

T.C.

GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

ELEKTROLİZE SUYUN *Vicia faba L.*
ÜZERİNE GENOTOKSİK ETKİSİNİN
KONTROLÜ

Özgür MİLLİOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE
2006

T.C.

GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

ELEKTROLİZE SUYUN *Vicia faba L.*
ÜZERİNE GENOTOKSİK ETKİSİNİN
KONTROLÜ

Özgür MİLLİOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Yard. Doç. Dr. Sema Tülay HEKİMBAŞI

GEBZE
2006

ÖZET

Tez Başlığı: Elektrolize Suyun *Vicia faba* L. Üzerine Genotoksik Etkisinin Kontrolü

Yazar: Özgür MİLLİOĞLU

Bu çalışmada, elektrolize suyun, *Vicia faba* (bakla) üzerine genotoksik güvenilirliği araştırılmış olup, konu üzerine canlılarda yapılan ilk çalışmadır. Araştırma kapsamında, farklı pH' lardaki elektrolize sular (pH:1.0-2.0; 2.0-3.0; 4.0-5.0; 9.0-10.0 ve 11.0-12.0) ile çimlendirilen bakla tohumlarının, çimlenme, gelişim, mitotik indeks ve anormalliklerinin incelenmesi öngörüldü. Mitotik preparatların hazırlanmasında Feulgen ezme preparat tekniği kullanıldı.

Sonuç olarak; pH:1.0-2.0 asidik elektrolize suda çimlenme olmadığı gözlemlendi ve bu durumun düşük pH' dan kaynaklanabileceği düşünüldü. pH:2.0-3.0 asidik elektrolize suda, çimlenme oranındaki azalma istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu ($p < 0.00001$). Alkali elektrolize suyun (pH:9.0-10.0) bakla bitkisinin büyüme ve gelişimini anlamlı olacak şekilde ($p < 0.01$) olumlu yönde etkilediği sonucuna varıldı. Bu çalışma ile; pH:2.0-3.0 asidik elektrolize suyun mitotik indeksi istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı azalttığı ($p < 0.00001$) belirlendi. pH:4.0-5.0 asidik elektrolize su ve pH:11.0-12.0 alkali elektrolize suyun mitotik indeksi anlamlı olacak şekilde azalttığı gözlemlendi ($p < 0.01$). pH:9.0-10.0 alkali elektrolize su mitotik indeksi arttırmış olup, mitotik indeks ile kontrol grupları arasındaki farkın ileri derecede anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.00001$). Farklı pH' lardaki elektrolize suların etkisi ile gözlenen mitotik anormallik oranlarının istatistiksel anlamlılık arz etmediği belirlendi ($p > 0.01$). Bu durum, kullanılan suların *Vicia faba* (bakla) bitkisi üzerinde genotoksik etkiye sebep olmadığını düşündürdü. Ancak, pH:2.0-3.0 asidik elektrolize su ve pH:11.0-12.0 alkali elektrolize su örneklerinde interfaz evresi çekirdek büzölmeleri görölmüş olup, bu pH' lardaki anormallik oranlarının istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu göröldü ($p < 0.00001$). Bu durumun, pH:2.0-3.0 ve 11.0-12.0 elektrolize su örneklerindeki serbest radikallerden kaynaklanabileceği düşünüldü. pH:2-3 asidik ve pH:11-12 alkali elektrolize suların *Vicia faba* bitkisi için sitotoksikite açısından güvenilir olmadığı sonucuna varıldı.

SUMMARY

Title of The Thesis: The Genotoxic Control of Electrolyzed Water on *Vicia faba L.*

Author: Özgür MİLLİOĞLU

In this research; the genotoxic safety of electrolyzed water on living organisms was investigated as the first time, using *Vicia faba L.* (broad bean) as a model organism. For this purpose, *Vicia faba* seeds were germinated in electrolyzed water which have different pH's (1.0-2.0, 2.0-3.0, 4.0-5.0, 9.0-10.0, 11.0-12.0). Germination and growing rates were estimated on the seedlings. Mitotic index and abnormalities were defined on the cytologic preparations that were made using Feulgen squash technique.

It was detected that; there was no seed germination at pH:1.0-2.0 acidic electrolyzed water, resulting probably from the low pH. The germination rate at pH: 2.0-3.0 electrolyzed water was found to be significantly lower ($p < 0.00001$). This indicated that, alkaline electrolyzed water (pH:9.0-10.0) positively effects the growing and development rate, significantly ($p < 0.001$). Acidic electrolyzed water (pH:2.0-3.0) was highly significantly decreased the mitotic index ($p < 0.00001$). Acidic and (pH:4.0-5.0) and alkaline (pH:11.0-12.0) electrolyzed water samples decreased the mitotic index significantly ($p < 0.00001$). It was also determined in this study that; under the effects of all electrolyzed water samples, the mitotic abnormality rates of cells were not found significant ($p > 0.01$). This implied that, electrolyzed water samples used in this study did not caused genotoxic harm. Some nucleolar shrinking configurations were observed in the cells affected by pH:2.0-3.0 (acidic) and pH:11.0-12.0 (alkaline) electrolyzed waters, being highly significant ($p < 0.00001$), herein. It was concluded that, this configurations were probably caused by free radicals in water samples used. It was also stated as the first time in this study that, pH:2.0-3.0 acidic and pH:11.0-12.0 alkaline waters cause cytotoxicity on *Vicia faba*.

TEŞEKKÜR

Çalıőmam boyunca, her koőulda bilgisini ve desteğini esirgemeyen danıőmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Sema Tölly HEKİMBAŞI'na teőekkürlerimi sunarım. Elektrolize suyun temini hususunda G.Y.T.E. Çevre Mühendisliği Laboratuvarı'nın imkanlarından yararlanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Anotoly DİMOĞLO' na teőekkürlerimi sunarım. Araştırma görevlisi Sami AKSOY, yüksek lisans öğrencileri Mustafa ÇAMAŐ, Burcu PULLUK UĞUR ve Taner ŐAN'a da her türlü desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Ayrıca; tohumların temin edilmesi hususunda, ilgi ve yardımlarından dolayı Çayırova Tohum Sertifikasyon Test Müdürlüğüne teőekkürlerimi sunarım. Son olarak, bu çalışmanın baőından sonuna kadar maddi manevi her türlü desteğini sunan aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

