmaya başladıkları, çalışma sonuna kadar etkilerini sürdürdükleri gözlemlendi. Bu çalışmada, sesaltı dalgalarının sesüstü dalgalarına göre *E. coli* bakterisinin sucul ortamdan uzaklaştırmada daha etkili olması dikkat çekici bulundu. İnsan bulunan ortamlarda sesaltı dalgalarının kullanılması duyuşsal ve psikolojik açıdan olumsuz etkiler oluşturduğu hissedildi. Ses dalgalarının sadece bir frekansta bakterilere etkisi üzerine araştırmalar olmasına rağmen, aynı şartlar altında birçok sesaltı ve sesötesi dalgalarının *E. coli* bakterisine etkisinin araştırılması ve karşılaştırılması çalışmamızın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Bu araştırma çalışması, farklı frekans ve şiddetteki ses dalgaları ve farklı ortamlar (tuzlu, şekerli, asidik, bazik vb.) için genişletilebilir.

Anahtar Kavramlar: *Escherichia coli*, Sesötesi dalgalar, Sesaltı dalgalar, Sucul ortam

TEŞEKKÜR

Çalışmanın tüm aşamasında bilgi, tecrübe ve katkılarından dolayı danışman öğretmenimiz Hidayet TERCİ'ye çok teşekkür ediyoruz.

Araştırma çalışmamızda Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji laboratuvarını kullanıma açan, bilgi, deneyim ve tecrübelerini bize aktaran, Sayın Yrd. Doç. Dr. Önder İDİL'e çok teşekkür ediyoruz.

Baran Onat YILDIRIM
Mehmet Umut ÖKSÜZ
Amasya, Ocak 2013

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|-----------------------|--------------|
| ÖZET | 2 |
| TEŞEKKÜR | 3 |
| GİRİŞ | 5 |
| MATERYAL-YÖNTEM | 6 |
| BULGULAR | 8 |
| SONUÇLAR | 10 |
| TARTIŞMA | 11 |
| KAYNAKLAR | 12 |

GİRİŞ

Escherichia coli'ler, doğada yaygın olarak bulunan ve belirli şartlar altında normal bağırsak florası olarak bilinen bakteriler arasında sayılmalarına rağmen, insan ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olurlar (Erganiş, 1987). Üriner sistem enfeksiyonları en sık görülen toplum kökenli enfeksiyonlardandır. Bu enfeksiyonlarının % 90'ından fazlasında sorumlu etken *E.coli*'dir (Chomarat, 2000). *E. coli* Enterobacteriaceae familyasına ait Gram (-) bir bakteridir. Karbon kaynağı olarak sadece glukoz yada gliserolü kullanan, basit büyüme ortamlarında kültürü yapılabilen, çubuk şeklinde fakültatif anaerob bir bakteridir (Cruickshank ve ark., 1973; Cruickshank ve ark., 1975). *E.coli* spor meydana getirmez. Genellikle tutunmak için fimbriaları ve hareket etmek için flagellası vardır. *E.coli* laktozu fermente ederek MacConkey agar üzerinde kırmızı koloniler oluşturur (Cruickshank ve ark., 1973). *E.coli*'nin koloni şekli yuvarlak ve yüzeyi düz olmasına rağmen bazı suşlar mukoid koloniler oluşturur (Macone ve ark., 1981). *E.coli* ilk olarak memeli bağırsağında tespit edilen fekal koliform bir bakteridir (İdil, 2006).

Ses dalgaları, değişik ortamlar içinde yayılan boyuna dalgalardır. Bu dalgalar her hangi bir ortamda, ortamın özelliklerine bağlı olan bir hızla yayınırlar. Ses dalgası bir ortamda yayılırken; ortamın parçacıkları, dalganın hareket doğrultusu boyunca yoğunluk ve hacim değişiklikleri üreterek titreşirler (Halliday 1992). Ses bir mekanik enerjidir ve ses üretimi, titreşim enerjisi üretmek demektir. Bir teli, bir zarı veya hava moleküllerini titreştirmek günlük hayattan bildiğimiz ses üretme yöntemleridir. Bütün ses üretim araçları bu yöntemlerden biriyle çalışır (Gürpınar, 2007). Duyuma eşiğinin üzerinde kalan frekanslardaki ses; ultrason, ultrases veya sesötesi şeklinde adlandırılmaktadır. İnsan kulağı, 16 Hz ile 20000 Hz (20 kHz) frekans aralığında kalan seslere duyarlıdır. Duyulabilir ses frekanslarından başlayarak 25 MHz (25.10⁶ Hertz) frekansa kadar giden sesötesi dalgalar değişik amaçlar için kullanılmaktadır. Ultrases, titreşim hareketinden ibaret olan sestem başka bir şey değildir. Titreşim hareketi olarak doğar, titreşim hareketi olarak yayılır ve titreşim hareketi olarak algılanır (Özden, 1981). Ses ötesi dalgalar (Ultrasonic) dalgalar; işitilebilir mertebenin üstündeki frekansları olan boyuna dalgalardır. Örneğin, bu dalgalar, bir kuartz kristaline alternatif elektrik alanının uygulanmasıyla elde edilebilirler (Halliday ve Resnick, 1992).

