

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

ELEKTROLİTİK SUYUN BAKTERİYEL
ENZİM ÜRETİMİNE ETKİSİ

Zübeyde TUNABAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE

2009

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

ELEKTROLİTİK SUYUN BAKTERİYEL
ENZİM ÜRETİMİNE ETKİSİ

Zübeyde TUNABAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Aziz TANRISEVEN

GEBZE
2009



**GEBZE YÜKSEK
TEKNOLOJİ
ENSTİTÜSÜ**

**MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
JÜRİ ONAY FORMU**

JÜRİ

ÜYE (BAŞKAN) : Doç. Dr. Aziz TANRISEVEN

A. Tanriseven

ÜYE : Doç. Dr. Ayhan ÇELİK

Ayhan Çelik

ÜYE : Prof. Dr. Bülent KESKİNLER

Bülent Keskinler

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15/01/2009 tarih ve 2009/02 sayılı kararı ile yukarıdaki öğretim elemanlarından oluşmuş jüri tarafından düzenlenen 05/02/2009 tarihli Tez Savunma Tutanağı neticesinde Yüksek Lisans öğrencisi Zübeyde TUNABAY'ın çalışması GYTE Mühendislik ve Fen Bilimleri Yönetim Kurulu/...../..... tarih ve/..../..... sayılı kararıyla BİYOKİMYA Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak onaylanmıştır.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

TEZİN BAŞLIĞI: Elektrolitik Suyun Bakteriyel Enzim Üretimine Etkisi

TEZİN YAZARI: Zübeyde TUNABAY

Bu çalışmada elektrolitik suyun; *Leuconostoc mesenteroides* B-512 FMC-13Glc, yerel izolat *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 mikroorganizmalarının büyümeleri ve bu mikroorganizmalar tarafından üretilen dekstransükraz, lipaz ve α -amilaz aktiviteleri üzerine olan etkinliği çalışıldı. Elektrolitik su, çeşme suyunun tuz eklemeden iki farklı cihaz ile elektroliz edilmesiyle hazırlanmıştır.

Elektrolitik su ile hazırlanan besiyerlerde mikroorganizmaların saf suyla hazırlanan besiyerlerden daha iyi büyüdüğü ve daha fazla enzim ürettikleri (dekstransükraz, lipaz ve α -amilaz) bulunmuştur. En iyi sonuç *Staphylococcus aureus*’ da elde edilmiştir ve lipaz aktivitesinde 50 ile 100 kat arasında artış bulunmuştur.

Bakteri büyümesi ve enzim üretimindeki artışlar, elektrolitik su ve saf suyla hazırlanan besiyerlerin ORP ve pH değerleri aynı olduğundan, elektrolitik suyun küçük molekül kümeleriyle açıklanmıştır. Küçük molekül kümeli su, besinlerin mikroorganizmalara saf sudaki yayılmaya göre daha hızlı yayılmalarını sağlamaktadır. Sonuçlar mikrobiyel üretimlerde geniş kullanım alanları sağlamaktadır.

SUMMARY

TITLE: The Effect Of Electrolytic Water On The Production Of Bacterial Enzyme

AUTHOR: Zübeyde TUNABAY

In this study, the effect of electrolytic water on the growth of such bacteria as *Leuconostoc mesenteroides* B-512 FMC-13Glc, a local isolate *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and production of dextranucrase, lipase and α -amylase by these microorganisms were studied. Electrolytic water was prepared by electrolysis of tap water without addition of salts in two different commercial apparatus.

It was found that microorganisms studied grew better and produced more enzymes (dextranucrase, lipase, and α -amylase) in broth medium prepared using electrolytic water than in broth prepared using distilled water. The best result was obtained using *Staphylococcus aureus* and the increase in lipase activity was between 50 to 100 folds.

It is proposed that a possible explanation for increase in both bacterial growth and enzymic production is due to the small cluster size of water in electrolytic water since pH values and oxidation-reduction potentials of broth mediums using distilled and electrolytic water were the same. Small cluster sized water could make diffusion of nutrients into microorganism much faster than diffusion of nutrients in distilled water. The results obtained could find wide applications in microbial productions.

TEŞEKKÜR

Maddi, manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme, bu araştırma konusunu öneren ve çalışmalarım sırasında hiçbir yardımı esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Aziz TANRISEVEN'e, deneylerimde ve yazım aşamamda yanımda olan araştırma görevlisi Çiğdem İLERİ'ye, laboratuarda benimle çalışan tüm arkadaşlarıma, manevi desteğiyle yanımda olan ve beni yalnız bırakmayan Mehmet KIRIMGİRAY'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	IV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XII
DENKLEMLER DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Suyun Yapısı	2
1.2. Sağlık İçin Su	3
1.2.1. İçilebilir Su Çeşitleri	4
1.3. Enzimler	6
1.3.1. Çalışılan Enzimler Ve Büyütülen Mikroorganizmalar	7
2. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	13
2.1. Elektrolitik Su Yapımı	13
2.1.1. Katot Reaksiyonları	13
2.1.2. Anot Reaksiyonları	14
2.2. Neden Hasta Oluyoruz?	16
2.2.1. Elektrolitik Suyun İyileştirme Mekanizması	18
2.2.2. Elektrolitik Suyun Antioksidan Etki Mekanizması	19
2.3. Elektrolitik Suyun Özellikleri	21
2.3.1. ORP (İndirgenme Yükseltgenme Potansiyeli)	21
2.3.2. pH	22
2.3.3. Düşük Sayılı Molekül Kümesi	23
2.3.4. Sertlik	25
2.3. Elektrolitik Su Yapımında Kullanılan Sistemler	25
2.3.1. Tek Odalı Elektroliz Sistemi	25
2.3.1. İki Odalı Elektroliz Sistemi	26
2.3.1. Üç Odalı Elektroliz Sistemi	26

2.4.Elektrolitik Suyun Kullanım Alanları	27
2.4.1.Elektrolitik Asidik Suyun (pH 4 – 6) Kullanım Alanları	27
2.4.2.Elektrolitik Bazik Suyun (pH 8 – 10) Kullanım Alanları	29
2.5.Denemelerde Kullanılan Elektrolitik Su Cihazları	33
2.6.Elektrolitik Suyun Saklama Koşulları	35
2.7.Su Dezenfeksiyonu Ve Sterilizasyonu Yöntemleri	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Gereçler	37
3.1.1. Kullanılan Maddeler	37
3.1.2 Kullanılan Aletler	38
3.1.3. Kullanılan Bakteri Türleri	39
3.2. YÖNTEM	39
3.2.1.İnce Tabaka Kromatografisi İle Karbonhidrat Tayini	39
3.2.2.Dinitro Salisilik Asit (DNS) Metodu İle Karbonhidrat Tayini	39
3.2.3.Bradford Metodu İle Protein Tayini	40
3.2.4. BCA Metodu İle Protein Tayini	40
3.2.5. Elektroaktif Suyun ve Mikroorganizmaların Büyütüleceği Besiyerlerin Hazırlanması	41
3.2.6. Mikroorganizmaların Analize Hazırlanması, Büyütülmesi, Enzim Üretimlerinin Sağlanması Ve Mikroorganizmaların Büyüme Eğrilerinin Çizilmesi	42
3.2.7. Süpernatantlardaki Protein Miktarlarının Tayini	44
3.2.8. Enzim Aktivitelerinin Tayini	45
3.2.9. Aktivite Artışlarının Hesaplanması	47
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	48
4.1. Sonuçlar	48
4.1.1. Elektrolitik Suyun <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Üzerine Etkisi	48
4.1.2. Elektrolitik Suyun <i>Staphylococcus aureus</i> Üzerine Etkisi	53
4.1.3. Elektrolitik Suyun <i>Bacillus subtilis</i> Üzerine Etkisi	58
4.2. Tartışma	63
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	71

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

pH	- log[H ⁺]
ORP	İndirgenme Yükseltgenme potansiyeli
E ⁰	Standart elektrot gerilimi
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NTU	Nefelometrik Bulanıklık Birimi
TLC	İnce tabaka kromatografisi
DNS	Dinitro salisilik asit
UV	Ultra viyole
BCA	Sodyum bicinchoninate
BSA	Bovin serum albumin
BHI	Brain hearth infusion
OD ₆₀₀	600 nm’de okunan optik yoğunluk
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IU	Uluslar arası birim

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Su molekülü	1
1.2 Suyun hücrelere difüzyonu	2
1.3 Su moleküllerinin çekimi	3
1.4 İçilebilir su çeşitleri	4
1.5 Elektrolitik su oluşumu	5
1.6 Suyun elektroliz reaksiyonları	5
1.7 Dekstranın yapısı	7
1.8 İzomaltooligisakkarit oluşumu	8
1.9 Lipazın katalizlemiş olduğu serbest yağ asidi oluşumu [Tietze, 1997]	9
1.10 α -amilaz'ın nişastaya etkisi	11
2.1 Elektrolitik su oluşumu	13
2.2 Hidrojen gazı oluşumu	14
2.3 Hidrojen ve sodyum hidrat oluşumu	14
2.4 Hidroksil iyonu oluşumu ve sodyum ayrılması	14
2.5 Serbest radikaller, aktif oksijen ve hidrojen peroksit oluşumları	15
2.6 Ozon gazı oluşumu	15
2.7 Oksijen gazı oluşumu	15
2.8 Oksijen gazı ve klor gazı oluşumları	15
2.9 Klor gazı ve çözülmüş klor oluşumları	16
2.10 Hidroklorik asit oluşumu	16
2.11 Hidroklorik ve diğer iyon oluşumları	16
2.12 Elektrolitik suyun iyileştirme mekanizması	18
2.13 Elektrolitik suyun antioksidan etki mekanizması 1 [Hayashi, 2008]	20
2.14 Elektrolitik suyun antioksidan etki mekanizması 2	21
2.15 pH skalası	22
2.16 Çeşme suyu molekülleri [Hayashi, 2008].	24
2.17 Elektrolitik su molekülleri [Hayashi, 2008].	24
2.18 Suların sertliği	25
2.19 Tek odalı elektroliz sistemi	25
2.20 İki odalı elektroliz sistemi	26

2.21 Üç odalı elektroliz sistemi	26
2.22 Süper okside suyun antibakteriyel etkisi 1 [Smirnov, 2002]	28
2.23 Süper okside suyun antibakteriyel etkisi 2 [Smirnov, 2002]	29
2.24 Elektrolitik bazık suyun kanserli hücelere etkisi [Smirnov, 2002]	30
2.25 Elektrolitik bazık suyun sebze büyümesine etkisi 1[Smirnov, 2002]	31
2.26 Elektrolitik bazık suyun sebze büyümesine etkisi 2[Smirnov, 2002]	31
2.27 Elektrolitik bazık suyun sebze büyümesine etkisi 3	32
2.28 Elektrolitik su cihazı 1	33
2.29 Antibakteriyel filtreler	34
2.30 Elektrolitik su cihazı 2	34
4.1. Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>L.mesenteroides</i> 'in büyüme eğrisi	49
4.2 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>L.mesenteroides</i> hücre sayıları	50
4.3 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>S.aureus</i> 'in büyüme eğrisi	53
4.4 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen lipaz aktivite değerleri	54
4.5 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>S.aureus</i> hücre sayıları	55
4.6 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>B.subtilis</i> 'in büyüme eğrisi	58
4.7 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen α -amilaz aktivite değerleri	59
4.8 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>S.aureus</i> hücre sayıları	60

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Oksidasyonun hayati organlara etkisi	18
2.2: Suların redoks potansiyelleri ve pH'ları	23
2.3 Karşılaştırmalı molekül ağırlıkları	23
3.1 Deneyde kullanılan kimyasal maddeler	37
4.1 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>L.mesenteroides</i> hücre sayıları	49
4.3 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve dekstransükraz aktivite sonuçları 2	52
4.4 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>S.aureus</i> hücre sayıları	54
4.6 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve lipaz aktivite sonuçları	57
4.7 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen <i>B.subtilis</i> 'in hücre sayıları	59
4.9 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve α -amilaz aktivite sonuçları 2	62

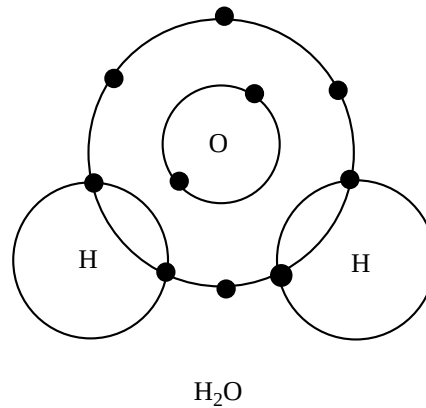
DENKLEMLER DİZİNİ

<u>Denklem</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Dekstransükraz aktivite denklemi	45
3.2 Lambert Beer Kanunu	46
3.3 Lipaz aktivite denklemi	46
3.4 α -amilaz aktivite denklemi	46
3.5 Aktivite artışlarının hesaplanma denklemi	47

1. GİRİŞ

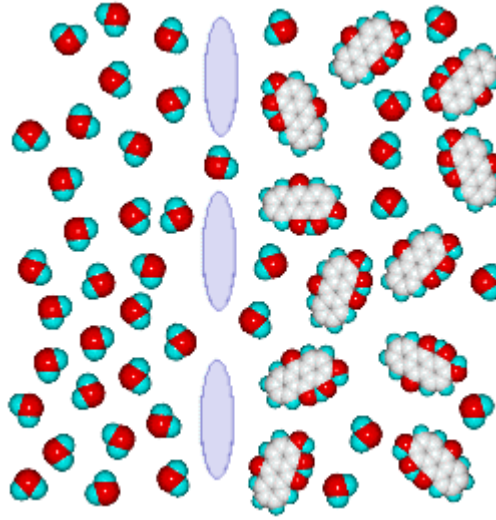
Su, tüm canlıların yaşamının olmazsa olmazıdır. Mars veya başka gezegenlerde yaşamın olup olmadığını anlamak için bilim adamları öncelikle suyun varlığını araştırmaktadırlar. Çünkü dünyada hayat tümüyle suya bağlıdır. Yaşadığımız dünyanın 2/3'ünün su olduğunu düşündüğümüzde bu önemi daha iyi anlamaktayız. İnsan vücudunda 40–45 litre sıvı bulunmaktadır. Vücudumuzda bulunan bu sıvılardan 5 litresini kan oluştururken 28 litresini de hücre içi ve dışı sıvılar oluşturmaktadır. Kanımızın yaklaşık %90'ı, beynimizin, %83'ü, böbreklerimiz %82'si, kalbimizin %79'u, ciğerlerimizin %80'i ve kemiklerimizin %22'si sudur. Canlıların tüm içsel tepkimelerinin gerçekleştirilmesinde, gıda maddelerinin vücutta kullanılıp atılmasında, vücudumuzdaki O_2 ve CO_2 'in taşınmasında, toksinlerin vücuttan atılmasında su gereklidir. Yeni doğan bir canlının %75 – 80'i, normal bir gencin %70'i sudur. Yaşımız ilerledikçe vücudumuzdaki su oranı azalmaktadır. Cildimizde oluşan yaşlılık belirtileri ve yaşlılıkta meydana gelen ciltteki bozulmalar vücudumuzdaki su oranının azalmasıyla ortaya çıkmaktadır. Yaşlı bir insanın vücudundaki su yüzdesi %50'lere kadar inmektedir [Batmanghelid, 2008; Tietze, 1997].

Tüm bitkilerde ve hayvanlarda yaşamı destekleyen kimyasal reaksiyon su aracılığıyla gerçekleşmektedir. Su sadece yaşamın devamını sağlayan reaksiyonları mümkün kılmakla kalmamakta aynı zamanda bu reaksiyonlarda etken bir madde olarak görev yapmaktadır. Kısacası, hayatın kimyası suyun kimyasıdır.



Şekil.1.1 Su molekülü

Hücrelerin büyüyüp gelişmesi için gerekli besin maddeleri hücre içine difüzyon yoluyla girer. Difüzyon, madde moleküllerinin hücre içine hücre zarındaki moleküller arası boşluktan ya da taşıyıcı bir proteine bağlanarak molekül hareketleriyle girişidir. Su ve suda çözünen maddeler bu boşluklardan geçebilirler. Hücrelerin büyüyüp çoğalmaları hücre içine giren besin maddeleriyle doğrudan orantılıdır. Su molekülleri tarafından etrafı sarılan besin maddeleri kolaylıkla hücre içine alınırlar.



Şekil.1.2 Suyun hücrelere difüzyonu

1.1. Suyun Yapısı

Su evrensel bir çözücüdür. Tek hidrojen elektronu ve 8 oksijen elektronu hayatın kimyasını oluşturan temellerdir.

Bir su molekülünde, 2 hidrojen atomu ve bir oksijen atomu karşılıklı bağlıdır. Ancak oksijen atomu hidrojen atomundan daha büyük olduğu için hidrojen elektronlarına çekimi nispeten daha kuvvetlidir. Böylece elektronlar büyük oksijen atomlarının kabuğuna daha çok yaklaşırken hidrojen kabuğundan uzaklaşmaktadırlar. Su molekülü bir bütün olarak sabit olsa da büyük oksijen atomlarının çekirdekleri moleküldeki oksijen parçasına negatif yük veren ortak hidrojen elektronları da dahil olmak üzere tüm elektronları çekmektedir [Smirnov, 2002].



Şekil.1.3 Su moleküllerinin çekimi

Hidrojen atomlarının kabuğu kendi elektronlarının oksijene yakın olması sebebiyle daha az pozitif yüklüdür. Bu durum su moleküllerinin diğer su molekülleri ile zayıf bir bağ oluşturmaya neden olmaktadır, çünkü molekülün oksijen kısmı negatif, hidrojen kısmı pozitif yüklüdür.

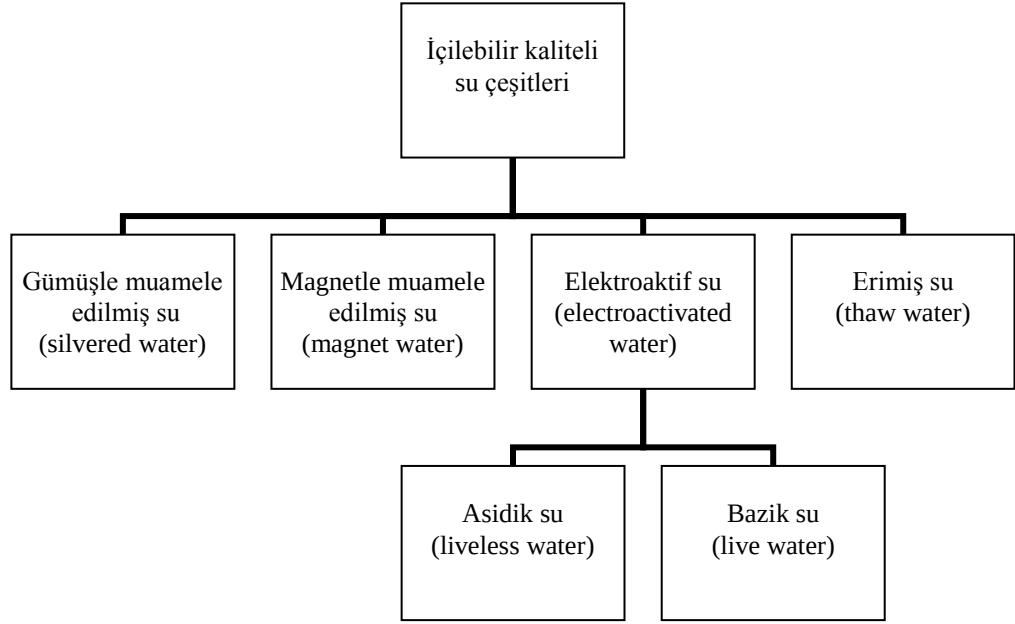
Bir hidrojen atomu kendi molekülündeki oksijen ile karşılıklı bir bağ oluştururken başka bir moleküldeki oksijen ile zayıf bir bağ oluşturmaktadır. Buna benzer olarak, molekülün oksijen kısmı diğer moleküllerin hidrojen kısmı ile zayıf bir bağ oluşturmaktadır. Bu zayıf bağlar yaşayan varlıklarda görülen birçok büyük molekülün şeklinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu bağlar, zayıf olması nedeniyle kırılırlar ve normal fizyolojik bir reaksiyon sırasında şekil değiştirebilirler.