SAYFA

ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Su ve Genel Özellikleri	1
1.2. Elektroliz	2
1.3. Suyun Elektrolizi	4
1.4. Elektrolize Su ve Genel Özellikleri	6
1.5. Elektrolize Suyun Kullanım Alanları	6
1.6. Elektrolize Su ve NaCl	7
1.7. Elektrolize Sudaki Serbest Radikaller ve Elektrolize Suyun Antioksidan Etkisi	9
1.8. pH ve DNA (Deoksiribonükleik asit)	10
1.9. Genotoksisite	11
1.10. Kromozomal ve Mitotik Anormallikler	12
1.11. Genotoksisite Çalışmalarında Bitkilerin Kullanılması	14
1.12. Çalışmanın Önemi ve Amacı	14
2.KONU İLE İLGİLİ YAYIN VE ÇALIŞMALAR	16
2.1. Bakteri Dezenfeksiyonunda Elektrolize Suyun Kullanımı	16
2.2. Gıda Sterilizasyonunda Elektrolize Su	17
2.3. Bitki Yetiştiriciliği ve Elektrolize Su	19
2.4. Tıp ve Elektrolize Su	19
2.5. Enzim Aktivasyonunda Elektrolize Su	20
2.6. Gıda Pişirmede Elektrolize Su	21
3. MATERYAL VE METOT	22

3.1. Materyal	22
3.1.1. Elektrolize Su Örnekleri	22
3.1.2. Bakla (<i>Vicia faba L.</i>)	22
3.2. Metot	23
3.2.1. Elektrolize Suyun Hazırlanması	23
3.2.2. Tohumların Farklı pH' lardaki Elektrolize Sularla Petri Kaplarında Çimlendirilmesi	24
3.2.3. Tohumların Farklı pH' lardaki Elektrolize Sularla Toprakta Çimlendirilmesi	24
3.2.4. Mitotik Preparatların Hazırlanması	25
3.2.5. Mitotik İndeks	26
3.2.6. İstatistiksel Verilerin Hesaplanması	26
4. BULGULAR	28
4.1. Elektrolize Suların Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri	28
4.2. Elektrolize Suların Bakla Fideleri Gelişimi Üzerine Etkileri	29
4.3. Elektrolize Suların Mitotik İndeks Üzerine Etkileri	33
4.4. Elektrolize Sularda Çimlendirilen Tohumlarda Mitotik Anormallik Oranları	34
4.4.1. Elektrolize Sularda Çimlendirilen Tohumlarda İnterfaz Anormalliği Oranları	36
4.5. Elektrolize Sularda Çimlendirilen Tohumlarda Mitotik Anormallik Tanımları	37
4.5.1. Kontrol Grubuna Ait Mitotik Anormallik Tanımları	37
4.5.2. Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumlarda Mitotik Anormallik Tanımları	40
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	52
KAYNAKLAR	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. pH Değeri izelgesi	1
1.2. Suyun Elektroliz S¼reci Diyagramı	5
1.3. Çeşitli NaCl Konsantrasyonlarındaki Elektrolize Solusyonlarda Serbest Klor Konsantrasyonunun Zamana Bağlı Değişimi	8
1.4. Mitoz Anormallikleri	13
2.1. Elektrolize Su İçindeki Soya'da Yaşayabilen Bakteri Populasyonu Değişimi	18
4.1. Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri	31
4.2. Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri	31
4.3. Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri	32
4.4. Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri	32
4.5. Saf Su (Kontrol) (pH:6.0-7.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri	33
4.6. Kontrol Grubunda Normal Profaz Safhası	38
4.7. Kontrol Grubunda Normal Metafaz Safhası	38
4.8. Kontrol Grubunda Normal Anafaz Safhası	39
4.9. Kontrol Grubunda Normal Telofaz Safhası	39
4.10. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Kromozom Fragmentasyonu	40
4.11. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) ekirdek B¼z¼lmeleri	41
4.12. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Anafazda Geri Kalma	41
4.13. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Anafazda Geri Kalma	42
4.14. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Metafaz Plağında Toplanamayan Kromozomlar	42
4.15. Asidik Elektrolize Suda (pH:4.0-5.0) Metafaz Plağında Toplanamama	43
4.16. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Metafaz Plağında Toplanamayan Kromozomlar ve İnterfazda Mikron¼kleus	43
4.17. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Profazda Mikron¼kleus	44

4.18. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Çift Çekirdekli Hücre	44
4.19. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Telofazda Kromozom Köprüsü	45
4.20. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Anafazda Kromozom Köprüleri	45
4.21. Asidik Elektrolize Suda (pH:4.0-5.0) Anafazda Kromozom Köprüsü	46
4.22. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Çift Çekirdekli Hücreler ve Çok Çekirdekçikli İnterfaz Hücreleri	46

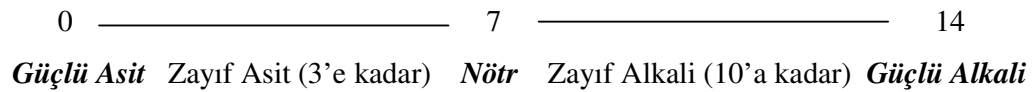
TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Hidrojen ve Hidroksil İyonlarının Farklı pH Değerlerindeki Konsantrasyonları	2
3.1. Çimlendirmeler İçin Kullanılan Elektrolize Su ve Kontrol Gruplarının pH Değerleri	22
4.1. Farklı Elektrolize Suların Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri	29
4.2. Farklı Elektrolize Sularda Çimlendirilmiş Bakla Fidelerinin Boy Ortalamaları	30
4.3. Farklı pH'lardaki Su Örneklerinin Mitotik İndeks ve t Değerleri	34
4.4. Farklı pH' lardaki Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumların Mitotik Anormallik Oranları	35
4.5. Farklı pH' lardaki Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumların Mitotik Evre Dağılımı ve Anormallik Oranları	36
4.6. Farklı pH' lardaki Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumların Normal ve Anormal İnterfaz Evre Dağılımı ve Anormallik Oranları	37

1. GİRİŞ

1.1. Su ve Genel Özellikleri

Dünyanın % 70' i su ile kaplıdır ve bu suyun % 5' i tatlı su olup, kalanı deniz suyudur. Canlı organizmalar bünyelerinde, % 70-90 oranında su bulundurmaktadır. Bir su molekülü iki hidrojen ve bir oksijen atomundan meydana gelmektedir [$2\text{H}_2\text{O} (\text{s}) \longrightarrow 2\text{H}_2 (\text{g}) + \text{O}_2 (\text{g})$]. Su; içinde bulunan hidrojen veya hidroksil iyonlarının hangisi fazla ise, ona göre asidik ya da alkali özellik kazanır. Hidrojen iyonlarının fazla olması ile asidik, hidroksil iyonlarının fazla olması ile de alkali durumu ortaya çıkar. Bu tip sulara, elektrolize su denir. Hidrojen ve hidroksil iyonlarının dengede olması halinde ise, su nötr'dür. Musluk suyunun pH' sı 7-8, saf suyun pH' sı ise, yaklaşık 6-7 civarındadır. Yağmur suyu doğadaki en saf sudur ve onun içinde dahi, oksijen (O_2), nitrojen (N_2), ve karbondioksit (CO_2) gibi erimiş gaz molekülleri bulunur. Endüstrinin yoğun olduğu yerlerde, kükürdioksit (SO_2) de içerebilir. Çözeltiler, 0 ile 14 aralığında değişen pH değerlerine sahiptir (Şekil 1.1. ve Tablo 1.1.).