Ses genel olarak dört kategoride sınıflandırılır.

| | <u>Frekans aralığı (Hertz)</u> |
|-----------------|-----------------------------------|
| İnfrases | 0-20 Hz |
| Duyulabilir Ses | 20-20.000 Hz |
| Ultrases | 20.000 ile 1GHz |
| Hiperses | Frekansı 1 GHz' den fazla olanlar |

Ultrases ilk olarak 1880 yılında Piere ve Jacques Curies kardeşlerce, piezoelektrik (basınç elektriklenmesi) özelliği olan kristaller yardımı ile üretilmiştir. Ultrases üretiminde kuartz, lityum sülfat, kadmiyum sülfat, çinko oksit, tourmaline, baryum, titanat, kurşun titanat gibi piezoelektrik özelliğine sahip kristaller kullanılmaktadır. Elektrik akımının veya manyetik alanın, kristaller tarafından basınç dalgalarına çevrilmesi ile ultrases dalgaları oluşur. Bu işlemi yapan aygıtlara da transdüser denir. Yani transdüserler, bir formdaki enerjiyi bir başka forma çevirebilen aygıtlardır. (Büyüktanır, 2010). Ses ötesi dalgalarının endüstride uygulamaları sıvı, katı ve hava ortamlar olmak üzere üç grupta toplanmaktadır (Thompson ve Doraiswamy, 1999). Ultrases, sanayide, tıpta, deniz biliminde ve hizmet sektöründe uygulanmaktadır. Yararlanma sekline göre bu uygulamaları iki temel gruba ayırmak mümkündür. Bunlar sesötesinden "haberci" olarak yararlanan uygulamalar

ve “enerji” olarak yararlanan uygulamalardır. Ultrasonun bir haberci olarak yararlanan uygulamalar; boyut ölçümü, özellikleri ve süreksizlikleri tayini gibi amaçlara yöneliktir. Ses ötesinden bir enerji olarak yararlanan uygulamalarda ise enerji ile bir iş, bir işlem yapılması veya mevcut bir işlemin hızlandırılması amaçlanır (Gürpınar, 2007).

Ses dalgalarının sıvı ortamlarda farklı uygulama alanları vardır (Thompson ve ark., 1999).

- | | | |
|---------------|--------------------|----------------------------------|
| - Temizleme | - Atomizasyon | - Aşındırma testi |
| - Zımparalama | - Hücre ayrımı | - Eritme kristalleşmesi |
| - Filtreleme | - Kristal büyümesi | - Katı maddelerin ayrıştırılması |
| - Lehimleme | - Sterilize etme | - Bitkilerden çıkarma |

Ses ötesi dalgaların kimyasal ve biyolojik etkileri tarihte ilk olarak 1927 yılında Loomis tarafından bulunmuştur (Vajnhandl ve Marechal, 2005; Thompson ve Doraiswamy, 1999, Akt: Gümüşdere H. T., 2007). Ses ötesi dalgaların mikroorganizmalara etkisi ile ilgili (Piyasena ve ark., 2003; Koda ve ark., 2009) çalışmalar bulunmaktadır. Mikrobiyal hücrelerin bozunması için ses ötesi dalgalarının kullanılması Suslick tarafından araştırılmıştır. Ses ötesi dalgaların kimyasal ve mekanik etkileri, kavitasyon kabarcıkları tarafından meydana gelmektedir. Kavitasyon kabarcıklarının genleşme sırasında büyümeleri, büzüşme sırasındaki daralmalarına göre daha fazladır. Bu durum sıvı fazda oluşan kabarcıkların gaz ya da buhar olarak eşit olmayan dağılımına bağlıdır. Sıvıda yer alan bu kabarcıklar içinde yüksek sıcaklık ve basınç meydana gelmektedir (Suslick 1988; Akt: Gümüşdere H. T., 2007). Kavitasyon olaylar sonucu oluşan yüksek basınç hücre materyallerinin etrafını sararak mekanik zarara neden olur.