Su moleküllerinin yapısı diğer moleküllerdeki daha sıkı bağları çözme yeteneğine sahiptir. Su daha büyük ve karmaşık moleküllerdeki bağları çözen doğal bir çözücüdür. [Tietze, 1997, Smirnov, 2005].

1.2. Sağlık İçin Su

Bir insan günde 2- 2.5 litre kaliteli su içmelidir. İçtiğimiz suyun kalitesi de içmemiz gereken miktar kadar önemlidir. Sağlıklı yaşam için içtiğimiz suya dikkat etmeliyiz. Kötü su midede şişkinlik yaparak mide rahatsızlıklarına sebep olduğu gibi çoğu hastalığın da bulaşmasına neden olmaktadır.

Geçmişte ve günümüzde insanlar kaliteli su içebilmek için çeşitli metotlar geliştirmiştir. Aşağıda bu metotlarla ilgili bir şekil görülmektedir [Sibilskis, 2007].



Şekil.1.4 İçilebilir su çeşitleri

1.2.1. İçilebilir Su Çeşitleri

Gümüşle Muamele Edilmiş Su: Suyun içine konan küçük bir miktar gümüş, bakteri ve biyolojik kirliliği gidermede bilinen pek çok antiseptik ve antibiyotikten çok daha aktiftir.

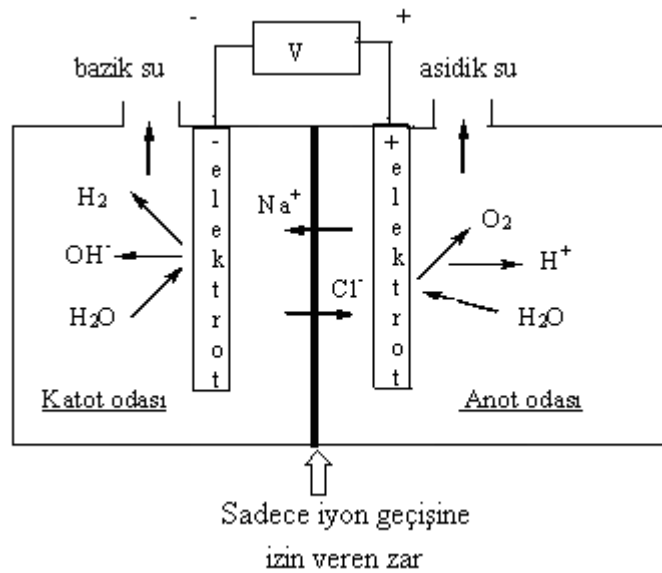
Magnetle Muamele Edilmiş Su: Manyetik alanlardan akan suyun, sağlık açısından çok büyük faydaları olduğu bilinmektedir. Magnet ile muamele edilmiş su içilebilir, magnetle muamele edilmiş su ile yıkanılabilir ve bitkiler sulanabilir.

Erimiş su: Çeşme suyu buzluğa konur. 4 veya 5 saat sonra suyun üzerinde bir buz tabakası oluşur. Bu buz tabakası suyun çabuk donmasını sağlayan ağır su (döteryum) moleküllerini içerir. Buzun altında kalan su tekrar suyun 2/3 'ü donacak kadar buzluğa konur. Bu sefer donmamış olan su tüm kimyasalları içeren atılacak olan kısımdır. Kalan buz oda sıcaklığında eritilir. Bu erimiş sudan günde 2–3 bardak olacak şekilde yemeklerden önce 1 bardak içilerek daha sağlıklı bir bedene sahip olunabilmektedir. Erimiş su dolapta saklanmalıdır [Sibilskis, 2007].

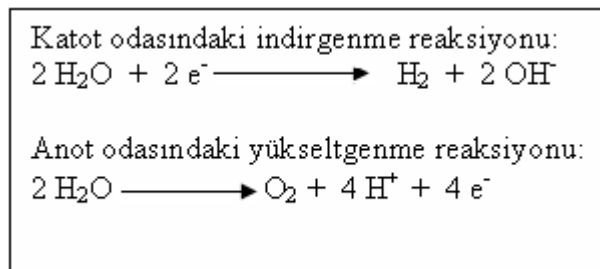
Elektrolitik su: Elektrolitik su, çeşme suyunun elektrolizi ile oluşan bir çeşit sudur. Elektroliz sırasında çeşme suyu yeni özellikler kazanmaktadır. Suyun elektrolizi, yarı geçirgen zarla ayrılmış bir sistemde yapılmaktadır.

Elektroliz sırasında anot odasında suyun oksijeni yükseltgenirken O_2 gazı, katot odasında suyun hidrojeni indirgenirken H_2 gazı açığa çıkmaktadır.

İndirgenme ve yükseltgenme olaylarıyla anot haznesinde pH'ı 3 – 6 arasında olan asidik elektrolitik su oluşurken katot odasında pH'ı 8 – 11 arasında olan bazik elektrolitik su oluşmaktadır.



Şekil.1.5 Elektrolitik su oluşumu



Şekil.1.6 Suyun elektroliz reaksiyonları

Asidik elektrolitik su, mikroorganizmaları öldürme etkisi yüzünden “liveless water” adını almaktadır. Bazik elektrolitik su ise, yaşamsal ekinliklere olan olumlu katkısından dolayı “live water” adını almaktadır.

Su elektrolizi teknolojisi ilk olarak 1900’lü yıllarda soda endüstrisinde, Sodyum hipoklorit üretiminde kullanılmıştır. 1980 yılında, su dağıtım şirketlerinde bulunan suların sağlık açısından denetlenmesi sırasında bu teknolojiyle karşılaşmıştır. Japonya’da geliştirilen bu metot şu anda Hindistan, İsrail, Almanya, Avusturya, Polonya, Bulgaristan, Litvanya, Rusya, Özbekistan, Ukrayna, Çin ve Amerika’da birçok değişik alanda kullanılmaktadır [Gornev and Serguei, 2000, Al-Haqet et al., 2005].

İsrail 2003 yılında, “Neowater” adını verdikleri suyu 880°C’ye ısıtılmış toz halindeki $BaTiO_3$ ’in radyofrekans dalgalarıyla 2–4°C’ye soğutulup suya damlatılmasıyla oluşturmuşlardır. Damlatma işleminde oluşan nano boyuttaki parçacıklar suya değişik özellikler kazandırmıştır. [Gabbai, 2003] “Neowater”’ın etkisine bakılırken, saf β -galaktosidaz ve bazik fosfataz saf su ve “Neowater” ile seyreltilmiştir. Seyreltilen enzimlerin belirli süreler sonunda aktivitelerine bakılmıştır ve saf suyla seyreltilen enzimler zamanla aktivitesini kaybederken “Neowater”la seyreltilen enzimlerin başlangıç aktivitesini koruduğu görülmüştür. [Gabbai, 2003]

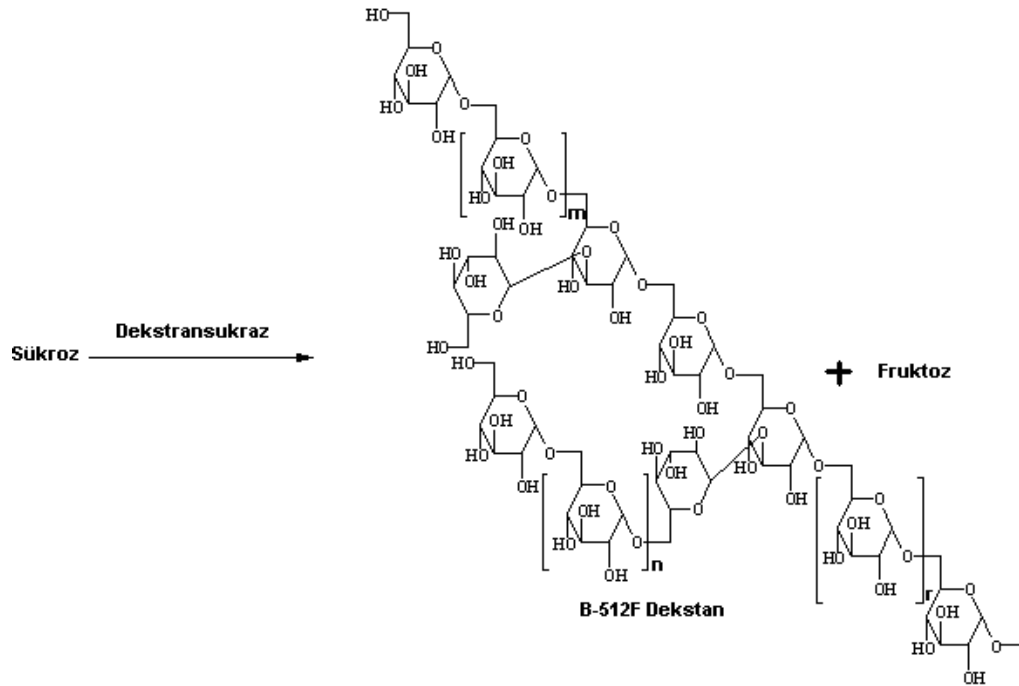
1.3. Enzimler

Enzimler hücrelerde biyokimyasal reaksiyonları katalize eden proteinlerdir. Hücrelerde çok önemli metabolik görevleri olan enzimler artık çok çeşitli amaçlar için kullanılmak üzere günlük hayata girmişlerdir. Günümüzde mikrobiyel kaynaklı endüstriyel enzimlere olan ihtiyaç sürekli artmaktadır. Reaksiyonların gerçekleşmesi için ihtiyaç duyulan pahalı kimyasallar artık yerini enzimlere bırakmaktadır. Enzimler gıda, süt, ilaç, deterjan, tekstil ve kozmetik sanayisi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır.

1.3.1. Çalışılan Enzimler Ve Büyütülen Mikroorganizmalar

1.3.1.1. Dekstransükraz Ve *L.Mesenteroides*

Dekstransükraz 170 kDa moleküler ağırlığındadır. Saf dekstransükrazın optimum pH sı 5.0–5.5 ve optimum sıcaklığı 30°C dir. Optimum enzim üretimi ve aktivitesi için az miktarda kalsiyuma ihtiyaç vardır. Dekstransükraz, gıda fermentasyonu (tuzlanmış lahana, turşu, et ürünleri gibi), peynirlerde gaz (CO₂) oluşturmak, sükröz içeren ürünlerde dekstran, endüstriyel ya da klinik kullanımda önemli polimerler veya yağ endüstrisinde biyolojik yardımcı üretmek için kullanılmaktadır. Dekstransükraz, yüksek molekül ağırlıklı, çözünabilen dekstran oluşturur. Dekstran ve dekstran türevlerinin önemli kullanım alanları bulunmaktadır. Kan plazması, kolon dolgu maddesi, gıda katkı maddesi, patlayıcı, güçlü yapıştırıcı ve buna benzer birçok kullanım alanı mevcuttur [Cooke et al., 2002].

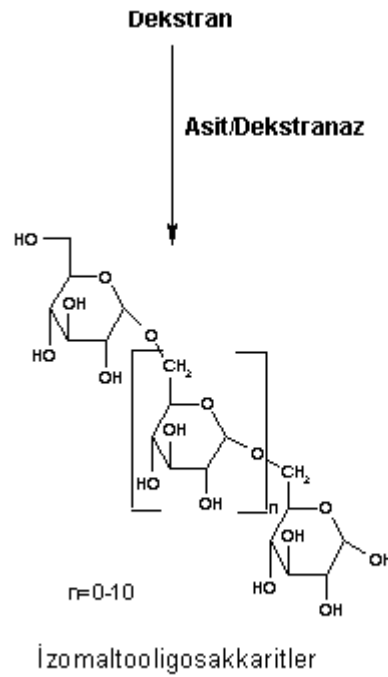


Şekil.1.7 Dekstranın yapısı

Endüstriyel dekstran, jel filtrasyon ürünlerinin üretiminde, kan hacmini arttırıcı ve kan akış hızını ayarlayıcı olarak kullanılır. Süt ürünleri teknolojisinde dekstran gıda katkısı olarak kullanılır ve vizkoziteyi arttırır. Dibe çökmeyi azaltır ve

ürün kararlılığını geliştirir. Fermente süt, krema, sütlü tatlı üretiminde ve süütün tatlandırılmasında önemli rol oynar [Cooke et al., 2002; de Vuyst and Degeest., 1999; 2002; Duboc and Mollet, 2001; Pucci and Kunka, 1995].

Dekstransükraz, sükrozdan oligosakkaritleri oluşturur. Oligosakkaritler bir ya da daha fazla glikozil birimi içeren α (1,2) bağlarıyla bağlı ve kesim enzimlerine hayli dirençli olan şekerlerdir. Bu nedenle kozmetikte, prebiotik olarak ve insan besini olarak kullanılabilir. İzomaltooligosakkaritler (IMO), α (1-6) glukozidik bağlarla bağlı glukoz monomerlerinden oluşan prebiotik etkileri olan oligosakkaritlerdir [Naessens et al., 2005].



Şekil.1.8 İzomaltooligisakkarit oluşumu

L.mesenteroides, dekstransükraz üreten önemli bir mikroorganizmadır. *L.mesenteroides* hücreleri küresel olabilir, fakat özellikle agarda büyütüldüğünde sıklıkla oval görünümündürler. Hücreler genellikle çiftler ve zincirler oluştururlar. Gram pozitif ve hareketsizdirler, spor oluşturmazlar. Fakültatif anaeropturlar. Aerobik koşullarda, oksijen tüketimi spesifik büyüme hızındaki artış ile

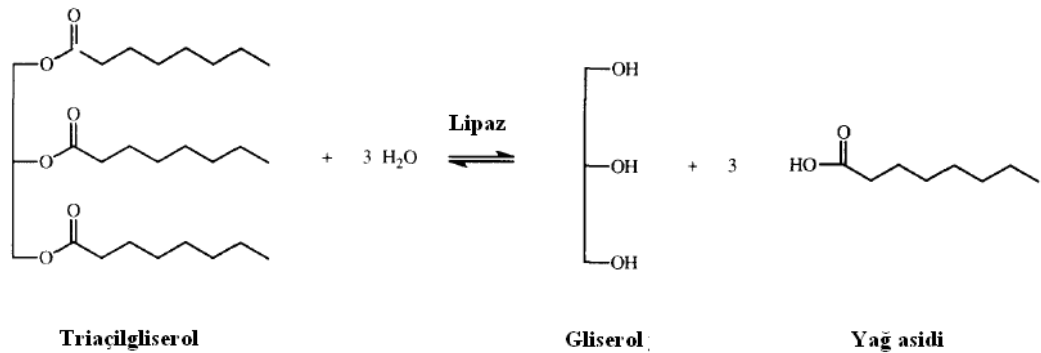
bağlantılıdır. Oksijen alternatif elektron alıcısı olarak kullanılır ve hidrojen perokside ve suya indirgenir [Cogan and Jordan, 1994].

Koloni çapı genellikle 1 mm' den daha küçüktür. Yuvarlak ve gri beyaz koloniler oluşturmaktadır. 5°C ile 30°C arasında üreyebilseler de optimum üreme sıcaklığı 20-30°C dir.

*L. mesenteroides*ler, bitki, hayvan ve insanlarda hastalık oluşturmazlar.

1.3.1.2. Lipaz Ve *S.Aureus*

Lipazlar (triacilgliserol açilhidrolaz) endüstriyel potansiyeli olan ve fizyolojik olarak çok büyük öneme sahip enzimlerdir. Lipazlar sulu ortamda triacilgliserollerdeki karboksil ester bağlarına etki ederek gliserol ve yağ asitlerinin oluşumunu sağlayan hidrolazlardır [Jaeger et al., 1994].



Şekil.1.9 Lipazın katalizlemiş olduğu serbest yağ asidi oluşumu [Tietze, 1997]

Bir trigliserid gliserole ve yağ asitlerine hidrolize edilebilir ya da tersinir reaksiyonla gliserol ve yağ asitlerinden trigliseritler sentezleyebilir[Tietze, 1997].

Lipazlar sindirim süresince ve metabolik ihtiyaç olduğunda depolanan enerjinin tekrar kullanılmasında önemli bir role sahiptir. Eczacılık, kozmetik, beslenme, kağıt üretimi, tarım kimyasalları endüstrisi, süt endüstrisi, yağ kimyasalları endüstrisi, organik kimyasal üretimi gibi pek çok alanda kullanımı

mevcuttur. Lipazların ticari olarak en çok kullanımı temizlik maddeleri sanayisindedir.

Lipazlar γ -linoleik asit üretiminde, gıda renklendiricilerinde, meyve tatlandırıcılarında, prepolimer kullanımı için dikarboksilik asit üretiminde, bebeklerin beslenmeleri için anne sütü yağına benzer yağların eldesinde kullanılmaktadırlar. İltihap giderici, yüksek tansiyonu azaltan ilaçların sentezinde de lipazlar kullanılmaktadır. Lipazlar ayrıca yağlı atıkların ve poliüretanın parçalanmasını hızlandırmak için de kullanılırlar [Sharma et al., 2001].

Lipazların pH 6.0-7.5 aralığında çok kararlı, pH 4'ten düşük ve pH 8'den yüksek pH'larda ise kararlı olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Pankreatik lipazlar 40°C'den yüksek sıcaklıklarda muhafaza edildiğinde aktivitesini kaybederken, çoğu mikrobiyel kaynaklı lipazlar ısı inaktivasyonuna daha dirençlidir. Kalsiyum gibi iki değerlikli iyonlar genellikle lipaz aktivitesini uyarmaktadır. Bunun sebebinin uzun-zincirli yağ asitlerinin kalsiyum tuzu oluşturmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Co^{+2} , Ni^{+2} , Hg^{+2} ve Sn^{+2} tarafından lipaz aktivitesi belirgin bir şekilde inhibe olurken; Zn^{+2} , Mg^{+2} , EDTA ve SDS tarafından da inhibe edilmektedir [Saxena et al., 1999].

Biyoteknoloji alanında genellikle mikrobiyel kaynaklı lipazlar kullanılmaktadır. Ekstrasellüler bakteriyel lipazlar üretimlerinin kolay olması nedeniyle kimyasal öneme sahiptir.

Bakteriyel lipazlar genellikle ekstrasellülerdirler ve besiyeri ortamında sıcaklık, pH, azot ve karbon kaynağı gibi fiziko-kimyasal faktörlerden, lipidlerin varlığı, inorganik tuzlar, karıştırma ve çözünmüş oksijen konsantrasyonundan etkilenmektedirler. [Gupta et al., 2004].