Şekil 1.1. pH Değeri Çizelgesi.

pH teriminde; p, eksi logaritmanın matematiksel sembolünden; H ise, hidrojenin kimyasal formülünden türetilmişlerdir. pH tanımı, hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması olarak verilebilir: $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$

Tablo 1.1. Hidrojen ve Hidroksil İyonlarının Farklı pH Değerlerindeki Konsantrasyonları

pH		H ⁺	OH ⁻	
0	(10 ⁰)	1	0.000000000000001	(10 ⁻¹⁴)
1	(10 ⁻¹)	0.1	0.00000000000001	(10 ⁻¹³)
2	(10 ⁻²)	0.01	0.0000000000001	(10 ⁻¹²)
3	(10 ⁻³)	0.001	0.000000000001	(10 ⁻¹¹)
4	(10 ⁻⁴)	0.0001	0.00000000001	(10 ⁻¹⁰)
5	(10 ⁻⁵)	0.00001	0.000000001	(10 ⁻⁹)
6	(10 ⁻⁶)	0.000001	0.00000001	(10 ⁻⁸)
7	(10 ⁻⁷)	0.0000001	0.0000001	(10 ⁻⁷)
8	(10 ⁻⁸)	0.00000001	0.000001	(10 ⁻⁶)
9	(10 ⁻⁹)	0.000000001	0.00001	(10 ⁻⁵)
10	(10 ⁻¹⁰)	0.0000000001	0.0001	(10 ⁻⁴)
11	(10 ⁻¹¹)	0.00000000001	0.001	(10 ⁻³)
12	(10 ⁻¹²)	0.000000000001	0.01	(10 ⁻²)
13	(10 ⁻¹³)	0.0000000000001	0.1	(10 ⁻¹)
14	(10 ⁻¹⁴)	0.000000000000001	1	(10 ⁰)

1.2. Elektroliz

Elektroliz olayının, ilk olarak Michael Faraday tarafından incelendiği düşünülmektedir. Suyun elektrolizi ile ilgili ilk deneyler, volta pilinin bulunmasıyla 19. Yüzyılın başlarında gerçekleşmiştir.

Bir elektroliz olayında ayrışan elektrolitin kütlesi, sadece voltmetreden geçen elektrik miktarına bağlı ve onunla doğru orantılıdır. İyonlarına ayrışma miktarı ne kadar çok ise, elektrik akımı iletkenliği o kadar fazla olur. Bu iletkenlik sayesinde elektrik akımı yardımıyla herhangi bir elektrolitin uğradığı ayrışmaya ise, elektroliz denir. Bu olay, kendiliğinden yürümeleyen redoks tepkimelerinin, dışarıdan enerji

verilmesiyle gerçekleştirilmesi olarak da tanımlanabilir. Kullanılan elektrolit su olduğunda; gerçekleşen ayrışma işlemine “suyun elektrolizi” denir. Bu olay sonucunda oluşan suya da, “elektrolize su” denmektedir. Elektrolize su yapmak için; saf su kullanılmaz. Çünkü, saf suyun iletkenliği çok azdır. İyonik bağlı bileşikler suda iyonlarına ayrışırlar. Bu tür çözeltiler elektrolittirler ve elektrik akımını iletirler. Şeker ve etil alkol gibi bazı kovalent bağlı bileşikler ise suda molekül halinde ayrışırlar ve elektrik akımını iletmezler.

Elektroliz, oksidasyon redüksiyon reaksiyonları temeline dayanmaktadır. Kimyasal reaksiyonlarda, elektronların bir molekülden diğerine nakledilmesine, oksidasyon redüksiyon (oksidoredüksiyon) veya redoks reaksiyonları denilmektedir. Bu reaksiyonlarda elektron veren moleküllere, redükleyici ajan veya redüktan; elektron alan moleküllere ise, oksitleyici ajan veya oksidan adı verilmektedir. Redükleyici ve oksitleyici ajanlar, redüktan – oksidan çifti olarak fonksiyon görmektedir.

Bir redoks çiftinin elektron kaybetmesi, oksidasyon redüksiyon potansiyeli (ORP) olarak bilinir ve E^0 ile gösterilir. Buna aynı zamanda, elektron transfer potansiyeli veya sadece redoks potansiyeli adları da verilmektedir.

Elektrolit; eğer redoks potansiyelinin değeri negatif ise, H_2 gazının elektronları daha az çekmesine, redoks potansiyelinin değeri pozitif ise, H_2 gazının elektronları daha fazla çekmesine olanak verir. Yani E^0 değeri negatiften (-) pozitif (+) doğru gittikçe, maddenin elektron vermesi güçleşmekte, buna karşılık elektron alma çekimi de gittikçe artmaktadır.

Su, kuvvetli standart potansiyele (ORP) sahiptir ve bu değer, pH:7.0’ da $E^0 = + 820 \text{ mV}$ ’ dur. Su molekülü çok isteksiz olarak elektron kaybedip, çok az oranda moleküler oksijen meydana getirmektedir. Buna karşılık moleküler oksijen, elektronlara veya hidrojene karşı daha yüksek bir affiniteye sahiptir.

Bir elektrolizde, elektrot reaksiyonlarının başlaması için gerekli olan minimum potansiyele “ayrışma gerilimi = elektro motor kuvveti (EMK)” denir. Teorik ayrışma gerilimi, anot ve katodun denge haline karşılık gelen elektrot potansiyelleri

arasındaki farkı ifade eden Nernst Denklemi ($E_{AG} = E_{KATOT} - E_{ANOT}$) ile hesaplanarak bulunabilir.

Buradan elde edilen E_{AG} , teorik ayrışma gerilimi olup, anot ve katotta hiç aşırı gerilim olmadığı kabulüne dayanır. Bu değer, aynı hücrenin EMK değerinin ters işaretlisidir. Buna, zıt EMK denir.

Suyun elektrolizinde ayrışma gerilimi şöyle hesaplanır:

Katot potansiyeli (oksidasyon olarak):

$$E_{KATOT} = E^{\circ} - 0,059/2 \log (10^{-7})^2 = 0,413 \text{ Volt}$$

Anot potansiyeli (redüksiyon olarak):