Sucul ortamlarda bulunan bakterilerinden bir kısmı patojen özelliktedir. Bu patojen bakteriler insan vücuduna farklı yollarla girerek bazı hastalılara sebep olabilmektedir. Sucul ortamlardan bakterilerin uzaklaştırılması için farklı yöntemler (klorlama, ozonlama, morötesi ışınlama, etkin kömür işlemleri vb.) kullanılır. Bu çalışmada, insan yaşamında farklı yerlerde sıklıkla karşısına çıkan bulaşarak hastalık yapabilen *E. coli* bakterisine sucul ortamda sesaltı ve sesötesi dalgalarının etkisi araştırılmıştır. Bakterilerin sucul ortamdan uzaklaştırılması önemli olması nedeniyle ses dalgalarının *E. coli* bakteri türü üzerine etkisinin belirlenmesi diğer bakterilerin sucul ortamlardan uzaklaştırılması için ses dalgalarının kullanımı hususunda ipuçları verecektir. Bu araştırmanın deneysel çalışmaları Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji laboratuvarında yapıldı.

MATERYAL-YÖNTEM

Çalışmalar başlamadan önce danışman öğretmenimiz laboratuvar kuraları, güvenlik tedbirleri ve malzeme kullanımı konusunda gerekli bilgi ve açıklamaları yaptı. Çalışmalar sırasında araç ve gereçlerin kullanımını uygulamalı biçimde öğrendik.

Santrifüj: Yüksek devirde dönme yaparak merkezkaç kuvveti oluşturan ve bu kuvvetle özgül ağırlıkları farklı maddelerden oluşmuş homojen ve heterojen karışımları ayırmaya yarayan işlemin ve aletin adıdır.

Sallamalı su banyosu: Sıvı içerisindeki bakterilerin belirli sıcaklıkta kalması, sıvı içinde homojen yayılması ve oksijenin homojen bir biçimde alabilmeleri için kullandığımız cihazdır.

Desibelmetre: Ses şiddetini ölçen araçtır. Desibel (dB) biriminde ses şiddetini ölçer. Transdüserden çıkan sesin şiddetini ölçmek için kullanıldı.

İnkübatör: Mikroorganizma gelişimi için gerekli sıcaklığı sağlayan bir çeşit fırındır. Bu sıcaklık genellikle 20-45 °C arasındadır.

Otoklav: Basınçlı su buharı ile doymuş bir ortamda 121 °C sıcaklıkta 15-20 dakikada sterilizasyon yapar. Biz çalışmamızda sterilizasyonu 121 °C sıcaklıkta 15 dakikada içerisinde buhar basıncı ile birlikte gerçekleştirdik. Otoklavda saf su kullandık.

Ses Üreticisi: Çalışmamızda Leader Audio Tester LAV-191A cihazı kullanıldı. 0-500 kHz frekans aralığında ses dalgaları üretebilen elektronik bir cihazdır. Ses ile ilgili değerler el ile üzerindeki bölümlerden ayarlanır. Sesötesi dalga üretimi için piezoelektrik transdüser probu kullanıldı.

Bakteri Suşları: Bu yapılan çalışmalarda *Escherichia coli* W3110 bakterisi kullanılmıştır. Bakteri suşları Nutrient broth besiyerinde 37°C de 24 saat 150 rpm'de sallayıcıda sallanarak inkübe edildi. Her bakteri suşu %20'lik gliserol içeren Nutrient broth'lu ortamda derin dondurucuda stoklanmış ve gerektiği zaman stoklardan pasajları yapılarak kullanılmıştır.

Katı Besiyeri (Nutrient Agar Besiyeri): Katı besiyeri bakterilerin stok olarak buzdolabında saklanması ve koloni sayımlarında kullanılmıştır. 20 gr Nutrient agar 1 litre saf suda eritilerek otoklavda 121 °C'de 15 dakikada steril edildi ve petrilere dökülerek hazırlandı. Petrilere döküldükten sonra oluşan su damlalarının uzaklaşması için besiyeri 3 gün oda sıcaklığında bekletildi.

Sıvı Besiyeri (Nutrient Broth Besiyeri): Sıvı besiyeri bakterilerin üretilmesinde üreme ortamı olarak kullanıldı. 8 gr Nutrient broth tartılarak 1 litre saf suda eritildi. Daha sonra 121 °C'de 15 dakikada otoklav ile steril edildi.

Ringer Solüsyonu: Bakteri sayımları sırasında sulandırılmalar için kullanıldı. Hazır olarak satılan Ringer tabletlerinden 1 tablet 500 ml saf suda çözülerek hazırlandı. Solüsyondan 4.5 ml deney tüplerine aktarıldı ve 121 °C'de 15 dk. otoklav ile steril edildi. Seyreltme işlemi yapılırken 1/9 oranı göz önünde bulunduruldu.