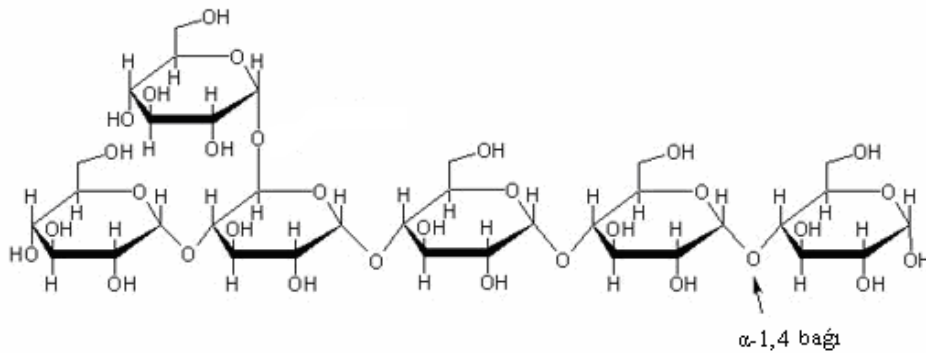
Staphylococcus aureus lipaz üreten bir mikroorganizmadır. Stafilokoklar; yuvarlak, 0.5, 1.5 μm çapında koklardır. Genellikle düzensiz kümeler ve üzüm salkımı şeklinde görülürler. Ayrıca tetrat, ikişerli kok veya tekli koklar şeklinde de görülürler ve gram pozitifler. Bu mikroorganizmalar hareketsiz, fakültatif anaerob, fakat genellikle aerob üremeyi seven, katalaz pozitif, % 10 NaCl' lü ortamda ve 18–40°C arasında üreyebilen mikroorganizmalardır. *S.aureus*, pigmentli,

sporsuz, hareketsiz bir kapsüldür. Doğada her yerde yaygın olarak bulunur. 37°C ve pH 7.4' de iyi ürerler. Altın sarısı renginde pigment oluşturur. Isıya ve kuruluğa dayanıklıdır. İnsan ve sıcakkanlı hayvanlarda gıda zehirlenmesi, deri ve mukozada oluşan enfeksiyonlara neden olabilmektedir [<http://www.mikrobiyoloji.org/>]

1.3.1.3. α -Amilaz Ve *B.Subtilis*

Mikrobiyel enzimler arasında en yaygın kullanılanlardan biri de α -Amilazdır. α -amilaz gıda endüstrisinin farklı alanlarında, meyve suyu endüstrisinde, deterjanların üretiminde, eczacılıkta ve tekstil endüstrisinde yaygın şekilde kullanım alanı bulmuştur. Karbohidratazlar grubuna giren α -Amilaz enzimi %13'lük oran ile önemli bir yer tutmaktadır. α -amilaz özellikle yiyecek ve deterjan endüstrisinde önemli yeri olan endüstriyel amilolitik bir enzimdir. Amilaz, ekmek üretimi, nişastadan alkol üretimi ve tekstil endüstrisinde nişasta kirliliğinin giderilmesi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle kuru temizleme gibi yeni alanlarda da giderek artan şekilde kullanım alanı bulmuştur [Igarashi et al., 1998].

α -Amilaz, nişastanın sıvılaştırılmasında kullanılmaktadır. Nişasta ve türevlerinin indirgen olmayan uçlarından α -1,4 glikozid bağıni hidroliz ederek D-glikozun ayrılması reaksiyonunu katalizler.



Şekil.1.10 α -amilaz'ın nişastaya etkisi

Bu enzimin en önemli kullanım alanı glikoz şurubu ve fruktoz şurubu üretimidir. Nişasta süspansiyonu asit veya enzim ile karıştırıldıktan sonra α -amilaz ile muamele edilerek nişastadan glikoz elde edilir [Ulman, 1991].

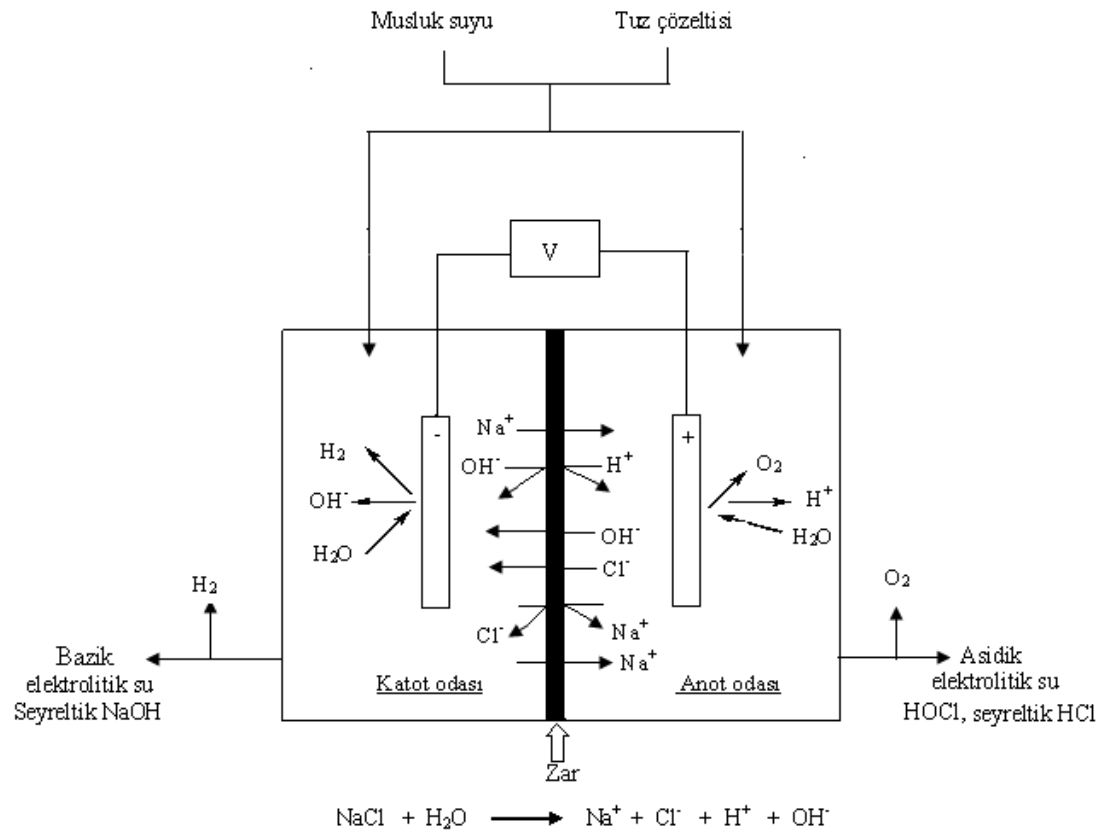
α -Amilazın pH 7.0-7.5 aralığında % 10 NaCl varlığında maksimum aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [Kiran et al., 2008]. α -amilaz üreten önemli soylardan biri *Bacillus subtilis*' dir. *Bacillus* cinsinde bakteriler çubuk şeklinde olup, genellikle çiftler halinde ya da zincir oluşturacak şekilde dizilirler. Hücreler genellikle dikdörtgen şeklindedir. Gram pozitifdirler ve hareketleri kamçı yardımıyla sağlanır. Aerobik ya da fakültatif anaerobiktirler. Kemoorganotrofturlar. Genellikle katalaz pozitiflerdir. Yaşama alanları geniştir ve aralarında bir kaç tür, omurgalı ya da omurgasızlar için patojendir [Sneath, 1986].

Bu çalışmanın amacı, elektrolitik suyun özelliklerini kullanarak, saf suya kıyasla daha fazla miktarlarda *L.mesenteroides*, *S.aureus* ve *B.subtilis* bakterilerini üretmek ve bu bakterilerin ürettikleri, geniş kullanım alanlarına sahip olan dekstransükraz, lipaz ve α -amilazı saf suya oranla daha aktif olarak elde etmektir.

2. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

2.1. Elektrolitik Su Yapımı

Elektrolitik su, çeşme suyunun, sadece iyonların geçişine izin veren, yarı geçirgen bir zar ve platin kaplı titanyum elektrotların bulunduğu bir elektroliz düzeneğiyle elektroliz edilmesiyle meydana gelmektedir [Hayashi, 2000; Smirnov, 2003; Khan, 2007].



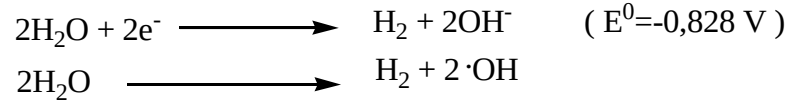
Şekil.2.1 Elektrolitik su oluşumu

2.1.1. Katot Reaksiyonları

Çeşme suyunun elektrolizinde katot odasında pH'ı 8 – 11 arasında olan indirgenmiş bazik elektrolitik su oluşmaktadır. Hidroksil iyonları derişimi ile pozitif iyonların derişimleri artarken negatif iyonların derişimleri ve suyun indirgenme yükseltgenme potansiyeli (ORP) azalarak negatif değerlere gelmektedir. Ayrıca

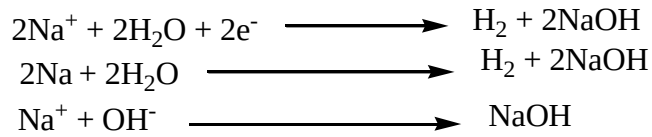
Hidrojen gazı çözünürken aktif hidrojen atomları da oluşmaktadır [Al-Haq et al., 2005].

1) Hidrojen gazı oluşumu:



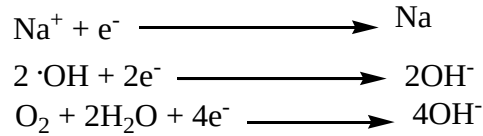
Şekil.2.2 Hidrojen gazı oluşumu

2) Hidrojen ve sodyum hidrat oluşumları:



Şekil.2.3 Hidrojen ve sodyum hidrat oluşumu

3) Hidroksil iyonu oluşumu ve sodyum ayrılması:

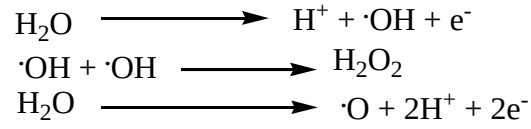


Şekil.2.4 Hidroksil iyonu oluşumu ve sodyum ayrılması

2.1.2 Anot Reaksiyonları

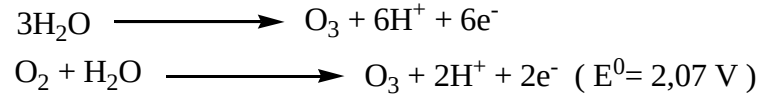
Elektrolizde anot odasında pH'ı 3 – 6 arasında olan yükseltgenmiş asidik elektrolitik su oluşmaktadır. Hidrojen iyonları derişimi ile negatif iyonların derişimleri artarken pozitif iyonların derişimleri ve suyun indirgenme yükseltgenme potansiyeli (ORP) artarak yüksek pozitif değerlere ulaşmaktadır. Anot odasında ise Oksijen gazı çözünmektedir [Al-Haq et al., 2005].

1)Serbest radikaller, aktif oksijen ve hidrojen peroksit oluşumları:



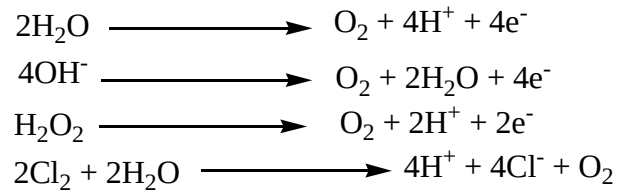
Şekil.2.5 Serbest radikaller, aktif oksijen ve hidrojen peroksit oluşumları

2)Ozon gazı oluşumu:



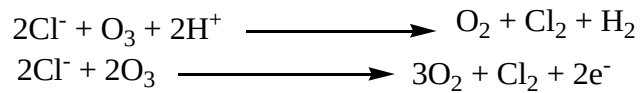
Şekil.2.6 Ozon gazı oluşumu

3)Oksijen gazı oluşumu:



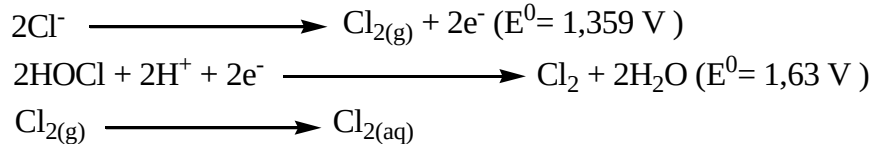
Şekil.2.7 Oksijen gazı oluşumu

4)Oksijen gazı ve klor gazı oluşumları:



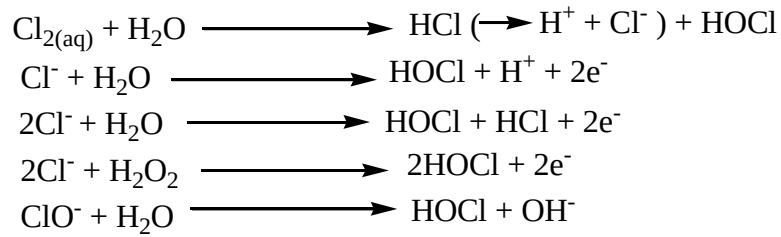
Şekil.2.8 Oksijen gazı ve klor gazı oluşumları

5)Klor gazı ve çözünmüş klor oluşumları:



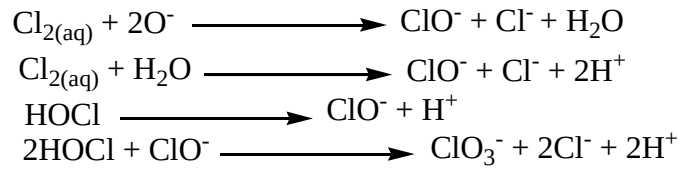
Şekil.2.9 Klor gazı ve çözünmüş klor oluşumları

6)Hidroklorik asit oluşumu:



Şekil.2.10 Hidroklorik asit oluşumu

7)Hidroklorik ve diğer iyonların oluşumları:



Şekil.2.11 Hidroklorik ve diğer iyon oluşumları

2.2. Neden Hasta Oluyoruz?

Oksijen yaşam için vazgeçilmez olup, havada karardır. Havadan soluduğumuz oksijen diatomik haldedir. Çoğunlukla, soluduğumuz oksijenin %2'si aktif oksijene dönüşmektedir ve bu miktar %20'lere kadar çıkabilmektedir. Bu şekilde tek kalan elektronları içeren serbest radikaller kararlı olmayıp yüksek oksidasyon potansiyeline sahiptirler ve diğer hücrelerden elektron çalmaya

yatkındırlar. Bu serbest radikaller vücudun içinde bakteri, virüs ve diğer atıklara saldırmada ve elimine etmede önemli yararlar sağlamaktadırlar. Ancak bu serbest radikallerin sayısı çok artarsa normal dokulara zarar vererek çeşitli problem ve hastalıklar yaratabilmektedirler. Havadaki mikroplar yumurtanın, etin ve balığın, proteinine, peptidine ve aminoasidine yerleşince çürüme olayı oluşmaktadır. Sonuçta istenmeyen hidrojen sülfür, bağırsaklarda histidinin yıkılması sonucunda ortaya çıkan histaminler, indoller, fenoller, skatoller gibi maddeler oluşmaktadır. Bu maddeler vücutta hazım sonrasında da oluşmakta ve dışkıda istenmeyen kokulara yol açmaktadırlar. Bozuk yiyeceklerin çürümesi havadaki mikroplar yüzünden olurken, bu doğal olay sindirim sisteminde bağırsaktaki mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilmektedir. Sindirim olayı sonucunda ortaya çıkan bu maddeler patojenik olup vücutta hastalık yapabilmektedirler [Hayashi, 2008].

Hidrojen sülfür ve amonyak doku toksinleridir ve karaciğeri zedeleyebilmektedirler. Histaminler, deri iltihabı ve astım gibi alerjik hastalıklara neden olabilmektedirler. İndoller ve fenoller ise kanserojendirler [Hayashi, 2008].

Hidrojen sülfür, amonyak, histamin, fenol ve indol gibi artık maddeler toksik özellik taşımaktadırlar. Vücudun koruma mekanizması nötrofil (bir çeşit lökosit veya beyaz kan hücresi) salgılayarak bu maddeleri elimine etmeye çalışır. Bu nötrofiller aktif oksijen üretirler. Oksijen molekülleri bölünen dokuları yakalamada ve toksik hücrelerden elektron almada etkilidirler. Ancak vücut tarafından bu aktif oksijen moleküllerinin, diğer bir deyişle serbest radikallerin, çok üretilmesi durumunda problemler ortaya çıkmaktadır. Bunlar çok aktiftirler ve normal, sağlıklı hücrelerden de elektron çalıp genetik yapılarını bozabilirler. Bu aktif oksijen radikalleri normal ve sağlıklı biyolojik moleküllerden elektron çalabilirler. Aktif oksijenler tarafından gerçekleştirilen bu elektron hırsızlığı dokuları okside eder ve hastalıklara yol açar [Hayashi, 2008].

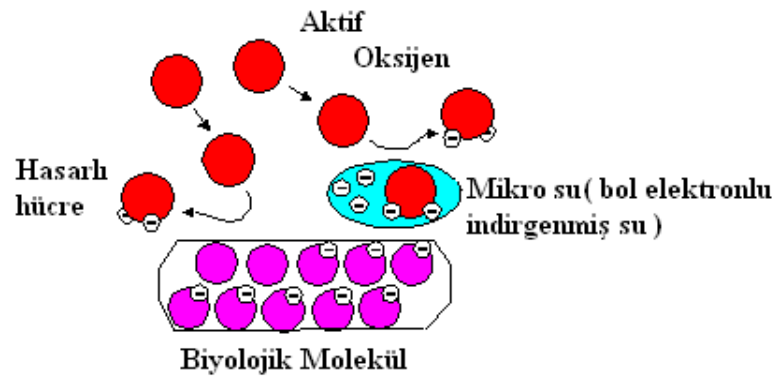
Tablo.2.1 Oksidasyonun hayati organlara etkisi

Oksidasyon	Hastalık
Karaciğer	Hepatit, Siroz, Kanser
Pankreas	Pankreatitis, Diyabet, Kanser
Böbrek	Nefrit, Nefrosis, Kanser

Aktif oksijen normal dokulara zarar verebildiğinden bu aktif oksijen sağlıklı dokuda bozulmaya ve bölünmeye yol açmadan yakalanmalıdır. Eğer sağlıklı dokuların aktif oksijen tarafından okside olmasını önlersek hastalıkları da önlemiş oluruz.

Sağlıklı dokuyu aktif oksijenin yol açtığı oksidasyonun yıkımından korumanın bir yolu, oksijen radikallerine serbest elektronlar sağlamaktır. Böylece bunların yüksek oksidasyon potansiyelleri nötralize edilmiş ve sağlıklı dokulara etkisi önlenmiş olur.

2.2.1.Elektrolitik Suyun İyileştirme Mekanizması

**Şekil.2.12** Elektrolitik suyun iyileştirme mekanizması

Elektrolitik su organizmanın doğal aktivitelerine katılmaktadır. Düşük molekül ağırlığı ve mikro-molekül yapısı nedeniyle elektrolitik su karaciğerden başlayarak alt sindirim sisteminde karaciğere ve diğer organlara kolaylıkla ulaşmaktadır [Hayashi, 2008; Paskalov et al., 2004].

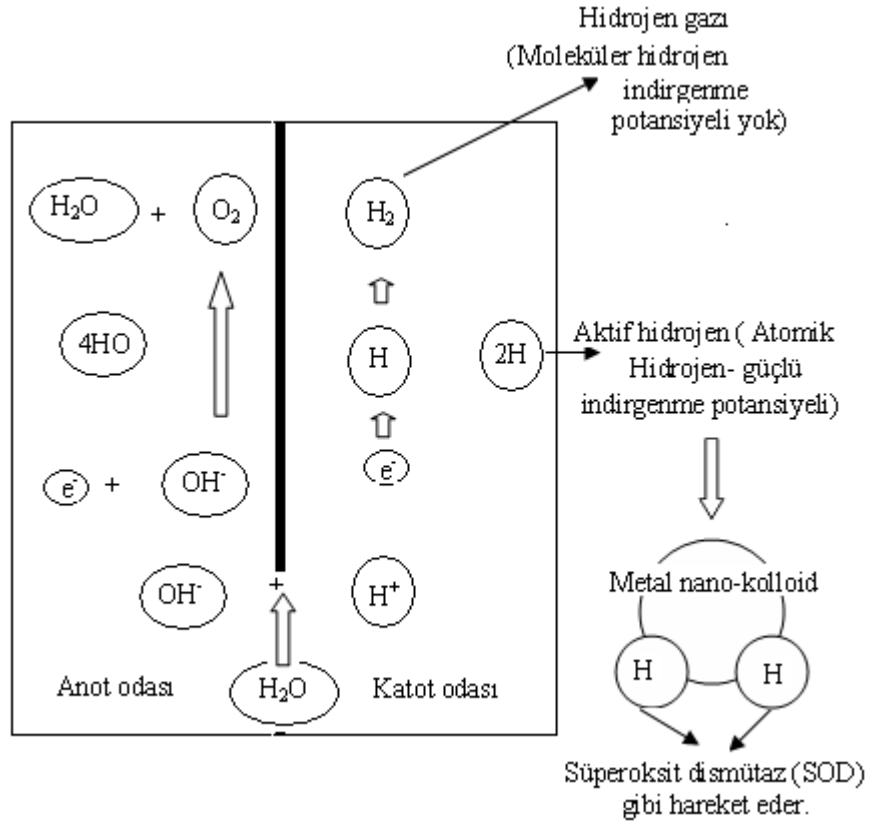
Elektrolitik su, indirgen potansiyeli yükselterek serbest radikallerin normal dokulara oksidasyonunu engellemekte aktif oksijenin fazlasını nötralize etmektedir. Hücrelerdeki enzimleri inaktive eden, DNA'ya zarar veren, yağ dokusunu yıkarak hastalıklara ve yaşlanmaya sebep olan aktif oksijene karşı tedbir aktif hidrojenidir.