$$E_{ANOT} = E^{\circ} - 0,059/2 \log (1/10^{-7})^2 = - 0,814 \text{ Volt}$$

Suyun teorik ayrışma gerilimi,

$$E_{AG} = E_{KATOT} - E_{ANOT}$$

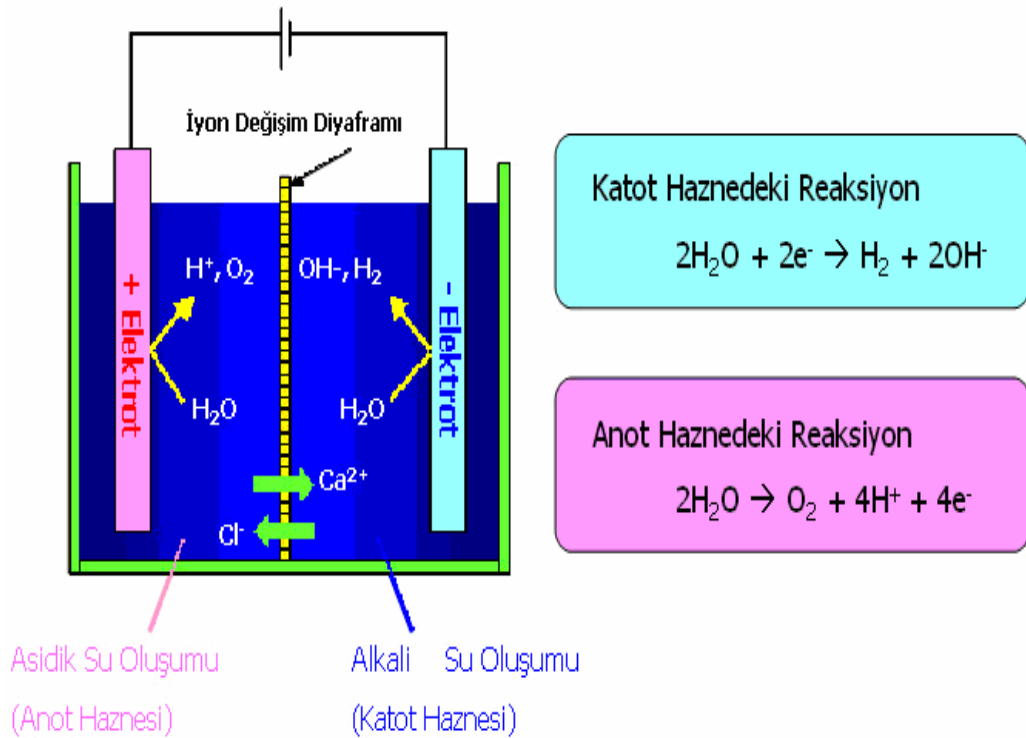
$$E_{AG} = 0,413 - (- 0,814) = 1,227 \text{ Volt}$$

Hesaplanan 1,227 Volt'luk bu değer, suyun teorik ayrışma gerilimidir. Gerçekte, suyun ayrışması için her iki elektrotta oluşan aşırı gerilimlerin de yenilmesi gerekir. Suyun gerçek ayrışma gerilimi, 1,70 Volt'dan daha yüksektir.

1.3. Suyun Elektrolizi

Suyun parçalanması, moleküldeki O-H bağlarının kırılması anlamına gelir. Suyu elektroliz etmeden de iyonlarına ayırıştırmak mümkündür. Yüksek sıcaklıklara (1000 °C' ı aşan) kadar ısıtarak suyun iyonlarına ayrışması sağlanabilir. Ayrıca, frekansı ve dolayısı ile fotonlarının taşıdığı enerji miktarı uygun seçilmiş olan elektromanyetik radyasyon (ışık) yardımı ile de su, iyonlarına ayırıştıırılabilir. Buna *fotoliz* ya da *foto-hidroliz* denir.

Normal şartlarda (1 atm ve 25 °C) su, serbest enerji değişimi büyük pozitif değere sahip olduğu için, kendiliğinden parçalanmaz. Ancak, suyu elektrolize etmek mümkündür. İlke olarak bir elektroliz hücresi, içinde düzlem bir metal veya karbon plaklar olan, iki elektrot ya da nikel kaplı çelik elektrotlar ve bunların içine daldırıldığı elektrolit olarak adlandırılan iletken bir sıvı içermektedir. Doğru akım kaynağı bu elektrotlara bağlandığında akım, iletken sıvı içinde pozitif elektrottan negatif elektrota doğru akar. Böylece anot pozitif, katot ise negatif olarak yüklenmiş olur. Elektrotlar arasında oluşan elektrik alanının etkisiyle, pozitif iyonlar katota negatif iyonlar ise anota doğru göç ederler. Bunun sonucu olarak; elektrolit içindeki su, katottan çıkan hidrojen ve anottan çıkan oksijene ayrışacaktır (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. Suyun Elektroliz Süreci Diyagramı

Suyun elektrolizi, hidrojen üretmek için bilinen en yaygın yöntemdir. Hidrojenin yanması sonucunda sadece su oluşmaktadır. Bu yüzden, elektroliz sırasında, katot haznesinde açığa çıkan ve yakıt olarak da kullanılan hidrojen, temiz bir yakıttır. Ancak suyun ayrıştırılması için gereken enerji miktarı, hidrojenin yanması sırasında geri alınandan daha fazladır.

1.4. Elektrolize Su ve Genel Özellikleri

Elektrolize su; asidik elektrolize su ve alkali elektrolize su olarak iki ayrı tipe sınıflandırılabilir. Elektrolize edilmiş alkali solusyon ($\text{pH} > 11$ ve $\text{ORP} < - 800$ mV), katot tarafından oluşturulur. Güçlü redüksiyon potansiyeline sahiptir ve gıdaları temizleyici solusyon olarak kullanılabilir (Hsu, 2005). Elektrolize edilmiş asit solusyon ($\text{pH} < 2,7$ ve $\text{ORP} > 1100$ mV) ise, anot tarafından oluşturulur. Güçlü oksidasyon potansiyeline sahiptir ve bakteriyel dezenfektan olarak kullanılabilir.

Güçlü asidik elektrolize su; yüksek pozitif oksidasyon – redüksiyon, güçlü asidite, yüksek konsantrasyonlu çözünmemiş oksijen ve güçlü anti-bakteriyel aktivite gibi kendine özgü özelliklere sahiptir. Antibakteriyel etkisinin, asidik elektrolize sudaki, hipoklorid asit (HOCl) ve rezidual klor içeriği nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Tosa ve ark., 2000).

Koseki ve Itoh, (2000); elektrolize suyun dayanıklılığı ile ilgili çalışmalar yapılmışlardır. Asidik elektrolize suyun, kapalı ve karanlık koşullar altında, bir yıl boyunca korunabildiği; ayrıca, güneş ışığına üç gün maruz kaldığında pH ' sını bir yıl boyunca koruyabildiği ve etkisini kaybetmediği ortaya konmuştur. Korunma şartlarına (kapalı ve karanlık) bakılmaksızın alkali elektrolize suyun niteliğinin kolaylıkla değiştiği rapor edilmiştir.

Elektroliz sırasında su akış hızı (ml/sn) arttırıldığında; elektrolize edilmiş suyun toplam klor konsantrasyonu ve ORP 'si azalmaktadır. Elektrolit içindeki tuz (NaCl) konsantrasyonu arttırıldığında ise, elektrolize edilmiş suyun elektriksel iletkenliği ve toplam klor konsantrasyonu artmaktadır. Su sıcaklığının toplam klor konsantrasyonuna etkisi ise azdır (Hsu, 2005).