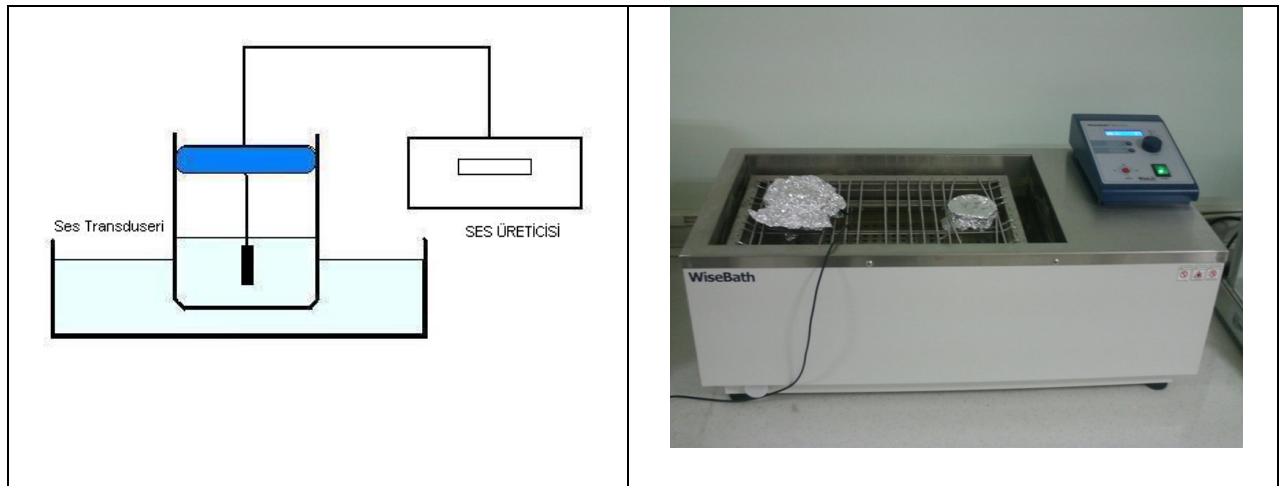
Koloni Sayım Yöntemi: Kontrol ve deney grubundan alınan 0,5 ml'lik örnekler 4,5 ml ringer solüsyonlarında 4 tüpe kadar (10^{-4}) sulandırıldı. Daha sonra seyreltilmiş tüpten pipet ile 100 µl örnek alınarak katı besiyerlerine aktarıldı. Örnek, alkolle yıkılan drigalski spatülü ile yayılarak inkübasyona bırakıldı. 37 °C' de 36 saat inkübasyon sonunda koloniler sayılarak kaydedildi.

Diğer materyal ve malzemeler: Öze, drigalski spatülü, karıştırıcı, saf su üretme cihazı, saf su, mezur, Al folyo, pamuk, pipet ve uçları, bunzen beki, etil alkol, beher, erlenmayer, kapaklı cam tüp, tüplük, spatül, hassas terazi, karıştırıcı.

Düzenek ve Uygulama: Bu çalışmada 0 ila 500 kHz frekans aralığında ses dalgaları üretebilen Leader Audio Tester LAV-191A elektronik cihaz kullanılmıştır. Deney düzeneğindeki ses probundan çıkan ses şiddeti (75,4 dB) desibelmetre ile ölçüldü. Deney ve kontrol grubu olarak belirlenen erlenlere eşit miktarda (100 ml) saf su konularak üzeri alüminyum folyo ile kapatıldı. Deney ve kontrol grubunda kullanılacak materyaller otoklavda steril edildi. Bakteri suşlarından sıvı

besiyerine alevle steril edilen öze ile bakteri ekimi yapıldı. 24 saat 24 °C deki su sallamalı çalkalayıcıda bekletilen sıvı besiyerinde bakterilerin üremesi sağlandı. Sıvı besiyerinden alevleme yöntemi ile eşit miktarda pipetle alınan (0,1 ml) bakteriler, santrifüjde bakteri yıkama yöntemi ile sıvı besiyerinden ayrılması sağlandı. Yıkama yapılan bakteriler 0,5 ml ringer solüsyonu ile sulandırılarak deney ve kontrol gruplarına pipetle konuldu. Deney ve kontrol grupları 24 °C'de sulu sallamalı çalkalayıcı içene konuldu. Sallama hızı 90 rpm olarak ayarlandı.