Zarar görmemiş biyolojik moleküller enfeksiyon ve hastalıklara karşı dirençlidirler. Alkali su ekstra elektron vermek yoluyla aktif oksijeni redükte etmekte ve zararsız hale getirmektedir. Aktif oksijen çevresindeki biyolojik moleküllere zarar vermeden redükte olmaktadır. Alkali su sindirim sistemindeki hidrojen sülfür, amonyak, histaminler, indoller ve fenoller gibi zararlı maddelerin metabolizmalarını azaltmaktadır. Böylece alkali suyun düzenli olarak kullanılması halinde birkaç gün içinde daha temiz bir dışkı oluşmaktadır [Hayashi, 2008].

2.2.2.Elektrolitik Suyun Antioksidan Etki Mekanizması

Suyun elektrolizi esnasında katot odasında iki farklı grup hidrojen oluşumu meydana gelmektedir. Bunlardan biri olan hidrojen gazı (H_2) herhangi bir indirgenme potansiyeline sahip değildir ve antioksidan özelliği yoktur. Oluşan bu hidrojen gazı kararlıdır. Diğer hidrojen oluşumu aktif atomik hidrojenidir (H).

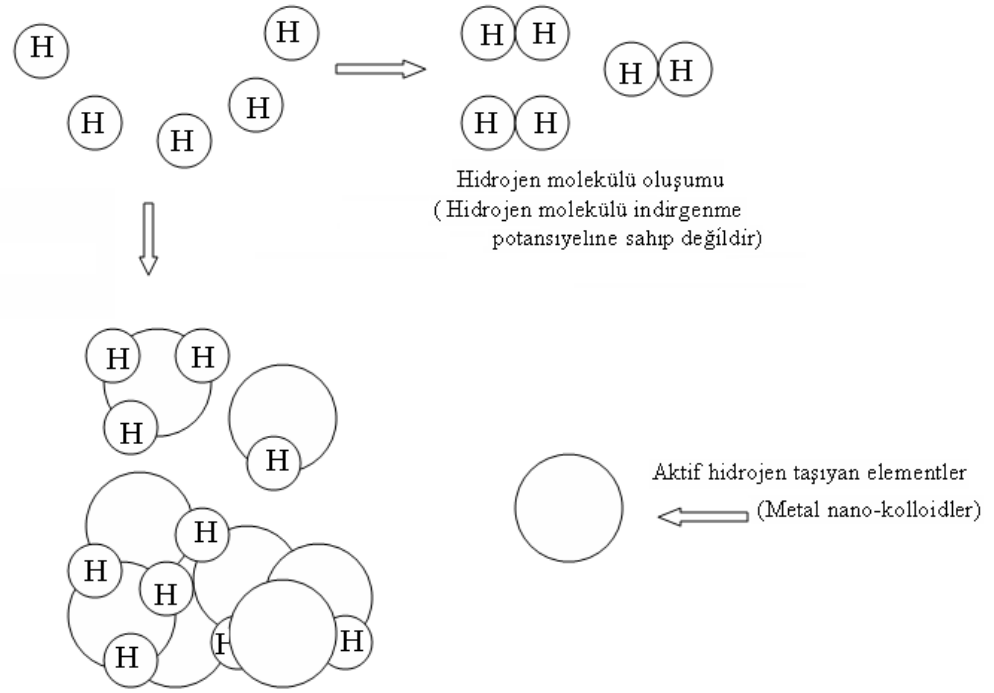
Aktif atomik hidrojen metal nano-kolloitlerin üzerinde emilerek kuvvetli indirgenme potansiyeline sahip antioksidan özelliği (süperoksit dismütaz) göstermektedir. Metal nano-kolloitlerin üzerine difüzlenen aktif hidrojen uzun süre hücrelerde kararlılığını korumaktadır [Hayashi, 2008; Shirahata et al., 1997; Hanaoka et al., 2004].



Şekil.2.13 Elektrolitik suyun antioksidan etki mekanizması 1 [Hayashi, 2008]

Aktif hidrojenler küçük boyuttadırlar. Bu tip küçük metaller suyun içinde uzun süre kararlılığını korumaktadırlar. Küçük boyutlardaki metal nano-kolloitler hızlı bir şekilde vücut hücreleri ve doku tarafından emilmektedirler. Aktif hidrojen yapısı gereği vücuda maksimum yararı sağlamaktadır [Hayashi, 2000].

Suyun hidrolizi ile oluşan aktif hidrojen (H)



Şekil.2.14 Elektrolitik suyun antioksidan etki mekanizması 2

Şu anda bütün dünya suyun önemini kavramaya çalışmaktadır. Su yeryüzünde bol miktarda bulunan bir kaynak olmasına rağmen Japonya ve diğer ülkelerde tüketiciler şişelenmiş su satın almaktadırlar. Araştırma bulguları mineral suların +200 mV indirgenme yükseltgenme potansiyeline (ORP) (antioksidan potansiyel ölçüsü) sahip olduğunu göstermektedir ki bu +400 mV ORP değerine sahip şebeke suyundan farklıdır. Diyebiliriz ki kaynak suları, şehir şebeke suyuna göre ORP değerleri açısından daha iyidir [Hayashi, 2000].

2.3.Elektrolitik Suyun Özellikleri

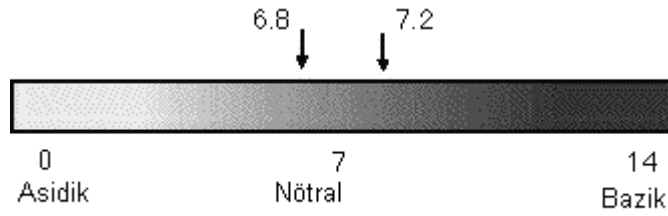
2.3.1.ORP (İndirgenme Yükseltgenme Potansiyeli)

Musluk ve elektrolitik suyun ORP değerleri birbirinden farklılık göstermektedir. ORP değerleri ORP ölçer ile ölçüldüğünde elektrolitik asidik suyun ORP değeri +400 ile +500 mV arasında değişmektedir. Pozitif indirgenme potansiyeli nedeniyle elektron almaya ve diğer molekülleri yükseltgemeye yatkındır. Diğer yandan, elektrolitik bazik suyun ORP değeri -250 ile -350 mV arasında

değişmektedir. Bu demektir ki, elektron açlığı olan aktif oksijene bol miktarda elektron sağlama özelliğine sahiptir. Elektrolitik bazik su, bu özelliği açısından kaynak sularına ve özellikle şehir şebeke suyuna göre çok daha fazla etkindir ve sağlıklıdır [Hayashi, 2008; Damm et al., 1966; Shirahata et al., 1997].

2.3.2.pH

Yaşayan varlıklar pH dengesine çok duyarlıdır ve (sindirim sistemi gibi bazı olaylar dışında) çözeltiler nötre yakın olduğu zaman fonksiyonel olurlar. Birçok yaşayan organizmanın içi (hücre çekirdeği dışında) 6.8 pH değerine sahiptir.



Şekil.2.15 pH skalası

Kan plazması, vücutta hücreleri çevreleyen diğer sıvılar 7.2 – 7.3 pH değerine sahiptirler. Çeşitli özel mekanizmalar bu sıvıların kararlı olmasına yardımcı olmaktadır ki böylece hücreler pH dengesinde büyük değişikliklere maruz kalmamaktadırlar. Kasların pH' ı 6.9'dur. Kasların pH'ının bunun altına düşmesi adale gücünü azaltır.

Tamponlar pH değerindeki değişiklikleri minimum düzeyde tutmaktadırlar. Yaşayan varlıklarda meydana gelen biyokimyasal reaksiyonların pek çoğunda iyon alış verişi olduğu göz önüne alındığında bunun ne kadar önemli bir görev olduğunu anlamaktayız.

Yediğimiz çoğu besin asidiktir. Yediklerimiz vücudumuzda fazla asit birikimine neden olmaktadır. Çoğu hastalık vücutta biriken bu fazla asitten kaynaklanmaktadır. Elektrolitik su vücudumuzdaki asit baz dengesinin korunmasını sağlamaktadır.

Musluk suyunun pH'ı 7 veya nötrdür. Musluk suyu elektroliz olunca redükte suyun pH değeri 8–11 ve okside suyun pH değeri 3–6 olmaktadır [Al-Haq et al., 2005; Hayashi, 2008].

Tablo.2.2: Suların redoks potansiyelleri ve pH'ları

Su cinsi	ORP	pH	Anlamı
Şebeke suyu	+400 ile +500 mV	7	Hafif oksidasyon potansiyeli
Mineral suları	+200 ile +300 mV	6–8	Hafif güçlü oksidasyon potansiyeli
Alkali su	-250 ile 350 mV	9-11	Güçlü redüksiyon potansiyeli-serbest radikallere verilebilecek bol elektron içerir.
Okside su	+700 ile +800 mV	4–6	Güçlü oksidasyon potansiyeli-elektron eksikliği nedeniyle okside ve sterilize etme potansiyeli yüksektir.

2.3.3.Düşük Sayılı Molekül Kümesi

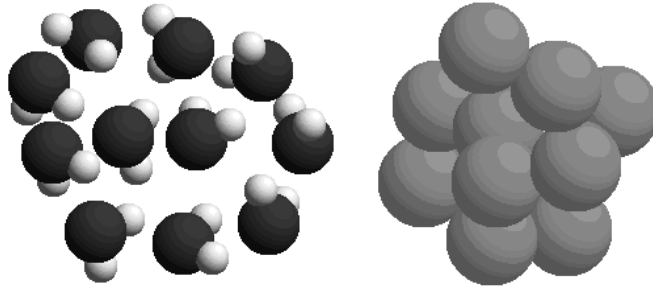
Yediklerimizin büyük bir kısmı sudur. Sebzeler ve meyvelerin %90'ı, balık ve etin %70'i sudur. Vitamin C, beta-karoten gibi maddeler doğal antioksidanlardır ve yüksek redüksiyon potansiyeline sahiptirler. C vitamini gibi önemli bir vitaminin redüksiyon potansiyeli yaşa göre ve yemek içinde hazırlanma yöntemine göre azalmaktadır. Sebze ve meyvelerin temeli olan karbonhidratların molekül ağırlığı 180 iken suyun molekül ağırlığı sadece 18'dir [Smirnov, 2002; Gornev and Serguei, 2000; Hayashi, 2008].

Tablo.2.3 Karşılaştırmalı molekül ağırlıkları

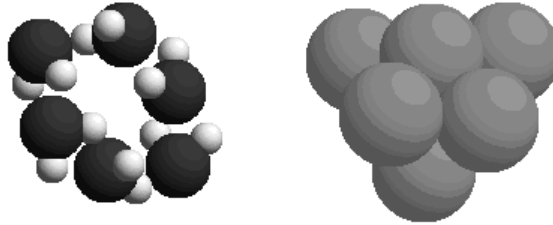
Maddeler	Molekül Ağırlığı
Mikro su	18
Beta-karoten	150
Vit E	153
Vitamin C	176

Düşük sayılı molekül kümesi ve düşük ORP değerine sahip elektrolitik bazik su, aktif oksijenleri yakalama ve vücuttan dışarıya atmakta çok etkilidir. Elektroliz olayı elektrolitik bazik suyu elektronlar ile yüklemekle kalmaz aynı zamanda suyun yüzey gerilim katsayısını azaltarak mikro su haline dönüştürür.

NMR (Nükleer Manyetik rezonans) analizi musluk suyunun ve kuyu suyunun 10–13 adet su molekülü kümesiğinden oluştuğunu, elektrolitik suda ise bu kümenin normal büyüklüğünün yarısına, küme başına 5–6 adet su molekülüne indiğini göstermektedir [Chaplin, 2007; Hayashi, 2008].



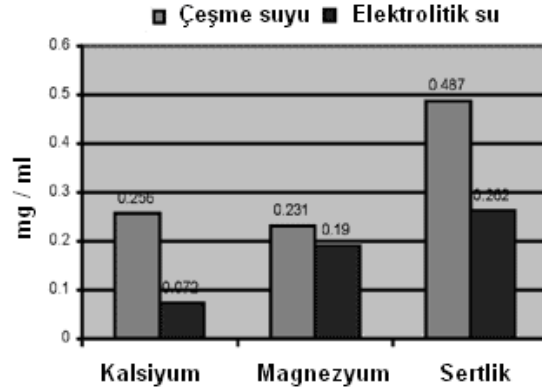
Şekil.2.16 Çeşme suyu molekülleri [Hayashi, 2008].



Şekil.2.17 Elektrolitik su molekülleri [Hayashi, 2008].

Elektrolitik suyun mikro su olduğunu belirten bu sonuçlara göre, elektrolitik su musluk suyundan daha rahat ve daha çabuk vücut tarafından absorbe olmaktadır. Elektrolitik su vücuda kolaylıkla nüfuz edilmekte ve biyolojik moleküllerin aktif oksijene elektron vererek okside olmasını engellemektedir. Bu durum biyolojik moleküllerin oksidasyonunun yol açtığı hastalıklardan zarar görmeden kendilerini doğal olarak yenilemelerine imkan vermektedir.

2.3.4.Sertlik

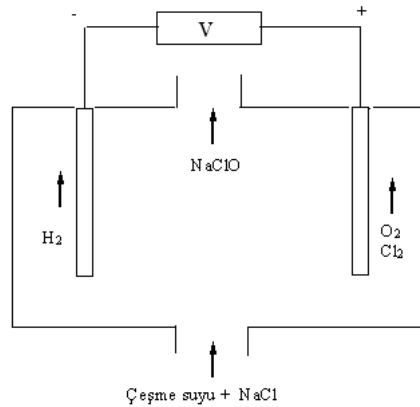


Şekil.2.18 Suların sertliği

Grafikte çeşme suyunda bulunan kalsiyum ve magnezyum miktarlarının elektrolitik suda düştüğü görülmektedir. Bu iyonlar elektrolitik su oluşurken dibe çökmekte veya filtrede kalmaktadır. Bu bize çeşme suyunun elektrolizi ile suyun sertliğinin düştüğü göstermektedir [Smirnov, 2002].

2.3.Elektrolitik Su Yapımında Kullanılan Sistemler

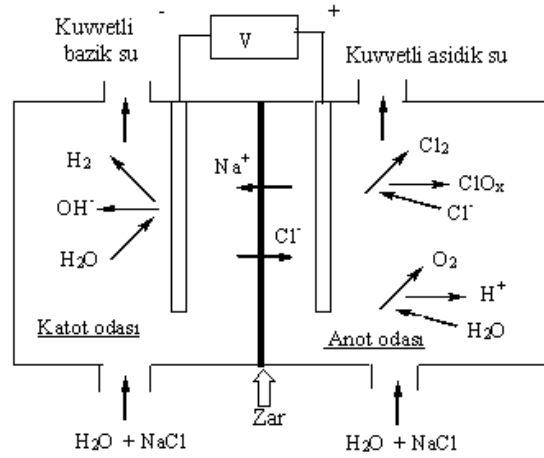
2.3.1.Tek Odalı Elektroliz Sistemi



Şekil.2.19 Tek odalı elektroliz sistemi

Çeşme suyuna bir miktar tuz eklenerek elektroliz gerçekleştirilir. Elektroliz düzeneğinde herhangi bir zar bulunmamaktadır. Oluşan NaClO' in pH'ı 8–9 konsantrasyonu ise 50–200 ppm arasındadır.

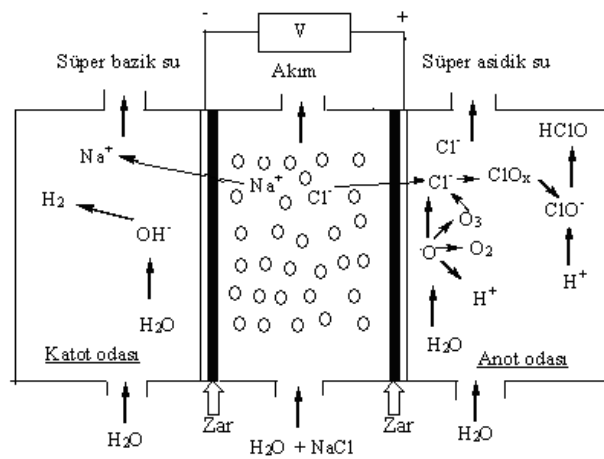
2.3.1.İki Odalı Elektroliz Sistemi



Şekil.2.20 İki odalı elektroliz sistemi

Elektroliz sırasında tuz doğrudan suya eklenir. Katot ve anot odası sadece iyon geçişine izin veren yarı geçirgen bir zarla ayrılmıştır. Elektroliz sonunda anot odasında oluşan asidik suyun pH'ı 2.2–2.7 arasındadır. Bu suya kuvvetli asidik su denir. Elektroliz sonunda katot odasında oluşan bazik suyun pH'ı 11–12.5 arasındadır. Bu suya ise kuvvetli bazik su denmektedir. Elektroliz sırasında çözünmüş olan klor konsantrasyonu 20–200 ppm arasındadır.

2.3.1.Üç Odalı Elektroliz Sistemi



Şekil.2.21 Üç odalı elektroliz sistemi

Üç odalı elektroliz düzeneğinde iki tane yarı geçirgen zar bulunur. Tuz orta odada suya eklenir. Bu sistemde elektroliz edilmiş suyun iyon konsantrasyonu kontrol edilebilmektedir. İndirgenmiş iyon konsantrasyonu ve tuzun yokluğu kaliteyi arttırmaktadır.

Üç odalı sistemde yapılan elektrolitik suyun ORP değeri (+)(-)1000mV değerlerine kadar ulaşmaktadır. ORP 'si +1000 mV değerlere kadar ulaşan elektrolitik suya süper asidik su (pH 1-2), ORP' si -1000 mV değerlere kadar ulaşan elektrolitik suya ise süper bazik su (pH 12-13) denir.

2.4.Elektrolitik Suyun Kullanım Alanları

2.4.1.Elektrolitik Asidik Suyun (pH 4 – 6) Kullanım Alanları

Elektroliz sırasında elektrolitik su cihazının ayrı bir borusundan akan elektrolitik asidik su berrak ve renksizdir. pH'ı 4 – 6, ORP' si +700 ile +800 arasındadır.

Kan basıncını azaltır, sakinleştirici bir etkisi vardır, uykuyu düzenler, böbreklerde, safra kesesinde oluşan taşları çözer, mide spazmı, mide ülseri tedavisinde etkilidir. Küçük yaralanmalarda yarayı dezenfekte eder, böcek ısırıklarında etkilidir. Elektrolitik asidik su boğaz acımlarında ve diş temizliğinde gargara yapmak suretiyle kullanılabilir. Cilt yanıklarında ve kanamaların durdurulmasında tamponlanarak kullanılabilir. 30°C' de 20 dakika elektrolitik asidik suda dinlendirilmiş ayakların koku, mantar ve diyetle desteklendiği takdirde hemoroit rahatsızlıkları giderilir. Yüzdeki akne ve çillerden korunmada doğal destekçi elektrolitik asidik sudur.