1.5. Elektrolize Suyun Kullanım Alanları

Elektroliz; özellikle metalürjide, metallerin hazırlanmasında (çözünmez anot) ya da arıtılmasında (çözünür anot) kullanılır. Elektroliz ayrıca, metal birikimiyle

döküm kalıbına biçim vermede, aşınmaya karşı korumada ve metallerin kaplanmasında (nikel, çinko, kadmiyum, krom, gümüş ve altın kaplama) başvurulan bir yöntemdir. Suyun elektroliziyle, arı hidrojen elde edilebilir. Elektrolizin diğer uygulamaları arasında; gaz üretimi (klor), metal üstünde koruyucu oksitli anot tabakalarının elde edilmesi (alüminyumun, alümin aracılığıyla anotlaştırılması), elektrolizle parlatma, metallerin katot ya da anot olarak yağlardan arındırılması sayılabilir. Elektroliz, akım şiddetlerinin, özellikle de voltmetrelerdeki akım miktarlarının ölçülmesine de olanak verir. Ayrıca, maddelerin saflaştırılmasında ve bileşiklerin elementlerine ayrıştırılmasında da kullanılan kimyasal bir yöntemdir.

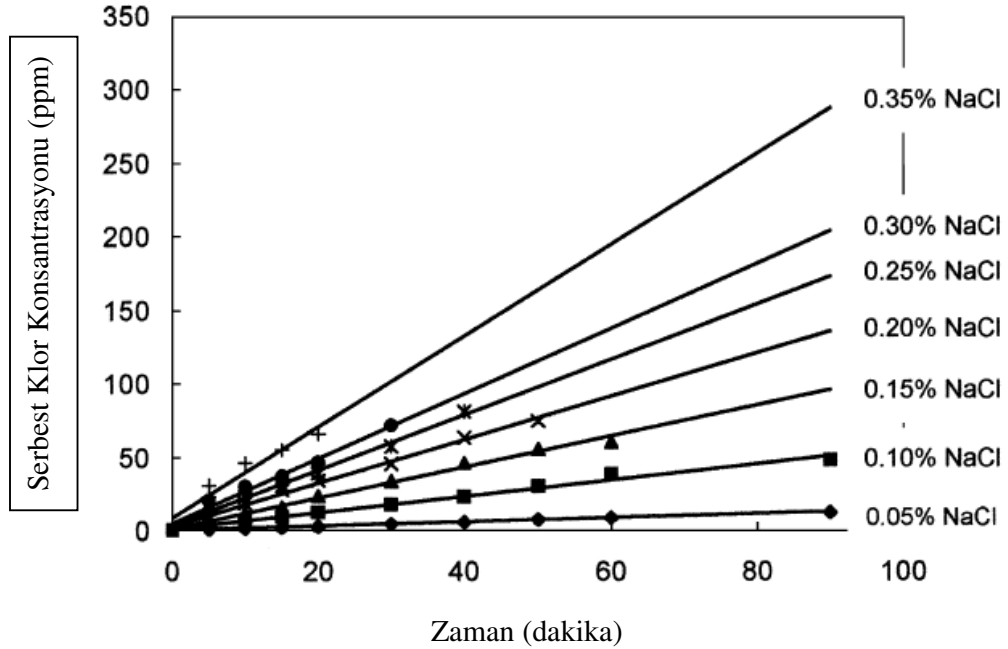
Son zamanlarda elektrolize su; gıda, tarım ve tıp gibi çeşitli alanlarda araştırmacıların ilgisini çekmektedir (Koseki ve Itoh, 2000). Elektrolize su; tıbbi uygulamalarda, enfeksiyonların önlenmesinde (Fabrizio ve ark., 2002), sebze sterilizasyonunda (İzumi, 1999; Park ve ark., 2001), yiyecek üretim sanayinde (Al-Haq ve ark., 2001, 2002; Kim ve ark., 2003), mutfakta kullanılan yiyecek maddeleri ve yiyecek hazırlama aletlerinin dezenfeksiyonunda (Venkitanarayanan ve ark., 1999a, 1999b) kullanılmaktadır.

Elektrolize suyun, bakteri dezenfeksiyonu ve gıda sterilizasyonu gibi kullanım alanları bulunmaktadır. Elektrolize su, Dünya'nın birçok yerinde, insanlar tarafından içme suyu olarak ve gıdaların steril edilmesi işlemlerinde de kullanılmaktadır.

1.6. Elektrolize Su ve NaCl

Saf su iyi bir iletken değildir ve saf suda, elektriği taşıyacak yeteri kadar iyon bulunmaz (25°C ' ta $1 \times 10^{-7} \text{ M H}^{+}$ ve $1 \times 10^{-7} \text{ M OH}^{-}$). Bu nedenle, elektroliz edilecek elektrolitin içine iletkenliği arttırıcı olarak genelde, potasyum hidroksit (KOH) ve sodyum klorür (NaCl) gibi bir madde de eklenebilir. NaCl kristali, sodyum ve klor iyonlarından örülmüş bir ağ şeklindedir. Sodyum iyonları, dış yörüngelerindeki tek elektronlarını bırakarak pozitif yüklü hale gelmiş sodyum atomlarıdır. Klor iyonları ise, birer fazla elektronları olan klor atomlarıdır.

Sodyum klorür (NaCl) çözeltisinin elektrolizi ile, anotta; Cl^- , Cl_2 , HClO olarak serbest klor, O_3^- , O_2 ve H^+ meydana gelir (Tagawa ve ark., 2000). Elektrolizin süresine ve NaCl miktarına bağlı olarak serbest klor konsantrasyonu (ppm) değişmektedir (Şekil 1.3.). Farklı miktarlarda NaCl içeren suyun, elektroliz süresi arttıkça serbest klor konsantrasyonu da artmaktadır.



Şekil 1.3. Çeşitli NaCl Konsantrasyonlarındaki Elektrolize Solusyonlarda Serbest Klor Konsantrasyonunun Zamana Bağlı Değişimi (Kiura ve ark., 2002)

Elektrolize suyun hazırlanmasında NaCl kullanılması, elektrolize suyun dezenfeksiyon etkisini de artırmaktadır. NaCl ilavesi ile hazırlanan elektrolize suda, sodyum hipoklorid (HOCl) oluşmaktadır. Sodyum hipokloridin hemen hemen bütün patojenler üzerinde dezenfektan etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (Ruatala ve Weber, 1997). Dezenfeksiyon için, serbest klor içeren elektrolize edilmiş NaCl solusyonunun da etkili olduğu düşünülmektedir (Kiura ve ark., 2002). Knasmuller ve ark., (1996); içme suyunun klor dezenfeksiyonu ile, *Salmonella typhimurium*'da genotoksisiteye neden olabileceğini rapor etmişlerdir.

Sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisindeki rezidual klorun, organik maddelerle karıştırıldığında azaldığı çok iyi bilinmektedir. Güçlü asidik elektrolize suyun lahana özütündeki organik maddeler üzerine etkisi, güçlü asidik elektrolize su ve NaOCl solusyonu karşılaştırılarak araştırılmıştır (Tosa ve ark., 2000). Sonuçlar, NaOCl solusyonu ve güçlü asidik elektrolize sudaki rezidual klorun % 85'inin nitrojen bileşikleri, % 15'inin ise polifenol ve L-askorbik asit gibi maddeler tarafından tüketildiğini göstermiştir.