Sadece deney grubuna belirlenen frekansta ses dalgaları çalışma süresince uygulandı. Farklı zaman aralıklarında deney ve kontrol gruplarından alınan numuneler alınarak ringer solüsyonu ile seyreltilerek katı besiyerlerine ekimi yapıldı. Seyreltme işleminde önceden hazırlanmış içerisinde 4,5 ml ringer solüsyonu bulunan steril edilmiş kapaklı tüpler kullanıldı. Seyreltme işleminde bakterilerin homojen dağılması için karıştırıcı kullanıldı. Katı besiyerine ekim yapıldıktan sonra alkole batırılıp aleve tutulan drigalski spatülü kullanılarak bakterilerin katı besiyerinde yayılması sağlandı. Katı besiyerleri inkübatör içinde 37 °C 36 saat süresince kaldı. İnkübatörden alınan deney ve kontrol grubu katı besi yerleri bakteri koloni sayım metoduna ile seyreltme oranına göre veriler kayıt edildi. Aynı işlemler farklı frekanstaki ses dalgaları için tekrar edildi. Tüm frekans değerlerine göre farklı seyreltikteki bakteri koloni sayı verileri kayıt edildi. Elde edilen veriler çizelge haline getirildi. Yaptığımız çalışmalarda laboratuvar kurallarına, güvenlik tedbirlerine ve hijyene dikkat ettik. Tüm çalışma aşamalarında önlük ve eldiven kullanıldı.



Şekil 1. Çalışma Düzenegi

BULGULAR

Farklı frekanslarda ses dalgalarının sucul ortamdaki *E. Coli* bakterilerine uygulanması sonucunda kontrol ve deney gruplarından farklı zaman aralıklarında alınan örneklerin katı besi yerine ekimi, ekim sonucunda oluşan bakterilerin koloni sayımı sonucunda elde edilen veriler çizelge haline getirildi. Bu veriler ışığında sesin frekansı, süre ve koloni sayısı arasında ilişkiler ortaya çıkarılmaya çalışıldı.

Çizelge 1: *E. coli* bakterisinin zamana göre koloni sayısı (Frekans: 5 kHz, Sıcaklık: 24 °C).

| Koloni Sayı/Zaman | Seyreltme oranı | 0.saat | 25.saat | 50.saat | 74.saat |
|--|------------------|--------|---------|---------|---------|
| Kontrol Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 69 | 67 | 76 | 75 |
| | 10 ⁻⁴ | 70 | 5 | - | - |
| Ses Deney Koloni Sayısı | 10 ⁻³ | - | 7 | - | - |
| | 10 ⁻² | - | - | 1 | - |
| | 10 ⁻¹ | - | - | 10 | 1 |
| | 10 ⁰ | - | - | 60 | 12 |

Çizelge 2: *E. coli* bakterisinin zamana göre koloni sayısı (Frekans: 11 kHz, Sıcaklık: 24 °C).

| Koloni Sayısı/ Zaman | Seyreltme Oranı | 0. sa | 25 sa | 50. sa | 75. sa | 108. sa | 134. sa | 151. sa | 159. sa |
|--|--------------------|-------|-------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| Kontrol Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 31 | 22 | - | - | - | - | - | - |
| | 10 ⁻³ | - | - | 141 | 42 | - | 3 | 2 | - |
| | 10 ⁻² | - | - | - | - | 54 | - | - | 13 |
| Ses Deney Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 35 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 10 ⁻³ | - | - | 175 | 52 | 134 | 38 | 115 | - |
| | 10 ⁻² | - | - | - | - | - | - | - | 100 |

Çizelge 3: *E. coli* bakterisinin zamana göre koloni sayısı. (Frekans: 21 kHz, Sıcaklık: 24 °C)

| Koloni Sayısı/ Zaman | Seyreltme Oranı | 0. sa | 25 sa | 50. sa | 75. sa | 108. sa | 134. sa | 151. sa | 159. sa |
|--|--------------------|-------|-------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| Kontrol Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 31 | 22 | - | - | - | - | - | - |
| | 10 ⁻³ | - | - | 175 | 105 | - | 115 | 38 | - |
| | 10 ⁻² | - | - | - | - | 54 | - | - | 100 |
| Ses Deney Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 35 | 19 | - | - | - | - | - | - |
| | 10 ⁻³ | - | - | 141 | 52 | - | 3 | 2 | - |
| | 10 ⁻² | - | - | - | - | 13 | - | - | 12 |

Çizelge 4: *E. coli* bakterisinin zamana göre koloni sayısı. (Frekans: 25 kHz, Sıcaklık: 24 °C)

| Koloni Sayısı/ Zaman | Seyreltme Oranı | 0. saat | 24. saat | 40. saat | 50. saat |
|--|--------------------|---------|----------|----------|----------|
| Kontrol Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 143 | 128 | 96 | 53 |
| | 10 ⁻⁴ | 153 | 1 | - | - |
| Ses Deney Koloni Sayısı | 10 ⁻¹ | - | - | 2 | 1 |

Çizelge 5: *E. coli* bakterisinin zamana göre koloni sayısı. (Frekans: 30 kHz, Sıcaklık: 24 °C)

| Koloni Sayısı/ Zaman | Seyreltme Oranı | 0.saat | 27.saat | 51.saat | 75.saat |
|----------------------------|--------------------|--------|---------|---------|---------|
| Kontrol Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 88 | 73 | 55 | 50 |
| Ses Deney Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 63 | 7 | 0 | 0 |