Sebze ve meyvelerin uzun süre depolanmasını sağlar. Sebze, meyve, et ve balıkta bulunan bakteri ve mikropları dezenfekte eder. Cam, porselen ve diğer mutfak gereçleri ve havluların 20 -30 dakika elektrolitik asidik su ile yıkanması dezenfeksiyon ve hijyen sağlar.

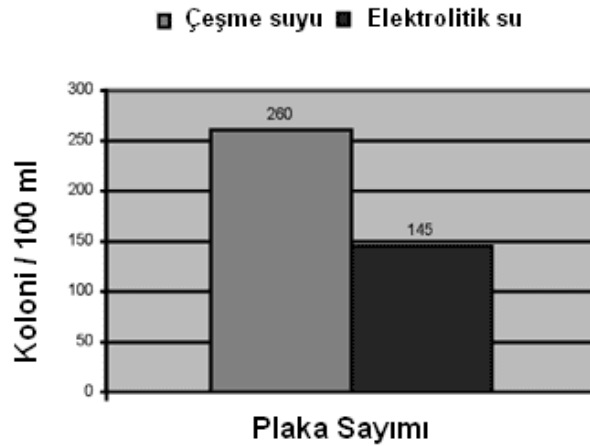
Elektrolitik asidik su ile yıkanan saçlar daha parlak olur, traştan sonra kullanılan elektrolitik asidik su cilde yumuşaklık kazandırır.

Elektrolitik asidik suyun püskürtülmesi ile bitkilerin bakımı sağlanabilir. Vazoya konulan canlı bitkilerin daha uzun süre güzelliklerini koruyabilmeleri için çeşme suyuna 1/3 oranında elektrolitik asidik su eklenebilir [Schibilskis, 2007; Shirahata et al., 2005; Agnew, 2004].

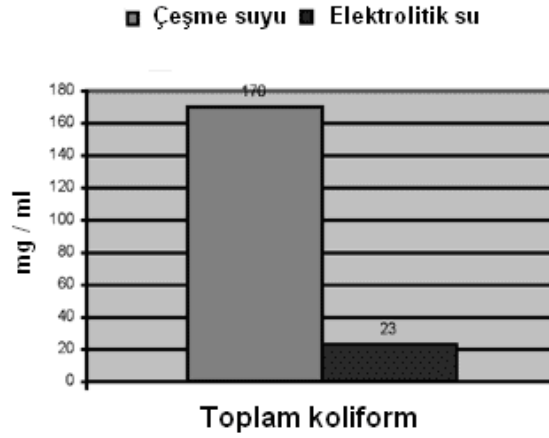
Elektrolitik asidik su ev hayvanlarının bakımında etkilidir.

Üç odalı elektroliz sistemiyle hazırlanan süper okside su +1100 mV redüksiyon potansiyeli ile bakterilerden elektron alır ve onları öldürür [Smirnov, 2002; Vorobjeva, 2005; Yahagi, 2000].

Elektrolitik asidik suyun bakteriler üzerindeki sterilizasyon etkisi çok kez çalışılmıştır [Tietze, 1997; Al-Haq et al., 2005; Vorobjeva, 2005; Yahagi et al., 2000].



Şekil.2.22 Süper okside suyun antibakteriyel etkisi 1 [Smirnov, 2002]



Şekil.2.23 Süper okside suyun antibakteriyel etkisi 2 [Smirnov, 2002]

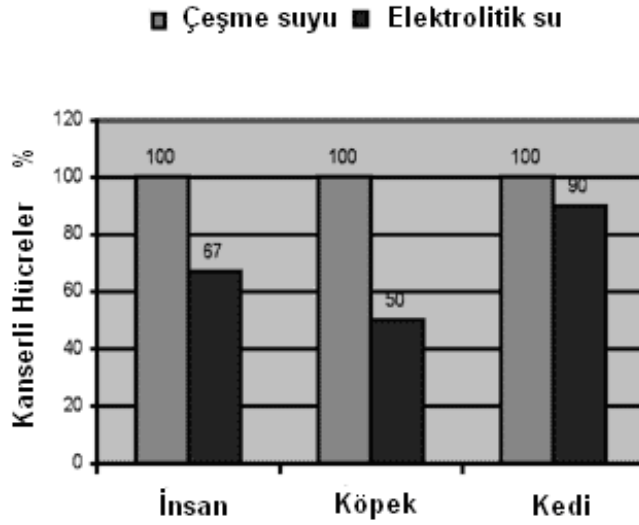
Süper okside su kuvvetli bir sterilize temsilcisi olmasına rağmen cilde zarar vermez. Gerçekte, tedavi için kullanılır. Süper okside suyun uzun süre yatak tedavisi görmekten ve ameliyat sonrası doğan enfeksiyon yaraları tedavi etmekteki etkisi Amerikan ve Japon hastanelerinde kanıtlanmıştır. Süper okside suyun bir diğer kullanım alanı zirai ürünlerde zararları mantarların ve diğer bitki hastalıklarının yok edilmesidir. Süper okside suyun anti-toksik olması nedeniyle ziraatta çalışanlar özel koruyucu giysiler giymeden kullanabilirler, çünkü cilt veya solunum yolları için bir tehlike arz etmemektedir. Süper okside suyun bitkilere sıkılmasındaki bir diğer avantaj toprakta toksik kimyasallar bırakmaması nedeniyle çevreye zararlı olmamasıdır [Smirnov, 2002].

2.4.2.Elektrolitik Bazik Suyun (pH 8 – 10) Kullanım Alanları

Elektrolitik su cihazının borusundan akan elektrolitik bazik su yumuşak ve tatsızdır. pH'ı 8 – 10, ORP' si -250 ile -350 arasındadır.

Elektrolitik bazik su iştah açar ve rahatlıkla içilebilir. Enerji verir. Kan basıncını artırır. Vücuttaki hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde, aldığımız gıdaların vücut tarafından emilmesinde önemli rol oynar. Mükemmel bir bağışıklık sistemi koruyucusudur. Antioksidan yapısıyla vücuttaki asit/alkali dengesini korur. Vücudumuzda uzun yıllar biriken asidik toksinleri nötralize ederek arınmaya yardımcı olur. Vücudumuzdaki asit birikiminden ortaya çıkan birçok hastalıktan

bizleri korur. Örneğin et ve sebzeden oluşan bir diyeti düşünelim. Sindirim sisteminde et proteinleri aminlere dönüşürken sebzeleri yetiştirirken kullanılan gübrelerdeki nitrat nitrite dönüşmektedir. Bu aminler ve nitritler kanserojen olarak tanımlanan nitrosaminleri oluşturur. Elektrolitik bazik su antioksidan yapısı ile bizleri çoğu hastalık gibi kanserden de korur. İçerdiği yüksek değerde negatif iyonlar ile kansere, çeşitli hastalıklara ve erken yaşlanmaya sebep olan serbest radikalleri temizler [Smirnov, 2002; Gornev ve Serguei, 2000; Shirahata et al., 2005].



Şekil.2.24 Elektrolitik bazik suyun kanserli hücelere etkisi [Smirnov, 2002]

Mikro yapısı ile hücrelerde mükemmel nemlenme sağlar. Vücudun yenilenerek genç, sağlıklı ve diri kalmasına yardımcı olur. Cilt problemlerinde ve vücuttaki yaraların iyileşmesinde önemli rol oynar.

Hamile bayanlarda sabah meydana gelen mide bulantıları, fetüsün dışkılarıyla annenin vücudunda fazla asit birikimine neden olmasıyla ortaya çıkmaktadır. Annenin aç karnına içeceği yarım bardak elektrolitik bazik su, bu mide bulantılarından kurtulmasına yardımcı olur.

Sebze ve meyvelerin üzerindeki kimyasal maddelerin uzaklaştırılmasında oldukça etkilidir. Sebze ve meyvelerin elektrolitik alkali su ile yıkanması ve durulanması daha uzun süre taze kalmalarını sağlar.

Piřirmeden önce elektrolitik bazik suda 20–30 dakika bekletilen sert sebzelerin, 30–60 dakika bekletilen pirincin, elektrolitik bazik su ile yapılan etlerin terbiyesinin, çay ve kahvenin, acılı gıdaların tadını güzelleştirir. Balık gibi kokulu gıdalarının kokularını uzaklaştırır.

Elektrolitik bazik su çamaşırların daha sağlıklı şekilde yıkanmasında, çıkmayan kir ve lekelerin temizlenmesinde etkilidir.

Tohumların, ieklerin gelişmesinde oldukça etkilidir. Aşağıda şekil.2.25’deki işaretli fasulyeler elektrolitik su ile diğerleri eřme suyuyla büyütülmüştür.



şekil.2.25 Elektrolitik bazik suyun sebze büyümesine etkisi 1[Smirnov, 2002]



şekil.2.26 Elektrolitik bazik suyun sebze büyümesine etkisi 2[Smirnov, 2002]

şekil.2.26’deki iřaretli soėanlar elektrolitik su, diėerleri eřme suyu içinde büyütülmüřtür.



A

B

C

Şekil.2.27 Elektrolitik bazık suyun sebze büyümesine etkisi 3

Şekil.2.27’de laboratuarda elektrolitik su cihazı 1 ile yapılan soğan büyütme deneyi görülmektedir. A: 20 gün sonunda elektrolitik bazık su ile büyütülen soğan. B: 20 gün sonunda elektrolitik asidik su ile büyütülen soğan. C: 20 gün sonunda çeşme suyu ile büyütülen soğan.

Ayrıca elektrolitik bazık suyun ev hayvanlarının enfeksiyonlardan ve parazitlerden korunmalarında da etkili olduğu görülmüştür [Smirnov, 2002; Shirahata et al., 2005; Masayuki, 2007].

Literatürde elektrolitik suyun bakteri büyümesine ve enzim aktivitesine olumlu etkilerini gösteren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Elektrolitik suyun enzim aktivitesine etkisinin gösterildiği bir çalışma Imamura, Takeshi, Ohta-ku ve arkadaşları tarafından çalışılmıştır. 1998 yılında yapılan çalışmanın şimdi yapılan çalışmadan farkı, elektrolitik su hazırlanırken tuz kullanmaları, bunun sonucu asidik elektrolitik suda artan klor konsantrasyonunun düşürülmesi için UV ışığından faydalanmaları ve 0.22 µm por çaplı filtreler ile sterilizasyon yapmalarıdır. Bahsedilen çalışmada değişik elektrolitik sularla hazırlanmış besiyerlerde büyütülen E.coli suşlarının saf suyla hazırlanmış besiyerde büyütülenlerden %30-40 daha hızlı üredikleri görülmüştür [Imamura et al., 1998].

Kobayashi ve arkadaşları tarafından 2000 yılında, elektrolitik suyun nasıl hazırlanıldığı açıklanmayarak, elektrolitik suyun alfa amilaz, asidik proteaz ve lipaz aktiviteleri üzerine etkileri çalışılmıştır. Çalışmada enzimler, saf su ve değişik elektrolitik sularda belirli sürelerde bekletilmiş ve aktivite ölçümünde kullanılacak

reaksiyon çözeltileri saf suyla ve değişik elektrolitik sularla hazırlanarak aktivite sonuçları karşılaştırılmıştır. Elektrolitik suların kullanıldığı aktivite ölçümlerinin saf suya oranla %20–40 daha fazla olduğu görülmüştür. [Kobayashi et al., 2000]

2.5.Denemelerde Kullanılan Elektrolitik Su Cihazları



Şekil.2.28 Elektrolitik su cihazı 1

Denemelerde kullanılan elektrolitik su cihazı, laboratuvarımızdaki su kaynağına bağlanmaktadır. Cihaz musluk açıldığı anda çalışmaya başlar. Elektrolitik su cihazının gücü 300 watt olup cihazdan akan suyun akış hızı maksimum yaklaşık 3 litre/dk.dır. Elde edilen suyun pH aralığı 3.5 – 10, cihazın ağırlığı net olarak 6.5 Kg.dır. Cihazın içerisinde büyüklüğü 832 cm² olan 5 adet elektrot bulunmaktadır. Cihazın içinde 5 mikron partikül filtre ve 0.2 mikron anti bakteriyel filtre bulunmaktadır. Bulunan filtreler minimum % 98 oranında klor arıtımı yapmaktadır.

Elektrolitik su cihazına gelen musluk suyunu temizlemek amacıyla özel bir filtre grubu kullanılmıştır. Bu filtre şehir suyunda bulunabilecek çeşitli kirliliklerden arındırmak amacıyla firma tarafından özel olarak geliştirilmiştir.

Su rezervlerinde toplanan yeraltı ve yer üstü sular belediyelerin arıtma tesislerinde arıtılarak dağıtılır. Arıtma çıkışında yeterli derecede temiz olan su, kullanım noktalarına gelene kadar ve kullanım yerlerindeki depolarda tekrar kirlenebilmektedir. Çok çeşitli kirlenme unsurlarını taşıyan suyun bu hali ile içme amaçlı olarak kullanılmasından doğabilecek sorunları ortadan kaldırabilmek amacıyla bir su filtresi kullanılması gerek kişisel sağlık gerekse elektrolitik su

cihazının sağlıklı çalışması için faydalı olmaktadır [<http://shop.thelifeco.com.tr/Su-yonizeri-EP1000-Tezgah-st-P45.aspx>].



Şekil.2.29 Antibakteriyel filtreler

Musluk suyu önce 5 mikron büyüklüğe kadar istenmeyen partikülleri tutan filtreden sonra ise 0,2 mikron hassasiyette olan anti bakteriyel filtreden geçer. Anti bakteriyel filtre suda bulunan zararlı maddeler ile bakteri ve mikro organizmaları tutar. Filtreden geçen su, elektrolitik su cihazının içinde bulunan özel aktif karbon filtreden de geçip arıtılarak bizlere vücut asit alkali dengemizi sağlayacak antioksidan, alkali elektrolitik suya dönüşür [<http://shop.thelifeco.com.tr/Su-yonizeri-EP1000-Tezgah-st-P45.aspx>].

Denemelerde kullanılan bir diğer su ise Resim.2.32’de gösterilmektedir. Cihaz, iki bölmeli elektroliz kabı ve iki elektrottan oluşmaktadır. Bölmeler arasında yarı geçirgen bir zar bulunmaktadır. Elektroliz kabına su doldurulur, elektrotlar yerleştirilir ve elektroliz işleminin başlaması için cihazın fişi prize takılır. Yarım saat sonunda istenilen elektrolitik su elde edilmiş olur.



Şekil.2.30 Elektrolitik su cihazı 2

2.6.Elektrolitik Suyun Saklama Koşulları

Elektrolitik su cihazı musluğa takılı olduğu için genellikle kullanılmadan hemen önce hazırlanır. Fakat çalışmalar elektrolitik suyun ağzı kapalı bir şekilde karanlık ortamda veya buz haline getirilerek saklanabildiğini göstermiştir.

Elektrolitik asidik suyun içindeki anti bakteriyel etkiyi sağlayan klor aktivitesini ağzı açık şartlarda, suyun çalkalandığı takdirde 30 saat, çalkalanmadığı zaman ise 100 saat sonunda kaybettiği görülmüştür [Al-Haq et al., 2005].

2.7.Su Dezenfeksiyonu Ve Sterilizasyonu Yöntemleri

Dezenfeksiyon bilindiği gibi hastalık yapan organizmaların seçilerek yok edilmesine verilen teknik bir terimdir, bu işlem sırasında bütün organizmalar yok edilemez. Bütün organizmaların yok edilmesine sterilizasyon adı verilir.

Kaynatma: Bu yöntem ancak çok acil durumlarda pratiktir. Suyun 2 dakika kaynatılması sonucunda mikrobiyolojik açıdan güvenilir su elde edilir. Kaynatma sonunda sudaki tüm mikroorganizmalar ölür. Kaynatma sırasında suya lezzetini veren CO_2 ve O_2 sudan ayrılacağından suyun lezzeti bozulmuş olur. Ayrıca kaynamış ve soğumuş su tekrar kontaminasyondan korunmalıdır.

Pastörizasyon: Isıyla dezenfeksiyondur ancak kaynamış su değildir. Ani pastörizasyonda yüksek ısı kısa zaman kullanılır (71°C - 15 saniye). Düşük ısı pastörizasyonda; düşük ısı uzun zaman kullanılır (60°C - 10 dakika).

Klorlama: Ülkemizde en yaygın olarak kullanılan dezenfeksiyon yöntemi maliyetinin düşük olması nedeniyle klorlamadır. Klorlamada en çok $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ (kalsiyum hipoklorit) ve NaOCl (sodyum hipoklorit) kullanılmaktadır. Piyasada kireç kaymağı olarak bilinen $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 'dir, %34 klor içerir.

Suya verilen az miktarda klor tam dezenfeksiyon yapamaz, fazla klor ise sağlık açısından zararlıdır. Klor gazı yüksek derecede zehirlidir. Sudaki klor konsantrasyonu 30 ppm olduğunda öksürtür, 60 ppm olduğunda ise oldukça

tehlikelidir, kalp hastalıklarına neden olur ve kanser riskini artırır. Klor konsantrasyonunu 1000 ppm olması ani ölümlere sebep olur.

Su dezenfekte edilip daha sonra zararlı bileşik olan klor alınabilir. Suyu verilen klorun fazlası ve bileşik klorun sudan alınması için aktif karbon ve SO₂ (kükürt dioksit) kullanılabilir. Bu amaçla kullanılan aktif kömürün suyu asitlendirmesi bu yöntemin diğer bir dezavantajıdır.

Ozonizasyon: Ozon klordan daha güçlü bir dezenfektandır. Bakterilerin, virüslerin ve diğer canlıların eliminasyonunda çok etkilidir. Ozonlama yönteminin en büyük dezavantajı ozonun satın alınamaması ve depolanamamasıdır. Ozon elde edilen aletler komplike ve bakımı zor aletlerdir. Bu yüzden bu yöntem ekonomik değildir. Suda ozon kaldığında ise tesisatta korozyon etkisi gösterir.