Koseki ve Itoh, (2000); dezenfektan etkiyi araştırdıkları çalışmalarında, asidik elektrolize suyun dezenfektan potansiyeline katkıda bulunan ana faktörün, mevcut klorinin oksidasyon gücü olduğu sonucuna varmışlardır. Bakteri popülasyonunu azaltıcı etkiye sahip, farklı seviyelerdeki ACC (askorbik asit, amonyum demir II sülfat, demir II klorür karışımı) ile, birkaç asidik elektrolize su çözeltisi hazırlanmıştır. Düşük ACC (0,4 ppm) ile yüksek ACC (40 ppm)' li asidik elektrolize su arasında, dezenfektan etkisi açısından fark bulunmamıştır. Hidroklorik asite benzeyen bir çözelti olan, 0 ppm' deki ACC' li asidik elektrolize suda da, benzer etki görülmüştür. pH 2,4'e ayarlanan musluk suyu ile asidik elektrolize suyun aynı dezenfektan etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Bunun yanısıra, 20 ppm' den daha az ACC'li asidik elektrolize suyun dezenfekte edici potansiyelinin yeterli olmadığı tespit edilmiştir. Yüksek derecedeki ORP' nin (1000 mV üstü), dezenfekte edici potansiyele katkıda bulunmadığı, bu yüzden, yeterli dezenfektan etkisinin olabilmesi için asidik elektrolize sudaki en düşük ACC limitinin 20 ppm olması gerektiği anlaşılmıştır.

1.7. Elektrolize Sudaki Serbest Radikaller ve Elektrolize Suyun Antioksidan Etkisi

Suyun hidroliziyle ya da parçalanmasıyla hidrojen, hidroksil ve oksijen radikalleri oluşabilir. Oksidasyona neden olan serbest radikaller, temel olarak oksijen kaynaklı metabolitler, hipoklorik asit, kloraminler, azot dioksit, ozon ve lipid peroksitlerdir. Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde görev alırlar. Ancak, eğer zincir

reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse, hücrede hasarlara neden olurlar. Serbest radikaller, çift halde bulunan elektronları birbirinden ayırarak ilgili elektronun görev aldığı reaksiyonu durdurur. Serbest radikal, kendisine bir çift elektron alarak elektron çifti haline geçerse, diğer elektron serbest radikal haline gelir.

Tagawa ve ark., (2000); elektroliz işleminden geçirilen suda, Cl_2 , $HClO$, H^+ , Cl^- , O_2 ve O_3 gibi serbest radikallerin oluştuğunu rapor etmiştir. Serbest radikaller; hücre zarı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, zar lipid ve proteinlerini yok ederek hücre zarını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek, çekirdek membranını parçalayarak çekirdekdeki genetik materyale etki edip DNA' yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek gibi ciddi hasarlara neden olabilir (Hartmann, 1999). Tipik bir sıçan hücre DNA'sı, her gün 100.000 reaktif oksijene maruz kalabilmektedir (Sohal ve Weindruch, 1996).

Alkali elektrolize suyun, serbest radikallere karşı, süperoksit dismutaz, vitaminler, ve katalaz gibi antioksidan etkisi olduğu rapor edilmiştir (Hanaoka, 2001). Bir hidroksil radikali olan H_2O_2 ile, alkali elektrolize su yapısındaki H_2 reaksiyona girerek su oluşturur. Antioksidanlar, serbest radikaller için elektron hedefi oluştururlar. Bağlanan iki serbest radikali birleştirerek, nötralize edebilme özelliğine sahip bir enzime (glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) taşınana kadar radikallere durağan bir yapı kazandırır.

1.8. pH ve DNA (Deoksiribonükleik asit)

DNA ana omurgasında bulunan fosfat gruplarının pH değeri 4 olup, bu değer üstündeki herhangi bir pH' da, tamamen iyonize olmaktadır. Bu nedenle, DNA asidik özelliğe sahip bir moleküldür.

Fizyolojik ortamda, çift sarmallı heliks yapısındaki DNA moleküllerinde fosfat grupları, molekülün dışa dönük kısmında ve hücre içinde su moleküllerine bakar vaziyette bulunmaktadır. DNA heliksinin dış yüzünde yer alan bu iyonize fosfat

grupları, iki değerlikli kationlar olan Mg^{2+} , Ca^{2+} ve polikatyonik aminler olan spermin ile spermidine kuvvetli bir şekilde bağlanmaktadır. Çift sarmallı heliks yapısındaki DNA' nın oluklarına poliaminlerin bağlanması, hem DNA molekülünü daha kararlı hale getirir, hem de DNA molekülünün daha esnek olmasını sağlar.

İki polinükleotid zincirindeki nükleotidler, birbirlerine hidrojen bağları ile bağlanmıştır. Bu bağlar fosfat bağları kadar kuvvetli olmadığı için, pH değişikliği, sıcaklık ve basınç gibi faktörlerin etkisiyle kolaylıkla birbirlerinden ayrılabilir. Çift sarmallı DNA molekülünde yapıyı bir arada tutan hidrojen bağları, pH 4.0 ile 11.0 arasında oldukça karardır. Bu pH sınırları aşıldığı zaman, çift sarmallı heliks yapısındaki DNA molekülü daha kararsız hale gelmekte, çift sarmal yapısındaki baz çiftleri arasında bulunan hidrojen bağları kopmakta ve çift sarmal açılmaktadır. Polinükleotidler arasındaki fosfodiester bağları kopmadan, bazlar arasındaki hidrojen bağlarının kırılması ve iki sarmalın birbirinden ayrılması olayına DNA' nın denatürasyonu denmektedir. Oda sıcaklığında, yani 20-25 °C' ta ve pH 7.0 civarında, DNA çözeltisi oldukça viskoz bir yapı gösterir. Eğer böyle bir DNA molekülü, 80-90 °C' a kadar ısıtılacak olursa veya düşük ve yüksek pH derecelerine tabi tutulacak olursa, DNA denatürasyonu gerçekleşir.

1.9. Genotoksisite

Tüm canlıları olumsuz yönde etkileyen çevresel tehlikeler, her geçen gün artmaktadır. Bu tehlikelerin en önemlisi modern yaşamın vazgeçilmezi olan kimyasal maddelerdir. Bu yüzden; doğal dengeyi bozan, çevreyi kirleten ve canlıları çeşitli şekillerde etkileyen bu kimyasal maddelerin canlılar üzerindeki etkisi, günümüz araştırmacılarının ilgisini çekmektedir.