Çizelge 6: *E. coli* bakterisinin zamana göre koloni sayısı. (Frekans: 35 kHz, Sıcaklık: 24 °C)

| Koloni Sayısı/ Zaman | Seyreltme Oranı | 0.sa | 1.sa | 2.sa | 3.sa | 4.sa | 5.sa | 6.sa | 7.sa | 8.sa | 9.sa |
|----------------------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Kontrol Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 37 | 59 | 149 | 58 | 37 | 62 | 51 | 48 | 70 | 31 |
| Ses Deney Koloni Sayısı | 10 ⁻⁴ | 47 | 30 | 35 | 29 | 38 | 29 | 27 | 30 | 26 | 21 |
| Ses Deney Koloni Sayısı | 10 ⁻³ | - | 229 | 308 | 239 | 202 | 193 | 161 | 148 | 187 | 119 |

SONUÇLAR

Yapılan çalışmalar sonucunda, ses dalgalarının sucul ortamda bakteri sayısını azaltıcı yönde etki ettiği bulundu. Çalışmadaki tüm sesaltı ve sesötesi dalgalarının katı besiyerinde bakteri koloni sayısını azalttığı görüldü. Ses altı (5 kHz, 11 kHz) dalgaları, ses ötesi (21 kHz, 25 kHz, 30 kHz, 35 kHz) dalgalarına göre bakterilerin koloni sayısını azaltmada ve sucul ortamdan uzaklaştırmada daha fazla etkili olduğu görüldü. Fakat sesaltı dalgalarının sucul ortamdan bakteri uzaklaştırmada insan kulağı için rahatsızlık oluşturduğu, sesötesi dalgalarının ise ortamda duyulmadığı ve rahatsızlık vermediği tespit edildi.

5 kHz frekansına sahip sesaltı dalgalarının *E. coli* bakterisine etkisi sonrası zamana göre deneysel grubun bakteri koloni sayısı, kontrol grubu bakteri koloni sayısı karşılaştırıldığında (Çizelge 1.): 25. saat sonucunda deney grubu bakteri sayısının önemli miktarda azaldığı, 50. ve 75. saat sonunda ise sucul ortamdan bakterilerin çok büyük oranda uzaklaştırıldığı görüldü. Aynı zaman diliminde kontrol grubu bakteri koloni sayısının az miktarda arttığı görüldü.

11 kHz frekansına sahip sesaltı dalgalarının bakterilere etkisi sonrası zamana göre deneysel grubun bakteri koloni sayısı, kontrol grubu bakteri koloni sayısı karşılaştırıldığında (Çizelge 2.): Deney grubu bakteri sayısının zamana göre azaldığı, 159. saat sonunda sucul ortamdan bakterilerin çok büyük oranda uzaklaştırıldığı görüldü. Kontrol grubu bakteri sayısının 50. saat sonunda deney grubuna nispeten daha az azalmaya başladığı, 159. saat sonunda sucul ortamında deney grubuna göre yaklaşık 8 kat daha fazla bakteri koloni sayısının olduğu görüldü.

21 kHz frekansına sahip sesötesi dalgalarının bakterilere etkisi sonrası zamana göre deneysel grubun bakteri koloni sayısı kontrol grubu bakteri koloni sayısı karşılaştırıldığında (Çizelge 3.): 75 saat sonunda her iki grupta bakteri sayısı azalmakla birlikte deney grubu bakteri sayısının kontrol grubuna göre hızla azaldığı, 108 saat sonunda deney grubu sucul ortamından bakterilerin çok

büyük oranda ($10^{-2}=58$) uzaklaştırıldığı görüldü. Kontrol grubunun 159. saat sonunda bakteri kirliliğine sahip olduğu görüldü ($10^{-2}=100$).

25 kHz frekansına sahip ses ötesi dalgalarının bakterilere etkisi sonrası zamana göre deneysel grubun bakteri koloni sayısı kontrol grubu bakteri koloni sayısı karşılaştırıldığında (Çizelge 4.): 50 saat sonunda her iki grupta bakteri sayısı azalmakla birlikte deney grubu bakteri sayısının kontrol grubuna göre hızla azaldığı, 50. saat sonunda deney grubu sucul ortamından bakterilerin çok büyük oranda ($10^{-1} = 1$) uzaklaştırıldığı görüldü. Kontrol grubunun 50. saat sonunda bakteri kirliliğine sahip olduğu görüldü ($10^{-4}=5$).

30 kHz frekansına sahip ses ötesi dalgalarının bakterilere etkisi sonrası zamana göre deneysel grubun bakteri koloni sayısı kontrol grubu bakteri koloni sayısı karşılaştırıldığında (Çizelge 5.): 51 ve 75. saat sonunda deney grubunda bakteri kolonisine rastlanmadığı ($10^{-4}=0$), kontrol grubunda 51 ve 75. saat sonunda bakteri kirliliğine sahip olduğu görüldü ($10^{-4}=55, 50$).