Ultraviyole radyasyon: Bu yöntemde 2500–2900 Å dalga boyunda ışınlar kullanılır. Dalga boyu ayarlanabilen UV'ler kullanılmalıdır. Ultraviyole ışınlar bakterilere oldukça etkili, virüslere daha az, parazitlere ise etkisizdir. Bu dezenfeksiyon yönteminin avantajı suya kimyasal eklenmemesi ve kalıntı bulunmamasıdır. Dezavantajı ise yöntemin bulanık ve yüksek organik madde içeren suda etkisiz olmasıdır [<http://www.aof.anadolu.edu.tr>].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Maddeler

Tablo.3.1 Deneyde kullanılan kimyasal maddeler

ADI	ÜRETİCİ FİRMA	KATALOG NO
Whatman K5 TLC plakala	Whatman	4850-820
Asetonitril	Sigma	34851
C ₂ H ₅ OH	Merck	1.009.832.500
H ₂ SO ₄	Merck	1.007.132.500
α -naftol	Merck	822.289
Dinitro Salisilik Asit	Sigma	D0550
Fenol	Sigma	P3653
Na ₂ CO ₃	Merck	1.063.981.000
NaOH	Merck	1.064.679.010
Bovin serum albumin	Bio-rad	500-0007
Coomassie Brilliant Blue G-250	Merck	1.154.440.025
H ₃ PO ₄	Merck	1.005.732.500
BCA	Sigma	D8284
C ₄ H ₄ Na ₂ O ₆ .2 H ₂ O	Merck	106.664.100
HCl	Merck	1.003.142.500
NaHCO ₃	Merck	1.063.981.000
CuSO ₄ .5 H ₂ O	Riedel-de Haen	12849
Glikoz	Fluka	49150
Pepton	Merck	1.072.140.500
Yeast extract	Merck	1.037.530.500
K ₂ HPO ₄	Merck	1.051.041.000
NaH ₂ PO ₄	Merck	1.063.451.000
Na ₂ HPO ₄	Riedel-de Haen	4276
NaN ₃	Merck	822.335
NaCl	Merck	106.404
FeSO ₄	Sigma	F1135
MnSO ₄	Merck	1.059.410.250
CaCl ₂	Merck	1.023.820.500
Mg SO ₄	Merck	1.058.861.000

ADI	ÜRETİCİ FİRMA	KATALOG NO
Sükroz	Fluka	84105
Brain Heart Infusion broth	Sigma	B7278
Mueller Hinton broth	Fluka	70192
Agar-agar	Merck	1.016.130.500
Fruktoz	Merck	1.040.071.000
CH ₃ COOH	Merck	1.000.562.500
Triton X-100	Merck	108.603
p-nitrofenilpalmitat	Sigma	N2752-5G
Na ₃ PO ₄	Riedel-de Haen	4.269
Çözünür patates nişastası	Sigma	S2004
Maltoz	Sigma	M5885

3.1.2 Kullanılan Aletler

- Hot plate (Camag TLC plate heater)
- Magnetik karıştırıcı (Heidolph MR 3004)
- Mikro pipet 2–20 µl (Biohit Proline)
- 20–200 µl (Kartel)
- 100–1000 µl (Biohit Proline)
- 1000–5000 µl (Acura 835 Socorex)
- Vorteks (Genie- 2)
- PH metre (Inolab WTW series pH–730)
- Otoklav (Varioklav–300)
- Elektronik tartı (Sartorius Basic BA 110S)
- Su banyosu (GFL–1086)
- İnkübatör (Excella E25)
- Santrifüj (Beckman Coulter Allegra TM64R Centrifuge)
- (Micro 120 Hettich)
- UV Spektrofotometre (UV–3600 Shimadzu)
- Çalkalayıcı (Heidolph Promax 2020)
- Micro plate reader (Bio-Rad 3550-UV)
- Mikrodalga fırın (Vestel)
- Laminal Flow
- Freezer (New Brunswick Scientific U–410)
- Nephelo Meter (BD Crystal Spec TM 245009)

- ORP Metre (ExStik RE300)
- Water Ionizer (EP1000-Ürün kodu:102008)
- 5 Mikron+Antibakteriyel filtre grubu (Ürün kodu:102013)
- Fotoğraf makinesi (Sony Cyber-shot DSC-S730)
- Tüp (İpragaz)

3.1.3. Kullanılan Bakteri Türleri

- *Leuconostoc mesenteroides* (B-512 FMC-13Glc)
- *Staphylococcus aureus* (GYTE BAP tarafından desteklenen 2006/A 06 kodlu proje kapsamında yapılan çalışmalar sırasında elde edilip tanımlanmış yerel izolat.)
- *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)

3.2. YÖNTEM

3.2.1.İnce Tabaka Kromatografisi İle Karbonhidrat Tayini

Reaksiyon ortamından alınan ve seyreltilen örneklerden 1 µl Hamilton şırınga kullanılarak Whatman K5 TLC plakalarına damlatılır. Hareketli faz olarak 90:10 (v/v) oranındaki asetonitril:su çözelti sistemi kullanılır. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra saç kurutma makinesi ile plaka kurutulur. Kurutulan TLC plaka yürütücü çözeltide 3 kez yürütülür. Yürütme işleminden sonra plaka renklendirme çözeltisine daldırılıp 110°C’de termoplate üzerinde 10 dakika ısıtılır. Reaksiyon sonunda oluşan karbonhidratlar renklendirme çözeltisi sayesinde görünür hale gelir. Renklendirme çözeltisi etil alkole sülfürik asit (%5 v/v) ve α-naftol (%0.5 w/v) ilave edilerek hazırlanır.

3.2.2.Dinitro Salisilik Asit (DNS) Metodu İle Karbonhidrat Tayini

Reaksiyon ortamından alınan örnekler (100 µl) DNS çözeltisi (100 µl) ile karıştırılır. Karışım, içi su dolu bir beherde 5 dakika kaynatılır. Kaynatma işlemi

sonunda karbonhidratlar renklenir. Karışım saf su ile 1000 μ l'ye tamamlanır. UV'de bakılacak aktivite ölçümünde kabul amaçlı kullanım için 200 μ l DNS çözeltisi üzerine 800 μ l saf su eklenir. 575 nm'de absorbans değerleri okunur. DNS çözeltisi 1 gr dinitro salisilik asit, 0.2 gr fenol, 50 mg Na_2CO_3 ve 1.6 gr NaOH karıştırılarak hazırlanır.

3.2.3. Bradford Metodu İle Protein Tayini

Reaksiyon ortamından alınan örnekler (100 μ l) Bradford çözeltisi (1ml) ile karıştırılır. 595 nm'de absorbans değerleri okunur. BSA (bovin serum albumin) standart eğrisi çizilerek örneklerdeki protein miktarları mg/ml olarak tayin edilir. UV'de bakılacak aktivite ölçümünde kabul amaçlı kullanım için 100 μ l saf su üzerine 1 ml Bradford çözeltisi eklenir. Coomassie Brilliant Blue boyasının proteinlere bağlanması sonucunda oluşan renkli çözeltiler 595 nm'de absorbans verir. Bradford çözeltisi hazırlanırken 0.1 g Coomassie Brilliant Blue G-250, 50 mL %95'lik etil alkol ve 100 mL %85 fosforik asit karıştırılır. Son hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Karanlıkta bir gece bekletildikten sonra filtre kağıdından süzülür.

3.2.4. BCA Metodu İle Protein Tayini

Standartlar 1 μ l'sinde 2 μ g BSA (Bovine Serum Albumin) olacak şekilde hazırlanır ve mikrotiplatedeki 10 kuyucuğa 1 μ l'den 10 μ l'ye kadar damlatılır. Boş kuyucuklara protein tayini yapılmak istenen örneklerden 2'şer μ l konulur ve üzerlerine 200 μ l BCA (Sodyum Bicinchoninate) çözeltisi eklenir. Mikrotiplate 5 dakika 80°C sıcaklıkta etüve konur. 490 nm'de absorbans değerleri okunur. BCA çözeltisi A ve B olmak üzere iki bileşenden oluşur. A/B oranı 100/2'dir. 100 ml A bileşeni hazırlamak için, 1 g BCA, 2 g Na_2CO_3 , 0.16 g $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 0.4 g NaOH, 0.95 g NaHCO_3 tartılarak üzerine 80 ml saf su konur. pH 11.25'e ayarlandıktan sonra hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanır. 10 ml B bileşeni hazırlamak için, 0.4 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ tartılır ve 10 ml saf suda çözülür.

3.2.5. Elektroaktif Suyun ve Mikroorganizmaların Büyütüleceği Besiyerlerin Hazırlanması

Çeşmeye bağlanan elektrolitik su cihazı dakikada 2.7 lt su akıtacak şekilde ayarlandı. Buradan alınan asidik ve elektrolitik sular mikroorganizmaların büyütüleceği besiyerlerin hazırlanması için kullanıldı.

L.mesenteroides'ın büyütüleceği glikoz broth besiyeri hazırlanırken, 0.94 g glikoz, 0.21 g pepton, 0.21 g yeast extract, 1 g K_2HPO_4 , 0.0004 g NaCl, 0.0004 g $FeSO_4$, 0.0004 g $MnSO_4$, 0.0005 g $CaCl_2$, 0.0085 g $Mg SO_4$ tartıldı ve üzerlerine 50 ml saf su ve değişik elektrolitik sular eklenerek otoklavda 118°C sıcaklıkta 15 dakika steril edildi.

L.mesenteroides'den dekstransükraz üretimi için sükroz broth besiyeri hazırlanırken, 1.25 g sükroz, 0.21 g pepton, 0.21 g yeast extract, 0.835 g K_2HPO_4 , 0.0004 g NaCl, 0.0004 g $FeSO_4$, 0.0004 g $MnSO_4$, 0.0005 g $CaCl_2$, 0.0085 g $MgSO_4$ tartılır ve üzerlerine 50 ml saf su ve değişik elektrolitik sular eklenerek otoklavda 118°C sıcaklıkta 15 dakika steril edildi.

S.aureus'ın büyütülmesi ve lipaz üretimi için Brain Heart Infusion (BHI) broth besiyeri hazırlanırken, 1.85 g BHI broth tartıldı ve üzerlerine 50 ml saf su ve değişik elektrolitik sular eklenerek otoklavda 120°C sıcaklıkta 15 dakika steril edildi.

B.subtilis'ın büyütülmesi ve alfa amilaz üretimi için Mueller Hinton broth besiyeri hazırlanırken, 1.05 g Mueller Hinton broth tartıldı ve üzerlerine 50 ml saf su ve değişik elektrolitik sular eklenerek otoklavda 120°C sıcaklıkta 15 dakika steril edildi.

Deney sonuçları koloni sayısı olarak da verileceği için yayma plaka yönteminde kullanılacak katı besiyerler, saf su ile hazırlanmış besiyerlere otoklavdan önce % 0.15 oranında agar-agar eklenerek hazırlandı.

3.2.6. Mikroorganizmaların Analize Hazırlanması, Büyütülmesi, Enzim Üretimlerinin Sağlanması Ve Mikroorganizmaların Büyüme Eğrilerinin Çizilmesi

L.mesenteroides, *S.aureus*, *B.subtilis* suşları yatık nutrient agarda +4°C sıcaklıkta stoklanan ana kültürlerden öze yardımı ile alınarak, nutrient agara ekildi. *L.Mesenteroides* 30°C, *S.aureus* 37°C, *B.subtilis* ise 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyondan sonra taze kültür hazırlanmış oldu. Bu taze kültürlerden öze yardımıyla alınan her bir mikroorganizma 10'ar ml'lik serum fizyolojik tuzlu su içerisinde sulandırıldı. Hazırlanan stok solisyonlar vorteks yardımı ile homojenize edildi. Hazırlanan stok solüsyonlarının her birinden 0.1'er ml alınarak 10 ml'lik serum fizyolojik tuzlu su içerisinde sulandırıldı. Sulandırımalar 10^{-3} ve 10^{-4} 'e kadar yapıldı. Sulandırılmış tüplerden 0.1 ml alınarak saf sularla her mikroorganizma için ayrı hazırlanmış katı besiyerlere yayma ekim yöntemiyle ekim yapıldı.

***L.mesenteroides*'ın büyüülmesi, koloni sayımı ve dekstransükraz üretimi**

Hazırlanan stok solüsyonlardan 0.1 ml alınarak distile su ile hazırlanmış glikoz brothun 3 ml'sine ekim yapıldı. 30°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyonla üretildi. Böylece hazırlanmış taze kültürden distile ve elektroaktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış glikoz besiyerlerin 3 ml'sine 0.1 ml transfer edildi. Glikoz brothta değişik besiyerlerde üretilen bakterilerden 0.5 ml'si 4.5 ml distile ve elektro aktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış sükroz brothlara aktarıldı. 30°C sıcaklıkta 16 saat inkübasyonla dekstransükraz üretildi. Sükroz brothlar 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlardan dekstransükraz aktivitesine bakıldı. Koloni sayımı için ise süpernatantlardan 1 ml alınarak 9 ml'lik serum fizyolojik tuzlu su içerisinde 10^{-3} 'e kadar sulandırıldı. Sulandırılmış tüplerden 0.1 ml alınarak petrillerdeki katı glikoz besiyerlere ekim yapıldı. Ekim yapılmış katı besiyerler 24 saat 30°C sıcaklıkta bırakıldı. 24 saatin sonunda petrilardan koloniler sayıldı [Kitaoka and Robyt 1998].

***L.mesenteroides*'ın büyüme eğrisinin çizilmesi**

Büyüme eğrisi çizilirken taze kültürden distile ve elektroaktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış glikoz besiyerlerin 30 ml'sine 1 ml transfer edildi. Bu transfer işlemlerinin hemen ardından UV spektrofotometrede OD₆₀₀ absorbans değerleri ölçüldü. Bakteriler 30°C sıcaklıkta üremeye bırakıldı. 16 saat boyunca her saat OD₆₀₀ absorbans değerleri ölçüldü ve büyüme eğrisi çizildi.

***S.aureus*'ın büyütülmesi, koloni sayımı ve lipaz üretimi**

Hazırlanan stok solüsyonlardan 0.1 ml alınarak distile su ile hazırlanmış Brain Heart Infusion agarın 3 ml'sine ekim yapıldı. 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyonla üretildi. Böylece hazırlanmış taze kültürden distile ve elektroaktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış Brain Heart Infusion agarların 3 ml'sine 0.1 ml transfer edildi. Bakteriler 37°C 150 rpm'de inkübatörde üremeye bırakıldı. 24 saat 3'er ml Brain Heart Infusion brothta üreyen bakteriler hacim arttırmak için 27 ml distile su ve elektro aktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış temiz Brain Heart Infusion brothlara aktarıldı. 40 saat 37°C 150 rpm'de inkübatörde üreme süresince lipaz üretildi. Üretilen enzimler 10000 rpm'de 4°C sıcaklıkta 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlara lipaz aktivitesi bakıldı [Jain et al., 2005]. Koloni sayımı için süpernatantlardan 1 ml alınarak 9 ml'lik serum fizyolojik tuzlu su içerisinde 10⁻³'e kadar sulandırıldı. Sulandırılmış tüplerden 0.1 ml alınarak petrillerdeki katı Brain Heart Infusion besiyerlere ekim yapıldı. Ekim yapılmış katı besiyerler 24 saat 37°C sıcaklıkta bırakıldı. 24 saatin sonunda petrillerden koloniler sayıldı [Zadık et. al, 1997; Zadık et al., 2000].

***S.aureus*'ın büyüme eğrisinin çizilmesi**

Büyüme eğrisi çizilirken taze kültürden distile ve elektroaktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış Brain Heart Infusion agarların 30 ml'sine 1 ml transfer edildi. Bu transfer işlemlerinden sonra UV spektrofotometrede OD₆₀₀ absorbans değerleri ölçüldü. Bakteriler 37°C sıcaklıkta 150 rpm'de üremeye bırakıldı. 10 saat süresince her saat OD₆₀₀ absorbans değerleri ölçüldü ve büyüme eğrisi çizildi.

***B.subtilis*'ın büyüülmesi, koloni sayımı ve alfa amilaz üretimi**

Hazırlanan stok solüsyonlardan 0.1 ml alınarak distile su ile hazırlanmış Mueller Hinton brodu (pH 7) 5 ml'sine ekim yapıldı. 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyonla üretildi. Taze kültürden distile ve elektroaktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış Mueller Hinton besiyerlerin (her birinin pH'ı 7'ye ayarlandı) 4.5 ml'sine 0.5 ml transfer edildi. 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyonda tutularak alfa amilaz üretimi sağlanmış oldu. Mueller Hinton brothlar 10000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlardan alfa amilaz aktivitesine bakıldı. Koloni sayımı için süpernatantlardan 1 ml alınarak 9 ml'lik serum fizyolojik tuzlu su içerisinde 10^{-4} 'e kadar sulandırıldı. Sulandırılmış tüplerden 0.1 ml alınarak petrillerdeki katı Mueller Hinton besiyerlere ekim yapıldı. Ekim yapılmış katı besiyerler 24 saat 37°C sıcaklıkta bırakıldı. 24 saatin sonunda petrilardan koloniler sayıldı [Thapa et al., 2006].

***B.subtilis*'ın büyüme eğrisinin çizilmesi**

Büyüme eğrisi çizilirken taze kültürden distile ve elektroaktif sularla ayrı ayrı hazırlanmış Mueller Hinton besiyerlerin (her birinin pH'ı 7'ye ayarlandı) 45 ml'sine 5 ml transfer edildi. Bu transfer işlemlerden sonra UV spektrofotometrede OD₆₀₀ absorbans değerleri ölçüldü. Bakteriler 37°C sıcaklıkta üremeye bırakıldı. 30 saat süresince her saat OD₆₀₀ absorbans değerleri ölçüldü ve büyüme eğrisi çizildi.

3.2.7. Süpernatantlardaki Protein Miktarlarının Tayini

L.mesenteroides ve *B.subtilis*'ın süpernatantlarındaki protein miktarları Bradford metodu ile tayin edilirken, *S.aureus* süpernatantındaki protein miktarı BCA metodu ile tayin edildi.

3.2.8. Enzim Aktivitelerinin Tayini

Dekstransükraz Aktivite Tayini

1 ml süpernatant 5 ml asetat tampon çözeltisinde (25mM pH 5.4) hazırlanan 300 mM sükroz çözeltisiyle 25°C’de 30 dakika reaksiyona sokuldu. Reaksiyon kabından alınan numune saf su ile 1:1 (v:v) oranında seyreltilip kaynatılarak reaksiyon sonlandırıldı. Fruktoz standart eğrisi çizilerek karışımda bulunan fruktoz DNS metodu ile tayin edildi.

Dekstransükraz aktiviteleri IU olarak hesaplandı [Tanrıseven ve ark., 2002].

$$IU = \frac{\mu\text{mol Fruktoz}}{\text{dakika} \times \text{ml enzim}}$$

Denklem.3.1 Dekstransükraz aktivite denklemi

Lipaz Aktivite Tayini

200 µl süpernatant 1.8 ml fosfat tampon çözeltisiyle (0.15M NaCl, %0,5 Triton X-100 içeren 100 mM pH 7) karıştırıldı. Karışımın üzerine 20 µl p-nitrofenilpalmitat (0.05 M HPLC saflığında asetonitrilde çözülmüş) eklenerek 37°C’de 30 dakika reaksiyona sokuldu. Aynı işlemler 2 ml tampon çözelti üzerine p-nitrofenilpalmitat eklenerek UV’de bakılacak aktivite ölçümünde kabul amaçlı kullanım için de yapıldı. Reaksiyon, reaksiyon kaplarının 1 dakika mikrodalga ışınlarına maruz bırakılmasıyla durduruldu. Reaksiyon sonunda tüplerde oluşan bulanıklık 10000rpm’de 10 dakika santrifüj ile çöktürüldü. Oluşan p-nitrofenol miktarı UV spektrofotometrede 400 nm’de absorbans değerlerine bakılarak hesaplandı.