Tıpta teşhis ve tedavi amacı ile kullanılan bileşikler, gıda katkı maddeleri, tarım ilaçları, kimya endüstrisinde kullanılan pek çok bileşik, ara ürünler, metaller, petrol ürünleri, hava , su ve toprak kirleticileri ile hayvan ve bitki toksinlerini içeren geniş bir yelpazede yer alan bileşiklerin, canlı organizma üzerindeki toksik (zehir) etkileri ve mekanizmaları ile uğraşan bilime toksikoloji denir. Toksikolojinin, kimyasal ve

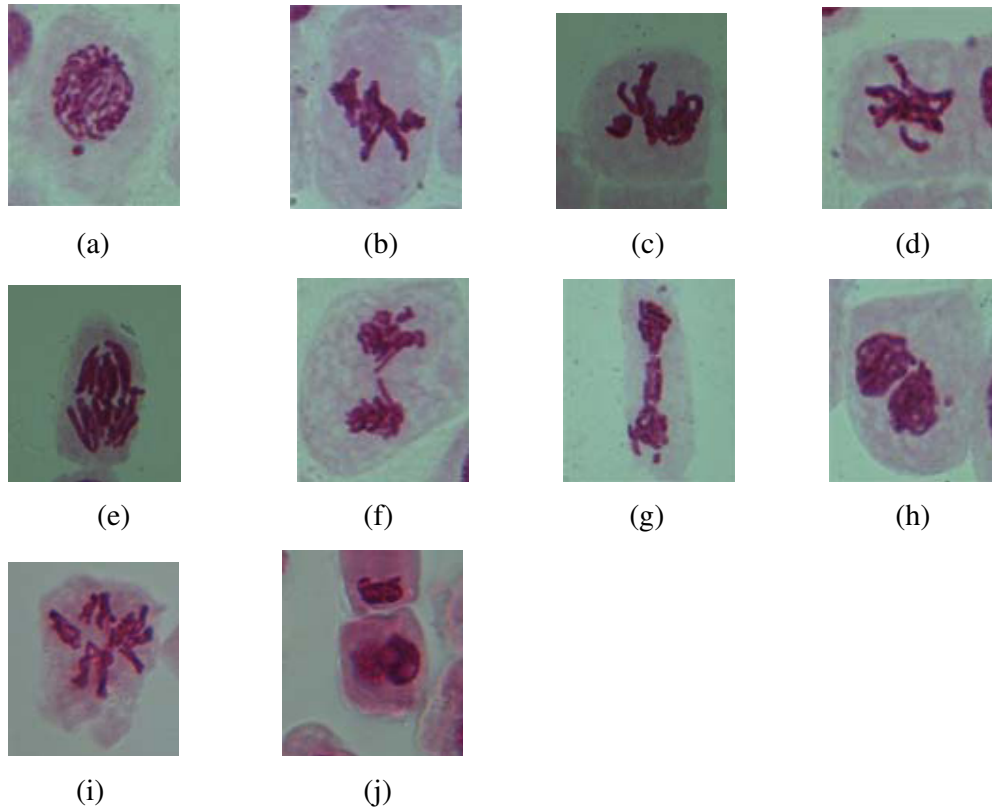
fiziksel ajanların genetik materyal üzerindeki etkisini inceleyen alt dalına da genotoksikoloji adı verilmektedir. Kalıtsal materyal üzerinde toksik etkisi olan ajanlara ise genotoksik ajan denilmektedir. Yapılan çalışmalar, kimyasal maddelerin çoğunun karsinojenik ya da mutajenik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Kimyasal maddelerin mitoz bölünme oranı üzerine etkileri, mitotik indeks hakkında bilgi vermektedir. Bu etki, sitotoksitenin göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Kromozom ve mitoz anormallikleri ise, genotoksitenin göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Organizmaların genetik yapıları hassas bir dengeye sahiptir. Genomdaki genetik bilginin içeriğinde ya da konumundaki ufak bir değişiklik bile, fenotipik çeşitliliğe yol açabilir. Mutasyonlar, kromozom yapısı – sayısı ve genlerdeki değişimleri kapsar. Sayısal ve yapısal olmak üzere, kromozom mutasyonları iki biçimde kendini gösterir.

1.10. Kromozomal ve Mitotik Anormallikler

Mitoz bölünme; canlılarda hücre yenilenmesi, gelişme, büyüme ve üreme amacıyla gerçekleşir. Temel olarak dört aşaması vardır: Profaz, metafaz, anafaz ve telofaz. Bütün canlılarda; bazı özel farklar dışında, bu aşamalar benzerdir. Ancak, bazı faktörlerin etkisiyle farklı durumlar ortaya çıkabilir. Normalin dışındaki bu tip farklılıklara, mitoz anormallikleri denir. Bu anormallik tipleri Şekil 1.4.'de sunulmaktadır.



Şekil 1.4. Mitoz Anormallikleri (a) Profazda mikronükleus; (b) Metafazda yapışmış kromozomlar; (c) Metafazda ekvator çizgisinde iki gruba ayrılmış kromozomlar; (d) Metafaz plağında toplanamayan kromozomlar; (e) Anafazda geri kalmış kromozom; (f) Telofazda dağılmış kromozomlar; (g) Telofazda iki kromozom köprüsü ve fragment; (h) Telofazda mikronükleus; (i) Metafazda kromozom ayrılımları; (j) Sitoplazmada fazla sayıda çekirdek (Qian ve ark., 2005).

Genotoksisite çalışmalarında, Mikronükleus (MN) testleri sıklıkla kullanılan testler arasındadır (Grant, 1978). Fiziksel ve kimyasal mutajelerin etkisi ile, hasar gören ve bölünme sonrasında yeni oluşan çekirdeklere dahil olamayan kromozom ve kromozom parçalarının sitoplazmada yoğunlaşarak oluşturdukları yapıya, mikronükleus denir. Çift çekirdekli hücrelerde hücre başına düşen mikronükleus sıklığı, normal hücrelere göre iki kat fazladır (Fenech, 1993). Çift çekirdekli hücreler, hücre bölünmesi sırasında hücre plağı inhibisyonunun bir sonucu olarak meydana gelir (Grant, 1978).

Mitoz sırasında kopan iğ iplikleri kromozomların dağılmasına, metafaz plağında toplanamamalarına ve oldukları yerde kalmalarına neden olur. Böyle bir hücre bir sonraki hücre bölünmesinde poliploidi (c-mitoz) durumu sergileyebilmektedir.

En sık rastlanan anormal hücre bölünmesi biçimi, kromozom köprülerinin anafaz ve telofazda meydana gelmesidir. Asentrik (sentromeri olmayan) fragment ve disentrik (iki sentromerli) kromozomlar, kromozomal köprülerin oluşmasıyla meydana gelir. Diğer bir deyimle; mitotik anormallikler, kromozomal anormalliklere zemin hazırlayabilirler.