35 kHz frekansına sahip ses ötesi dalgalarının bakterilere etkisi sonrası zamana göre deneysel grubun bakteri koloni sayısı kontrol grubu bakteri koloni sayısı karşılaştırıldığında (Çizelge 6.): Sesötesi dalgalarının 1 saatlik periyodik koloni sayısına bakıldığında bakteri sayısını azalttığı görüldü. Kontrol grubu bakteri sayısının 2. saat sonunda maksimum değere ulaştıktan sonra azalmaya başladığı görüldü. 9. saat sonunda ses ötesi dalgalarının kontrol grubuna göre daha etkili olmasına rağmen sucul ortamdan yeterince bakterileri uzaklaştırılmadığı görüldü ($10^{-4}=21$, $10^{-3}=119$).

TARTIŞMA

Bakteriler yaşamımızın her yerinde karşımıza çıkmaktadır. Yararlı ve zararlı etkili olan bakterilerin patojen olanları vücudumuza farklı yollar ile girerek hastalık yapabilmektedir. Genellikle sucul ortamlar bakterilerin yaşamı ve çoğalması için uygun şartlar taşımaktadır. İnsanlar sucul ortamlar ile temas etmeleri bakteri veya mikroorganizmaların vücut içine girmesine neden olmaktadır.

Sucul ortamların steril edilmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bazı kimyasal yöntemler sucul ortamın steril edilmesini sağlamaklar birlikte insan ve çevre sağlığına zarar verebilmektedir. Ses dalgaları sucul ortamların steril edilmesinde ortama kirlilik vermemesinden dolayı çok avantajlıdır. Özellikle ses ötesi dalgalar insan kulağı tarafından his edilmemesi, bu dalgaların insanların bulunduğu ortamlarda rahatlıkla kullanılma avantajı sağlayacaktır. Fiziksel veya kimyasal etkilerin bakteriler üzerindeki etkisini araştırmada *E. Coli* bakterisi sıklıkla kullanılmaktadır. Sağlıklı insanların bağırsak florası içinde bulunan *E. Coli* deneysel çalışmalarda güvenlik açısından diğer patojen bakterilere göre daha az risk oluşturmaktadır.

Bu çalışma, aynı anda ve aynı şartlar altında sesaltı ve sesötesi dalgaların *E. coli* bakterisi üzerine etkisinin karşılaştırılması bakımından değerli ve benzer çalışmalardan (Ying ve ark., 2009; Koda ve ark., 2009; Hua ve Thompson, 2000) farklılığını ortaya koyan yönüdür. Ses dalgalarının sucul ortamlardan *E. Coli* bakterisini uzaklaştırılmada başarılı ve kolay kullanımı, diğer bakterilerin sucul ortamlardan uzaklaştırması hususunda dayanak oluşturmaktadır. Sesaltı dalgalarının, sesötesi dalgalarına göre daha etkili olduğunun görülmesi dikkat çekicidir. Bu çalışma belirli frekans ve şiddetteki ses dalgaları ile sınırlıdır. Daha yüksek frekans veya ses şiddetinde *E. Coli* veya diğer bakterilerin sucul ortamda elimine edilmesi araştırılabilir. Ayrıca saf su dışında farklı ortamlar

çinde (tuzlu, şekerli, asidik, bazik vb.) ses dalgalarının bakteriler üzerine etkisi araştırılarak çalışma daha geniş alanlara yayılabilir.

Çalışmada bakteri yıkama metodu kullanılmasına rağmen kontrol grubunda bakterilerin belirli bir süre sonunda (2-3 saat) maksimum sayıya ulaştıkları gözlemlendi. Bu *E. coli* bakterilerinin bir süre besinsiz ortamlarda bile çoğalabildiklerini gösterdi. Deney grubunda ise bakteri sayısının sürekli azalarak etkisiz hale geldiği gözlemlendi. Kontrol grubunda bakterilerin sayısı azalmakla birlikte sucul ortamlarda etkisini sürdürmesi, insan sağlığı açısından sucul ortamların steril edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Ses dalgalarının sucul ortamlara kimyasal yöntemlere oramda atık bırakmaması önemli bir avantajdır. Sucul ortamların mikrobiyolojik canlılardan arındırmada yaygın olarak kullanılan klorlama yöntemi insan sağlığına uzun süreç içinde zararlı etkileri vardır. Ses dalgaları ile sterilizasyon yapma için başlangıçta sistem için bir maliyet gereklidir. Sistem kurulduktan sonra düşük elektrik maliyeti ile sterilizasyon yapılabilir. Ses dalgaları ile sterilizasyon yapmada ses alt dalgaları daha etkili olmasına rağmen kulak sağlığı, ses kirliliği açısından ses ötesi dalgalarının kullanılması daha uygundur. Transdüserde üretilen ses dalgaları sonucu oluşan kavitasyon olayı sonucunda oluşan basınç sıvılardaki Pascal prensibi ile sucul ortamdaki tüm bakterilere etki etmektedir. Bu durum sucul ortamın steril edilmesinde morötesi ışık (UV) kullanımına göre daha avantajlıdır. Çünkü farklı şekillerde bulunan kaplar içinde mor ötesi ışık ortamda doğrusal hareket etmesinden dolayı her noktaya ulaşamayabilir.