Okutulan absorbans değerlerinden konsantrasyona geçiş için p-nitrofenolün 400 nm’deki ekstinksiyon katsayısı olan 14800 lt/mol değeri kullanıldı [Troller et al., 1970; Kilcawley et al., 2002]. Lipaz aktiviteleri IU olarak hesaplandı.

$$A = \epsilon \times C \times l$$

Denklem.3.2 Lambert Beer Kanunu

A: 400 nm’de okunan absorbans değeri, ϵ : p-nitrofenolün 400 nm’deki ekstinksiyon katsayısı (14800), l: kullanılan küvetin boyu (1 cm), C: elde edilen p-nitrofenolün konsantrasyonu (mol/litre)

$$IU = \frac{\text{nmol p-nitrofenol}}{\text{dakika} \times \text{ml enzim}}$$

Denklem.3.3 Lipaz aktivite denklemi

Alfa Amilaz Aktivite Tayini

3 ml süpernatant 2 ml Na_3PO_4 (0.1 M pH 7) tampon çözeltisiyle karıştırıldı. Karışımın üzerine Na_3PO_4 (0.1 M pH 7) tampon çözeltisinde çözünmüş %2’lik (w/v) 1 ml çözünür patates nişastası eklenerek 60°C’de 30 dakika reaksiyona sokuldu. Reaksiyon 1N HCl çözeltisiyle durduruldu. Oluşan maltoz miktarı DNS ve TLC metotlarıyla belirlendi. [Thapa et al., 2006]. Alfa amilaz aktiviteleri IU olarak hesaplandı.

$$IU = \frac{\mu\text{mol maltoz}}{\text{dakika} \times \text{ml enzim}}$$

Denklem.3.4 α -amilaz aktivite denklemi

3.2.9. Aktivite Artışlarının Hesaplanması

$$\% \text{ Artış} = \frac{E_{\text{aktivite}} - S_{\text{aktivite}}}{S_{\text{aktivite}}} \times 100$$

Denklem.3.5 Aktivite artışlarının hesaplanma denklemi

E_{aktivite} : Elektrolitik suyla hazırlanan besiyerde üretilen enzim aktivitesi,

S_{aktivite} : Saf suyla hazırlanan besiyerde üretilen enzim aktivitesi

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

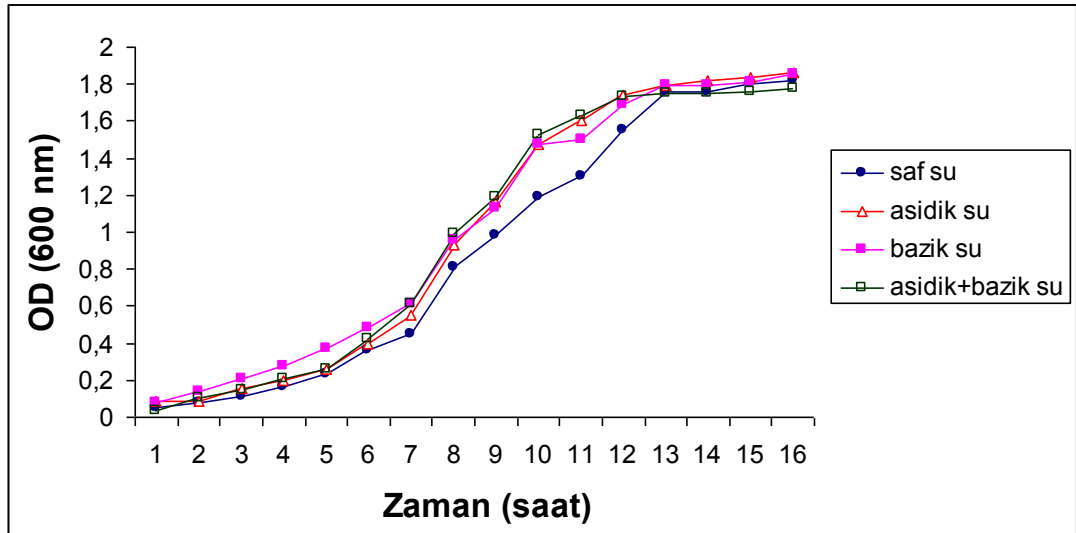
4.1. Sonuçlar

L.mesenteroides, *S.aureus* ve *B.subtilis*'ın kendilerine özgü büyüme koşullarında değişik elektroaktif sularla hazırlanan sıvı besiyerlerinde saf suyla hazırlanan besiyerlere oranla daha fazla ürediği, süpernatantlarındaki protein miktarlarının ve enzim aktivitelerinin daha fazla olduğu gözlemlendi. Elektroaktif suyun mikroorganizmaların üremesi üzerine olan etkisi UV spektrofotometride 600 nm. de absorbans ölçümleri ve katı besiyerlerindeki koloni sayımlarıyla gösterilmiştir. Mikroorganizmaların süpernatantlarındaki protein miktarları (ml'deki mg protein), enzim aktiviteleri (IU) hesaplanmıştır. Elektroaktif sularla büyütülen mikroorganizmaların süpernatantlarının enzim aktiviteleri saf suyla büyütülenlerin süpernatantlarının enzim aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar % artış olarak belirtilmiştir.

4.1.1. Elektrolitik Suyun *Leuconostoc mesenteroides* Üzerine Etkisi

L.mesenteroides'in Büyüme Eğrisi

Saf su, asidik ve bazik elektrolitik suyla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *L.mesenteroides*'in büyüme eğrileri aşağıdaki grafikte verilmektedir. Şekil.4.1 incelendiğinde, saf suyla hazırlanan besiyerde büyütülen mikroorganizmaların diğer besiyerlerde büyütülenlere oranla daha yavaş üredikleri görülmektedir.

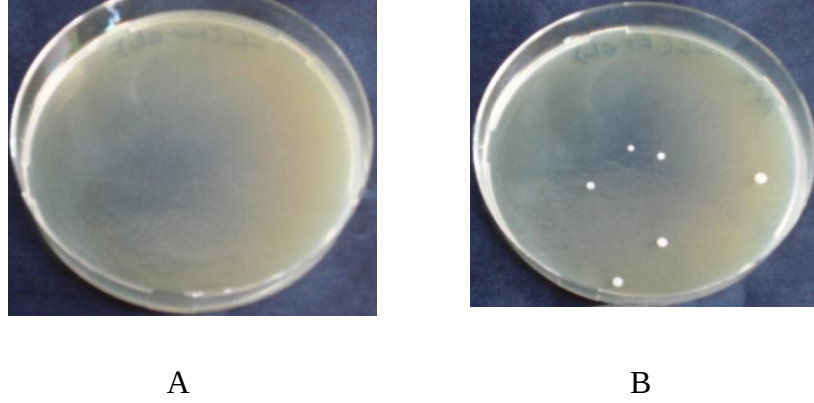


Şekil.4.1. Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *L.mesenteroides*'in büyüme eğrisi

Büyütülen *L.mesenteroides*ler, içinde saf suyla hazırlanan katı glikoz besiyeri olan petrilere yayma ekim yöntemiyle ekilerek canlı hücre sayımı yapılmıştır. Altta canlı hücre sayılarını gösteren bir tablo görülmektedir. Bazik ve asidik elektrolitik sularla hazırlanan besiyerlerde saf suya oranla yaklaşık 10 kat daha fazla hücre sayılmaktadır.

Tablo.4.1 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *L.mesenteroides* hücre sayıları

	Besiyerler		
	Saf su	Asidik elektrolitik su	Bazik elektrolitik su
Hücre Sayısı (cfu/ml)	3×10^8	2×10^9	6×10^9



Şekil.4.2 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *L.mesenteroides* hücre sayıları

A: Saf suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *L.mesenteroides*'in hücre sayıları. B: Bazik elektrolitik suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *L.mesenteroides*'in hücre sayıları

Büyütülen *L.mesenteroides*lerden elde edilen süpernatantlardaki protein miktarları, dekstransükraz aktiviteleri ve aktivitelerdeki % aktivite artışları aşağıdaki tablolarda verilmektedir.

Tablo.4.2 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve dekstransükraz aktivite sonuçları 1

Besiyerler														
	Saf Su		pH 8.5			pH 9			pH 9.5			pH 10		
pH	6.79		8.60			8.89			9.40			9.80		
ORP (mV)	+130		-190			-207			-238			-269		
Deneme	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı
1	0.19	8.048	0.20	18.51	130	0.20	15.04	87	0.31	17.54	118	0.28	17.80	121
2	0.21	7.91	0.25	14.80	87	0.22	15	90	0.28	15.42	95	0.30	16.85	113
3	0.19	6.68	0.20	6.96	4	0.20	6.92	4	0.31	9.42	41	0.28	7.9	18
4	0.19	10.60	0.20	10.87	3	0.21	11.10	5	0.22	12.03	14	0.19	9.78	-8
5	0.1	6.90	0.21	13.71	99	0.19	12.80	86	0.25	13.50	96	0.27	14.90	116
6	0.11	1.97										0.42	7.51	281

Besiyerler elektrolitik su cihazı 1 ile farklı pH'larda hazırlanmış sularla yapılmıştır.

Tablo.4.3 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve dekstransükraz aktivite sonuçları 2

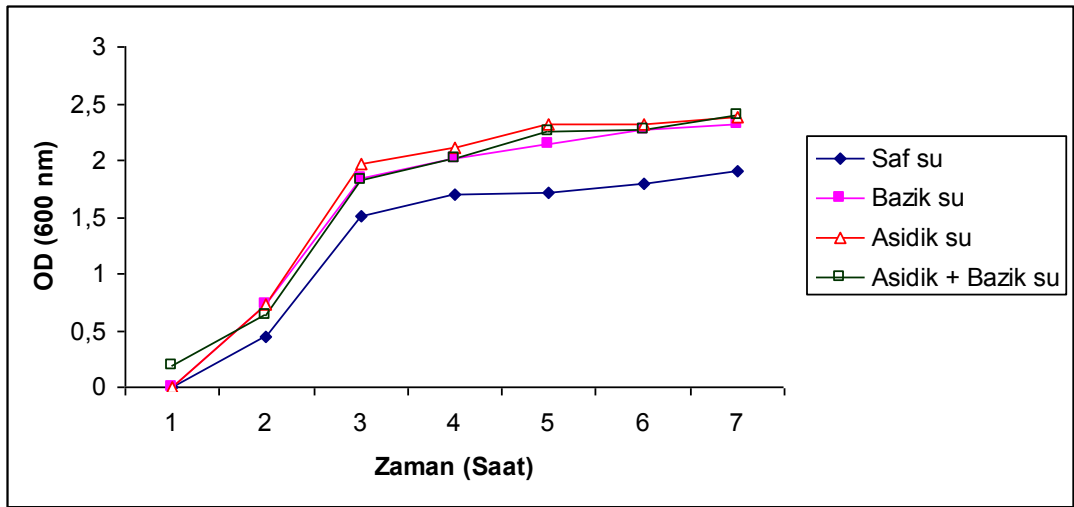
Besiyerler											
	Saf Su		Asidik Su			Bazık Su			Asidik Su + Bazık Su (1:1)		
pH	6.80		3.74			10.98			6.71		
ORP (mV)	+100		+33			-348			-120		
Deneme	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı
7	0.11	5.15	0.15	6.73	31	0.19	8.21	60	0.16	7.23	41
8	0.12	5.58	0.13	6.16	11	0.19	8.33	49	0.19	7.89	41

Besiyerler elektrolitik su cihazı 2 ile hazırlanmış asidik ve bazık elektrolitik sularla yapılmıştır.

4.1.2. Elektrolitik Suyun *Staphylococcus aureus* Üzerine Etkisi

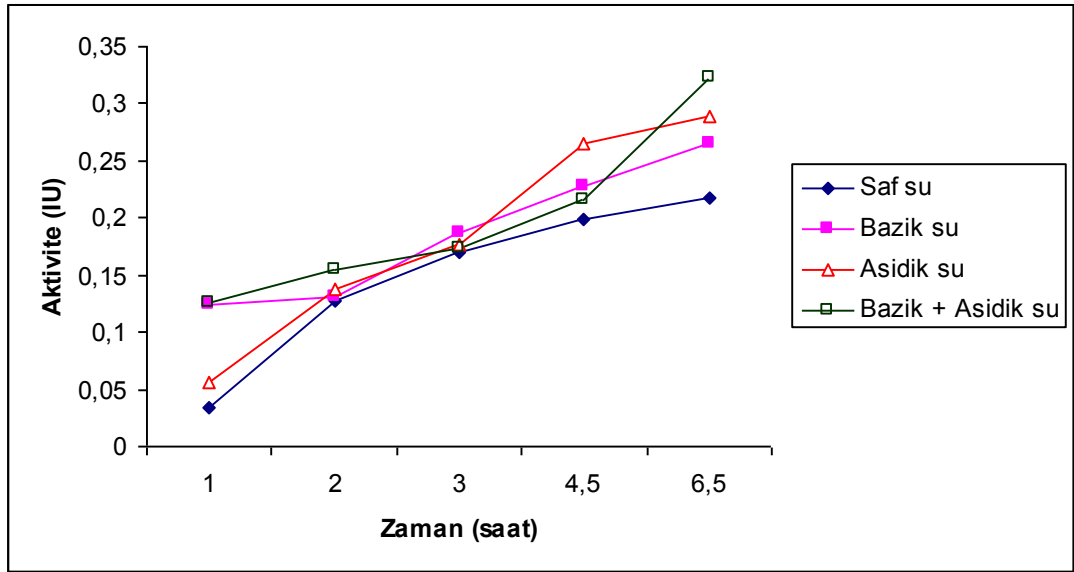
S.aureus'ın Büyüme Eğrisi

Saf su, asidik ve bazik elektrolitik suyla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *S.aureus*ların büyüme eğrileri aşağıdaki grafikte verilmektedir. Şekil incelendiğinde, saf suyla hazırlanan besiyerde büyütülen mikroorganizmaların diğer besiyerlerde büyütülenlere oranla daha yavaş üredikleri görülmektedir.



Şekil.4.3 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *S.aureus*'ın büyüme eğrisi

OD ölçümlerinin yapıldığı noktalardan alınan numunelerde lipaz aktivitelerine bakılmıştır. Lipaz aktivite değerleri aşağıda şekilde görülmektedir. Lipaz aktivite değerleri OD ölçümlerine paralellik göstermektedir.

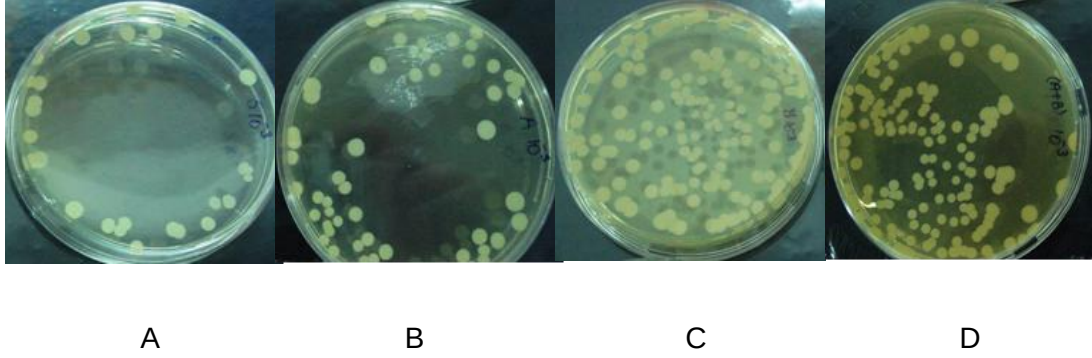


Şekil.4.4 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen lipaz aktivite değerleri

Büyütülen *S.aureus*lar, içinde saf suyla hazırlanan katı BHI besiyeri olan petrilere yayma ekim yöntemiyle ekilerek canlı hücre sayımı yapılmıştır. Altta canlı hücre sayılarını gösteren bir tablo görülmektedir. Bazik ve (1:1) asidik + bazik elektrolitik sularla hazırlanan besiyerlerde saf suya oranla yaklaşık 10 kat daha fazla hücre sayılmaktadır.

Tablo.4.4 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *S.aureus* hücre sayıları

Hücre Sayısı (cfu/ml)	Besiyerler			
	Saf su	Asidik elektrolitik su	Bazik elektrolitik su	Asidik+Bazik elektrolitik su
	2.6×10^8	5.1×10^8	1.55×10^9	1.44×10^9



Şekil.4.5 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *S.aureus* hücre sayıları

A: Saf suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *S.aureus*'ın hücre sayıları. B: Asidik elektrolitik suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *S.aureus*'ın hücre sayıları. C: Bazik elektrolitik suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *S.aureus*'ın canlı hücre sayıları. D: (1:1) Asidik ve bazik elektrolitik su karışımıyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *S.aureus*'ın hücre sayıları.

Büyütülen *S.aureus*lerden elde edilen süpernatantlardaki protein miktarları, lipaz aktiviteleri ve % aktivite artışları aşağıdaki tablolarda verilmektedir.

Tablo.4.5 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve lipaz aktivite sonuçları

Besiyerler														
	Saf Su		pH 8.5			pH 9			pH 9.5			pH 10		
pH	6.81		8.71			8.98			9.41			9.78		
ORP (mV)	+117		-201			-227			-240			-268		
Deneme	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı
1	0.54	2.40	0.71	9.00	275	0.84	9.60	300	0.84	10	317	0.90	11	359
2	0.67	8.70	0.84	9.97	15	1.24	13.62	57	0.58	7.26	-17	0.83	9.78	13
3	0.54	2.27				1.35	17.5	671				1.56	26.97	1088
4	0.56	3.13				1.33	17.82	145				1.49	24.45	681

Besiyerler elektrolitik su cihazı 1 ile farklı pH'larda hazırlanmış sularla yapılmıştır.

Tablo.4.6 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve lipaz aktivite sonuçları

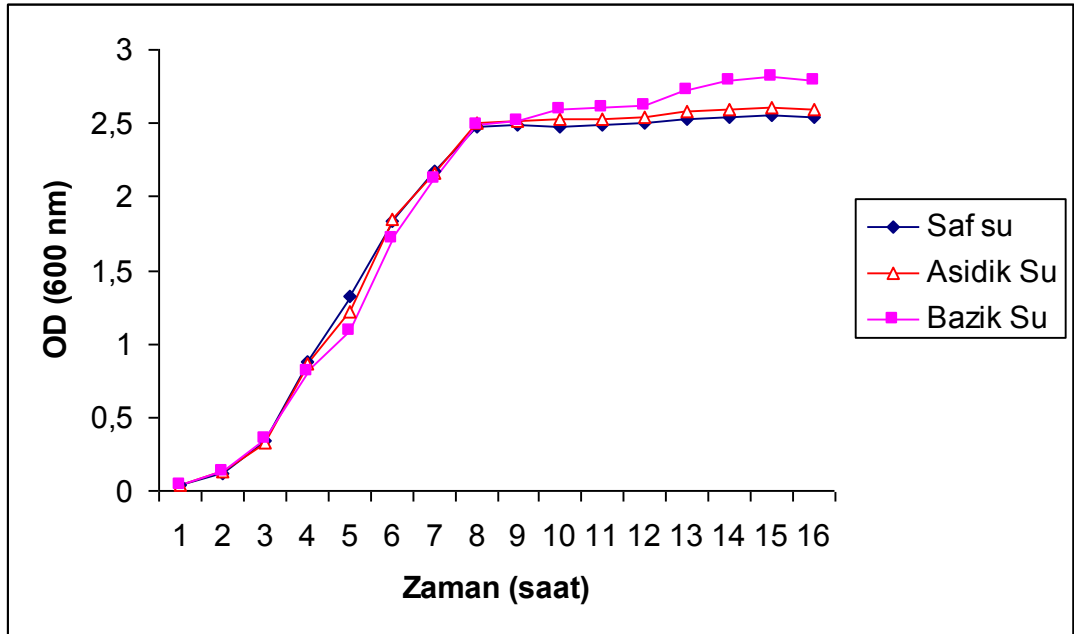
Besiyerler											
	Saf Su		pH 4			pH 10			pH 4 + pH 10 (1:1)		
pH	6.81		3.79			9.81			7.29		
ORP (mV)	+120		+43			-274			-121		
Deneme	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı
5	0.21	0.70	0.21	0.70	0.12	0.13	0.50	-29	0.25	0.72	3
6	0.66	4.06	0.80	6.11	51	0.74	5.65	39	0.74	5.70	40
7	0.72	4.93	0.92	6.92	40	0.98	7.24	47	0.87	6.42	30
8	0.63	5.68	0.95	15.23	168	1.01	20.68	264			

Besiyerler elektrolitik su cihazı 1 ile farklı pH'larda hazırlanmış sularla yapılmıştır.

4.1.3. Elektrolitik Suyun *Bacillus subtilis* Üzerine Etkisi

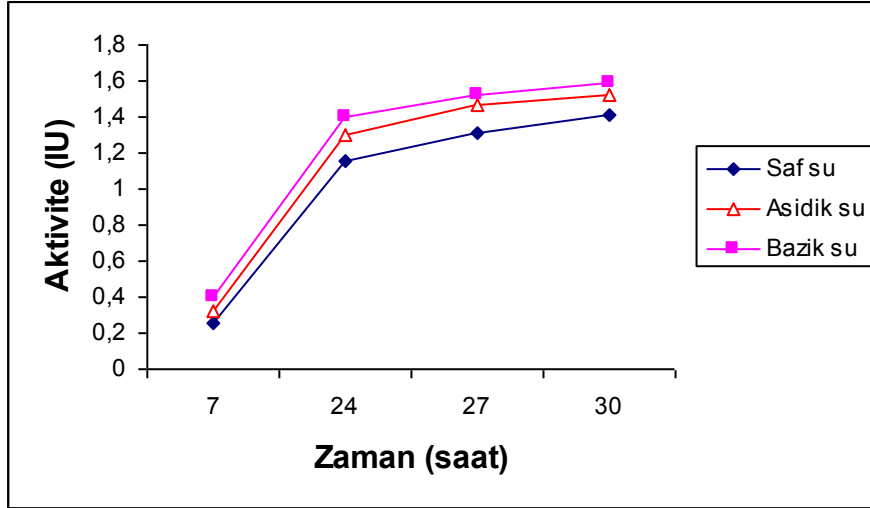
B.subtilis'ın Büyüme Eğrisi

Saf su, asidik ve bazik elektrolitik suyla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *B.subtilis*ların büyüme eğrileri aşağıdaki şekilde verilmektedir. Şekil incelendiğinde, saf suyla hazırlanan besiyerde büyütülen mikroorganizmaların elektrolitik bazik suyla hazırlanmış besiyerlerde büyütülenlere oranla daha yavaş üredikleri görülmektedir.