KAYNAKLAR

- Büyüktanır, A., (2010), Ultrases (Ultrasound), Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Bölümü Fizik Eğitimi Anabilim Dalı, Bitirme Ödevi, Danışman: Mustafa Karadağ, Ankara.
- Chomarat M., (2000), Resistance of Bacteria in Urinary Tract Infections, Int., J. Antimicrob Agents, 16, 483.
- Cruickshank, R. Duguid, J. P. and Swain, R. H. A., (1973), Medical Microbiology. Vol 1, Microbial Infections. 12th. ed. Churchill, Livingstone, Edinburgh, UK.
- Cruickshank, R., Duguid, J. P., Marmion, B. P. and Swain, R. H. A., (1975), Medical Microbiology: The Practise of Medical Microbiyology. Vol 2. 12th. ed. Churchill, Livingstone, Edinburg, UK.
- Erganiş, O., (1987), Hindilerin Fekal Florasından İzole Edilen *E. coli* Suşlarının Bazı Patojenite Özellikleri Üzerine İncelemeler, Doktora Tezi, Selçuk Üniv. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, s. 1, Konya.
- Erte, E., (2007), Siyah Üzümde (*Vitis vinifera L.*) Bulunan Resveratrol'ün Üretim Veriminin Artırılmasına Ses Ötesi Dalgaların Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Danışman: Doç. Dr. Afife Güvenç, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, s. 31, Ankara.
- Gümüştöre, H. T., (2007), Zararlı Organik Bileşiklerin Bozundurulmasına Ses Ötesi Dalgaların (Ultrasound) Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, s. 1-34, Ankara.
- Gürpınar, G., (2007), Ses Ötesi Dalgaların Cevher Zenginleştirmede Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Maden Mühendisliği Anabilim Dalı, s. 12, Eskişehir.
- Halliday, D. and Resnick, R., (1992), Fiziğin Temelleri-I, 3. baskı, (Çeviren: Prof. Dr. Cengiz YALÇIN), 368-369.

- Hua, I. and Thompson, J. E., (2000), Inactivation of *Escherichia Coliby* Sonication At Discrete Ultrasonic Frequencies, Water Research, Vol. 34, No. 15, pp. 3888-3893.
- İdil, Ö., (2006), Farklı Dalga Boylu Işınlarmın Etkisinde Fotosensitizasyonun Karadeniz Suyunda *E.coli* ve *S.typhimurium*'un Yaşamına ve Oksidatif Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Biyoloji Anabilim Dalı, s.1, Samsun.
- Koda, S., Miyamoto, M., Toma, M., Matsuoka, T. and Maebayashi, M., (2009), Inactivation of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* by ultrasound at 500 kHz, Ultrasonics Sonochemistry, 16, 655–659.
- Macone, A. B., Pier, G. B., Pennington, J. E., Matthews, W. J. And Goldman, D. A., (1981), Mucoïd *Escherichia Coli* in cystic fibrosis. New England J. Med., 304, 1445 1449.
- Özden, N., (1981), Sesötesi (Ultrasonik) ile Muayene, SEGEM, Yayın No: 48, Ankara, 142 s.
- Piyasena, P., Mohareb, E. & McKellar, R.C., (2003), Inactivation of microbes using ultrasound: A review. International Journal of Food Microbiology, 87(3), 207-216.
- Suslick, K. S., (1988), "Ultrasound", VCH Publishers, 1, 129-130, 144.
- Thompson L.H. and Doraiswamy L.K., (1999), "Sonochemistry: science and Engineering" , Ind. Eng. Chem. Res. 38: 1215-1249.
- Vajnhandl, S. and Marechal, A. M. (2005), Ultrasound in textile dyeing and the colouration/ mineralization of textile dyes", Dyes and Pigments. 65: 89-101.
- Ying, J. C. L., Dayou, J., Phin, C. K., (2009), Experimental Investigation on the Effects of Audible Sound to the Growth of *Escherichia coli*, CCSE Modern Applied Science, Vol. 3, No.3.