Şekil.4.6 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *B.subtilis*'in büyüme eğrisi

OD ölçümlerinin yapıldığı noktalardan alınan numunelerde α -amilaz aktivite değerleri aşağıda grafikte görülmektedir. α -amilaz aktivite değerleri OD ölçümlerine paralellik göstermektedir.

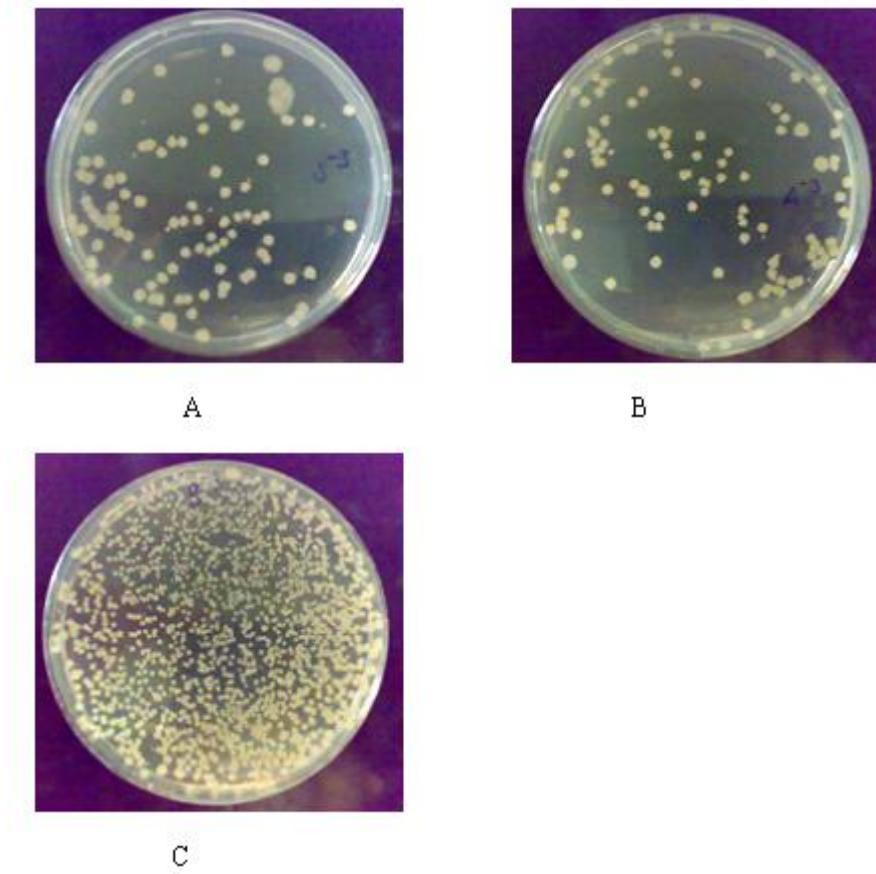


Şekil.4.7 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen α -amilaz aktivite değerleri

Büyütülen *B.subtilis*ları, içinde saf suyla hazırlanan katı Mueller Hinton besiyeri olan petrilere yayma ekim yöntemiyle ekilerek hücre sayımı yapılmıştır. Altta hücre sayılarını gösteren bir tablo görülmektedir. Bazık ve asidik + bazık (1:1) elektrolitik sularla hazırlanan besiyerlerde saf suya oranla yaklaşık 100 kat daha fazla hücre sayılmaktadır.

Tablo.4.7 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *B.subtilis*'in hücre sayıları

Hücre Sayısı (cfu/ml)	Besiyerler		
	Saf su	Asidik elektrolitik su	Bazık elektrolitik su
	1×10^9	1×10^9	9.5×10^{10}



Şekil.4.8 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerde büyütülen *S.aureus* hücre sayıları

A: Saf suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *B.subtilis*'in hücre sayıları. B: Asidik elektrolitik suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *B.subtilis*'in hücre sayıları. C: Bazik elektrolitik suyla hazırlanmış besiyerde büyütülen *B.subtilis*'in hücre sayıları.

Büyütülen *B.subtilis*lerden elde edilen süpernatantlardaki protein miktarları, α -amilaz aktiviteleri ve % aktivite artışları aşağıdaki tablolarda verilmektedir.

Tablo.4.8 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve α -amilaz aktivite sonuçları 1

Besiyerler								
	Saf Su		pH 4			pH 10		
pH	6.52		3.80			9.90		
ORP (mV)	+100		+45			-295		
Deneme	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı
1	0.74	0.37	0.73	0.52	41	0.67	0.37	0.00
2	0.49	0.24	0.71	0.41	71	0.74	0.36	50
3	0.71	0.26	0.80	0.30	16	1.03	0.24	-7.70
4	0.55	0.47	0.86	0.53	12.80	0.82	0.47	0
5	0.42	0.41	0.78	0.46	12	0.93	0.58	42
6	0.50	0.52	0.76	0.69	32	0.85	0.75	44
7	1.02	0.35	0.97	0.45	29	1.32	0.59	69
8	2.70	0.75	2.8	0.80	7	3.25	0.84	12

Besiyerler elektrolitik su cihazı 1 ile farklı pH'larda hazırlanmış sularla yapılmıştır.

Tablo.4.9 Farklı sularla hazırlanan besiyerlerin süpernatantlarındaki protein miktarları ve α -amilaz aktivite sonuçları 2

	Saf Su		Asidik Su (Çeşme suyuyla)			Bazık Su (Çeşme suyuyla)			Asidik Su (Saf suyla)			Bazık Su (Saf suyla)		
pH	6.53		3.72			10.88			4.25			9.83		
ORP	+125		+40			-350			+27			-324		
Deneme	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı	Protein Miktarı (mg/ml)	Enzim Aktivitesi (IU)	% Aktivite Artışı
9	0.49	0.24	0.84	0.40	67	0.60	0.44	83						
10	0.71	0.26	0.84	0.55	112	0.85	0.44	69						
11	0.42	0.41	0.88	0.37	-10	0.81	0.48	17	1.11	0.68	66	0.99	0.63	66
12	0.53	0.37							0.67	0.42	14	0.74	0.49	33

Besiyerler elektrolitik su cihazı 2 ile çeşme suyunun ve saf suyun elektroliz edilmesiyle oluşan asidik ve bazık sularla hazırlanmıştır.

4.2. Tartışma

Bu çalışmada, elektrolitik asidik ve bazik suyun bakteri üremesi ve bakteriyel enzim üretimi üzerine etkisi çalışılmıştır. Literatürde elektrolitik suyun yapısı, eldesi, kullanım alanları üzerine pek çok çalışma mevcuttur. Literatür tarandığında çoğunlukla elektrolitik asidik suyun dezenfektan etkisi, elektrolitik bazik suyun ise antioksidan etkisi üzerine çalışmalar yapıldığı görülmüştür.

Elektrolitik suyun mikroorganizmalar üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, E.coli kullanılmıştır. Mikroorganizmaların büyütüleceği sıvı besiyerler saf suyla, elektrolitik bazik suyla, 1:1 oranında elektrolitik bazik su ve saf su karışımıyla, elektrolitik asidik suyla ve 1:1 oranında elektrolitik asidik su ve saf su karışımıyla hazırlanmıştır. Değişik elektrolitik sularla hazırlanmış besiyerlerde büyütülen mikroorganizmalar saf suyla hazırlanmış besiyerde büyütülenlerle kıyaslandığında %30–40 fark görülmektedir. Mikroorganizmaların değişik sularla hazırlanmış besiyerlerde büyüme oranlarına bakıldığında ise mikroorganizmaların elektrolitik suyla hazırlanmış besiyerlerde saf suyla hazırlanan besiyerlere oranla çok daha çabuk büyüdüğü görülmüştür. Belirtilen bu çalışmada elektrolitik su, çalışılan tezden farklı olarak elektroliz kabına bir miktar tuz atılarak elde edilmiştir. Bu yöntemle hazırlanan elektrolitik asidik su kullanılmadan önce çözünmüş suda bulunan Cl⁻ iyonları elektrolitik asidik suyun UV ışınları altında karıştırılmasıyla yok edilmiştir. Hazırlanan besiyerlerin sterilizasyon işlemi ise farklı olarak otoklavla değil filtrasyonla sağlanmıştır [Imamura et al., 1998].

Tez çalışmasında mikroorganizmaların büyütüleceği besiyerlerin elektrolitik suyla hazırlanması canlı hücre sayımında önemli artışlar sağlamıştır. Bu mikroorganizmalardan elde edilen enzimlerin aktiviteleri Aynı şekilde mikroorganizmalardan sağlanan enzimlerin aktivitelerinde de artış bulunmaktadır.

Elektrolitik suyun üç önemli özelliği bulunmaktadır. Bunlardan biri pH'sıdır. Mikroorganizmalar belirli besiyerlerde ve belirli pH değerlerinde üretilmektedirler. Enzimlerin her birinin maksimum aktivite gösterdikleri belirli bir optimum pH değerleri bulunmaktadır. Farklı sularla hazırlanmış besiyerlerin pH'ları kontrol edildiğinde saf suyla ve diğer tüm sularla hazırlanmış besiyerlerin pH'larının eşit

olduğu görülmüştür. Dolayısıyla mikroorganizmaların büyümesinde ve enzim aktivitelerinin artışında elektrolitik suyun farklı pH'larının bir etkisi bulunmamaktadır. Elektrolitik suyun bir diğer önemli özelliği düşük molekül ağırlığıdır. Daha önce de belirtildiği gibi elektrolitik su düşük molekül ağırlığı sayesinde hücrelerin içine daha fazla alınabilir. Bu demektir ki, elektrolitik sularla hazırlanmış besiyerler mikroorganizmaların hücrelerine daha fazla nüfuz etmişlerdir ve daha fazla büyümelerine neden olmuşlardır. Canlı mikroorganizma sayısının fazla olması salgılanan enzim miktarının da fazla olması demektir. Sonuç olarak deney sonuçlarındaki artışlarda düşük molekül ağırlığının önemli etkisi bulunmaktadır.

Çalışmada elektrolitik su cihazı 2 ile saf suyun elektroliz edilmesiyle hazırlanan elektrolitik suyun da etkisi incelenmiştir. Sonuçlarda elektroliz edilmeyen saf suya oranla elektroliz edilen saf suyun canlı hücre sayısı ve enzim aktivitesi üzerine önemli etkisi olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar artışların elektrolitik su hazırlarken kullanılan çeşme suyunun içerdiği minerallerden kaynaklanmadığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

Agnew, B., Water The Miracle Cure, Library And Archives Canada Cataloguing, Canada, 0-9731336-8-6, 2004

Al-Haq, M., Sugiyama, J., Isobe, S., “Applications Of Electrolyzed Water In Agriculture And Food Industries”, *Food Sci. Technol. Res.*, 135-150, 2005

Batmanghelidj, F., You are not sick, you are thirsty, http://www.naturalscience.org/Special_Report_Water_Engl_ebook.pdf, 04.2008

Chaplin, M., Water structure and science, <http://www.lsbu.ac.uk/water/methods.html>, 05.2007

Chemical Technology & Biotechnology, Volume 80, Number 8, August 2005, pp. 845-860(16)

Cogan, T. M., & Jordan, K. N., Metabolism of *Leuconostoc* bacteria. *Journal of Dairy Science*, 77, 2704-2717, 1994.

Cooke, D., Foster, T. J., Galema, S. A., Ledebor, A. M., & Sanders, J. W. “Method of preparing a fermented milk-based food product”, Unilever, *European Patent*, Patent Number:1180329, Patent Date: 2002

Damm, H., C., Besch P., K., Goldwyn, A., J., Oxidation-Reduction. In: The handbook of biochemistry and biophysics. Cleveland, Ohio: World Publishing Company; p.400-7, 1966

de Vuyst, L., & Degeest, B., Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23, 153-177, 1999.

Duboc, P., & Mollet, B., Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11, 759-768, 2001.

Gabbai, E., “A Thermal Process Involving Cold RF Irradiated Liquid As A Core Method For Producing Nano-Size Particles”, *WO patent*, Patent Number: 053647, Patent Date: July 3, 2003

Gornev, Serguei, “The Method For Prevention Cancer By Activated Water And Soft Electromagnetic Field”, *CA patent*, Patent Number: 2304544, Patent Date: April 11, 2000

Gupta R., Gupta N., Rathi P., “Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties”, *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, 64: 763–781

Hanaoka, K., Sun, D., et al, “The mechanism of the enhanced antioxidant effects against superoxide anion radicals of reduced water produced by electrolysis”, *Biophys Chem.*, Vol. 107(1):71-82, 2004 Jan 1

Hayashi, H., Benefits of alkaline, ionized water, <http://www.ionizers.org/water.html>, 10.2008

Hayashi, “Ionized Water”, Kyushu University Water Institute of Japan, 2000

<http://shop.thelifeco.com.tr/Su-yonizeri-EP1000-Tezgah-st-P45.aspx>

<http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM//1213/unite08.pdf> Prof. Dr. Muslu, Y., İTÜ Çevre Mühendisliği Bölümü - Su Temini ve Çevre Sağlığı Cilt 2 sayfa 715

Igarashi, K., Hatada, Y., Hagihara, H., Saeki, K., Takaiwa, S., Kobayashi, T., and Ito, S., 1998. Enzymatic Properties of a Novel Liquefying α -Amylase from an Alkaliphilic *Bacillus* Isolate and Entire Nucleotide and Amino Acid Sequences. *Applied and Environmental Microbiology.*, 3282-3289.

Imamura, Takeshi, Ohta-ku et al., “Microbial Processes Using Electrolyzed Water”, *EP patent*, Patent Number:0861887, Patent Date: Sept. 02, 1998

Interperation of Japan water institute laboratory test results introduction,
<http://www.novaes.mobi/water-institute-scientific-test-data.html>, 10.2008

Jain P., Jain S., Gupta M. N., “A microwave-assisted microassay for lipases”, *Anal Bioanal Chem*, 2005, 381:1480-1482

Jaeger K.E., Ransac S., Dijkstra W.B., Colson C., Margreet H. and Misset O.,
 “*Bacterial lipases*”, *FEMS Microbiology Reviews*, 1994,15: 29-63

Kiran, K., K., Chandra, T., S., “Production of surfactant and detergent-stable, halophilic, and alkalitolerant alpha-amylase by a moderately halophilic *Bacillus* sp. Strain TSCVKK”, *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol. 77:1023–1031, 2008.
 (Sneath, 1986).

Khan, J., Alkaline Ionized Water (Microwater), [http:// www.detoxifynow.com](http://www.detoxifynow.com),
 01.2007

Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G., Fox, P. F., “Determination Of Key Enzyme Activities In Commercial Peptidase And Lipase Preparations From Microbial Or Animal Sources”, *Elsevier*, Vol.31, 310-320, 2002

Kitaoka M. and Robyt J. F., “Use of microtiter plate screening method for obtaining *Leuconostoc mesenteroides* mutants constitutive for glucansucrases”, *Enzyme and Microbial Technology*, 1998, 22:527-531

Masayuki, O., “Active Water Production Method, Animal, Breeding Method, And Active Water”, *JP patent*, Patent Number: 105677, Patent Date: April 26, 2007

Naessens M., Cerdobbel A, Soetaert W., Vandamme, E. J 2005. *Leuconostoc* dextranase and dextran: production, properties and applications. *Journal of*

Paskalov, G., Gorodkin, M., and Sokolov, V., “Activated Water Apparatus And Methods And Products”, *US patent*, Patent Number: 0050682, Patent Date: Mar. 18, 2004

Pucci, M. J., & Kunka, B. S., Novel dextran produced by *Leuconostoc dextranicum*. Microlife Technics Incorporation, *United States*, Patent Number: 4 933 191, Patent Date: 1995.

Saxena R.K., Ghosh P.K., Gupta R. , Davidson W.S., Bradoo S. and Gulati R., “*Microbial lipases: potential biocatalyst for the future industry*”, *Curr. Sci.*, 1999, 77:101–115.

Schibilskis, P., Activated And Silvered Water, <http://www.burbuliukas.lt/en/ps/book>, Mart, 2007

Sharmaa R., Chistib Y., Banerjee U.C., “Production, purification, characterization, and applications of lipases”, *Biotechnology Advances*, 2001,19:627-662

Shirahata, S., Kabayama, S., et al., “Electrolyzed–Reduced Water Scavenges Active Oxygen Species and Protects DNA from Oxidative Damage”, *Biochemical And Biophysical Research Communications*, Vol. 234, 269-274, 1997

Shirahata, Sanetaka et al., “Electrolytic Reduced Water, Anti-cancer Drug, And Producing Method And Apparatus Thereof”, *EP patent*, Patent Number: 1512670, Patent Date: Mar. 09, 2005

Sibilskis, P., Ionized water for treatment, <http://www.burbuliukas.lt/en/waterinlife>, 02.2007

Smirnov, I., V., “Activated Water”, *Explore Magazine*, Vol.11, No.3, 49-53, 2002

Smirnov, I., “Activated Water”, *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol.6, No.2,128-142, 2003

Smirnov, I., V., Vysotskii, V., I., Kornilova, A., A., "Introduction To The Biophysics Of Activated Water", Universal- Publishers, ISBN-10: 1581124783, ISBN-13: 9781581 124781, 2005

Tanriseven, A., Doğan, Ş. "Production of isomalto-oligosaccharides using dextransucrase immobilized in alginate fibres", *Elsevier*, Vol.37, 1111-1115, 2002

Thapa, N., Pal, J., Tamang, J., P., "Phenotypic Identification And Technological Properties Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditionally Processed Fish Products of The Eastern Himalayas", *Elsevier*, Vol.107, 33-38, 2006

"The Effect Of Neowater on Enzyme Activity and Stability Under Stres", www.docoop.com

Tietze, H., *Water Medicine*, Harald Tietze Publishing, ISBN: 1876173068, 9781876173067, 1997

Troller J., A., Bozeman, M., A., "Isolation And Characterization Of A *Staphylococcal* Lipase", *American Society for Microbiology*, Vol.20, No.3, 1970

Ulman, "Ullmann's Encyclopaedia of Industrial Chemistry", VCH Publishers, Glucose and glucose containing syrups, Vol A 12, 457-475, 1991.

Vorobjeva, N., V., "Selective Stimulation Of The Growth Of Anaerobic Microflora In the Human Intestinal Tract By Electrolyzed Reducing Water", *Elsevier*, Vol.64, 543-546, 2005

Yahagi, N., Kono, M., Kitahara, M., Ohmura, A., et al., "Effect Of Electrolyzed Water On Wound Healing", *Artificial Organs*, Vol.24, 984-987, 2000

Zadik, P. M., Davies, S., Mason, C., "Comparison Of Methods For The Isolation Of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*", *J. Clin Pathol*, Vol.50, 1997

Zadık, P. M., Davies, S., Mason, C., “Evaluation Of A New Selective Medium For Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*”, *J. Med. Microbiol*, Vol.50, 476-479, 2000

ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI: Zübeyde TUNABAY

DOĞUM YERİ: KOCAELİ

DOĞUM TARİHİ: 24.06.1982

LİSANS: MARMARA ÜNİVERSİTESİ EĞİTİM FAKÜLTESİ KİMYA
ÖĞRETMENLİĞİ BÖLÜMÜ (2000–2005)

YÜKSEK LİSANS: ŞUBAT 2006-ARALIK 2007 Ders Dönemi
ŞUBAT 2008-OCAK 2009 Tez Dönemi