1.11. Genotoksisite Çalışmalarında Bitkilerin Kullanılması

Fiziksel ve kimyasal mutajenlerin etkisi ile ökaryotlarda meydana gelebilecek gen ve kromozom hasarlarının analizi için monitör sistem olarak *Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Lycopersicon*, *Arabidopsis thaliana*, *Glycine max*, *Vicia faba*, *Tradescantia*, *Allium cepa*, *Crepis capillaris*, *Lilium*, *Pisum sativum* ve *Nicotiana tabacum* gibi bitkilerin kullanılabilceği, Nilan ve Vig, (1976); Grant, (1978, 1999, 2001 ve 2002) tarafından önerilmiştir. Kihlman, (1975) ile Nilan ve Vig, (1976); bitkilerin genotoksisite deneylerinde kullanılmasının avantajlarını; hayvanlarınkine benzer kromozom organizasyonlarının olması, çoğu bitkinin kolay büyümesi, üreme sürelerinin kısa olması, düşük maliyet ve küçük alanlarda yaşatılabilmeleri, doğal ortamlarında farklı çevresel koşullar (pH ve sıcaklık) altında yetiştirilebilir olmaları şeklinde özetlemişlerdir.

1.12. Çalışmanın Önemi ve Amacı

Elektrolize suyun, gıda, tıp ve sterilizasyon kullanım alanlarının dışında halk arasında da kullanıldığı bilinmektedir. Japonya, Amerika ve Rusya gibi ülkelerde

evlerde, ev tipi elektrolize su aletleri vasıtasıyla elektrolize sular üretilip kullanılmaktadır.

Asidik elektrolize su (pH:4-6); yıpranmış kuru cildin eski nemli haline getirilmesi, saç dibinde oluşan kepeğin önlenmesi, yaraların temizlenmesi, akne ve ekzamaların iyileştirilmesi, böcek ısırıklarında acının hafifletilmesi, hemoroidlerin tedavisi, ayakta oluşan mantarların iyileştirilmesi, sivilcelerin giderilmesi, mide spazmı ve ülser gibi mide rahatsızlıklarının tedavisi, gıdaların bakterilerden arındırılması ve soğutucu olmadan daha uzun süre muhafaza edilmesi, mutfak gereçlerinin temizlenmesi ile cilt yanıklarının iyileştirilmesi gibi alanlarda kullanılmaktadır.

Alkali elektrolize su ise (pH:7-9,5); yemeklerin kısa sürede pişirilmesi, çay ve kahvenin suya daha hızlı bir şekilde renk vermesi, alkolün etkisinin vücuttan daha kısa sürede atılması, pirinç pilavının daha lezzetli olması, alınan gıdaların vücut tarafından daha kolay emilmesi, balık gibi kokulu gıdaların kokularının uzaklaştırılması, et ve sert sebzelerin pişirilmesi ile evcil hayvanlardaki parazitlerin uzaklaştırılması gibi amaçlarla kullanılmaktadır.

Yukarıda anlatılan elektrolize su kullanım biçimleri, içme ve yiyecek pişirme suyu olarak yararlanma ya da cilde sürmek suretiyle olmaktadır. Bu kullanım biçimlerine rağmen, elektrolize su üzerine şu ana kadar yapılmış herhangi bir genotoksisite güvenlik araştırması mevcut değildir. Bu çalışma bu bağlamda ilk olduğundan ilgili literatüre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

2.KONU İLE İLGİLİ YAYIN VE ÇALIŞMALAR

2.1. Bakteri Dezenfeksiyonunda Elektrolize Suyun Kullanımı

Hipoklorid asitin (HOCl), bakteriler üzerindeki öldürücü etkisi iyi bilinmektedir. Elektrolize suyun da, yapısında bulunan serbest klordan dolayı birçok patojenik bakteri üzerinde güçlü etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Shimizu ve Hurusawa, 1992; Iwasawa ve Nakamura, 1993; Hayashibara ve ark., 1994; Venkitanarayanan ve ark., 1999a; Oomori ve ark., 2000; Kim ve ark., 2000 ve 2001; Koseki ve Itoh, 2001; Buck ve ark., 2002; Park ve ark., 2002; Ryoo ve ark., 2002; Bonde ve ark., 2003; Deza ve ark., 2003; Stan ve Daeschel, 2003; Koseki ve ark., 2003, 2004; Liao ve ark., 2006).

Venkitanarayanan ve ark., (1999b) tarafından yapılan deneylerde; *Escherichia coli* O157:H7'nin 5 soyunu içeren 1 ml kültürleri, mutfakta kullanılan kesme tahtaları üzerine uygulanarak 1 saat kuru havada bekletilmiştir. Daha sonra; kesme tahtaları 2 litre elektrolize edilmiş oksidize suda; 23 ya da 35 °C' ta 10 ya da 20 dakika, 45 °C' ta 5 ya da 10 dakika ve 55 °C' ta 5 dakika tutulmuştur. Sonra her bir sıcaklık – zaman kombinasyonunda, kesme tahtaları üzerindeki patojen bakteri popülasyonu belirlenmiştir. Patojen bakteri sayısının, 5.0 log CFU/100 cm² (colony forming unit:koloni oluşturan ünite)' den 1.0 - 1.5 log CFU/100 cm²' ye kadar azaldığı tespit edilmiştir.

Elektrolize suyun, farklı yüzeylerdeki (cam, paslanmaz çelik, cilalanmış ve cilalanmamış seramik çini, çin vitrayları gibi) *E. aerogenes* ve *S. aureus* bakterilerinin popülasyonunu azalttığı görülmüştür (Park ve ark., 2002).

Bonde ve ark., (2003) tarafından yapılan bir çalışmada; buğday tohumlarındaki, *T. indica* teliosporları asidik elektrolize su ile 30 dakika muamele edilmiştir. Deney sonuçları ile, aynı tohum ve bakterilerin, bakteri ve mantar yok etmede kullanılan % 0,4'lük sodyum hipoklorit (NaOCl) ile 2 dakika muamelesi karşılaştırılmıştır.

Kullanılan asidik elektrolize suyun pH' sı 2.5-2.8 ve oksidasyon redüksiyon potansiyeli de, yaklaşık 1,130 mV' dur. NaOCl ve asidik elektrolize suyun, toprak ekstraktındaki bakteri ve mantarların eliminasyonunda güçlü etkiye sahip olduğu görülmüştür. Asidik elektrolize suyun topraktaki *T. indica* teliosporlarının eliminasyonuna etkisi, % 100' e yakın çıkmıştır. Asidik elektrolize sudaki serbest klor seviyesinin çok yüksek oluşu, klorun bu etkide önemli rol oynadığı şeklinde yorumlanmıştır. Bonde ve ark., (2003); asidik elektrolize suda pH' nın düşük olmasının da mikroorganizmaların azalmasında önemli katkıda bulunduğu sonucuna varmışlardır.

2.2. Gıda Sterilizasyonunda Elektrolize Su

Gıda güvenliği gittikçe önem kazanan bir konu olduğundan, toplum bilinci de giderek artmaktadır. Konulan tüm çabalar, meydana gelen tüketici kaygıları ve artan gıda güvenliği problemlerinin bir sunucudur. Elektrolize su da son zamanlarda bu alanda kullanılmaya başlanmıştır. Hem protein, hem de sebze, meyve temelli gıdalar üzerine yapılmış muhtelif çalışmalar mevcuttur.

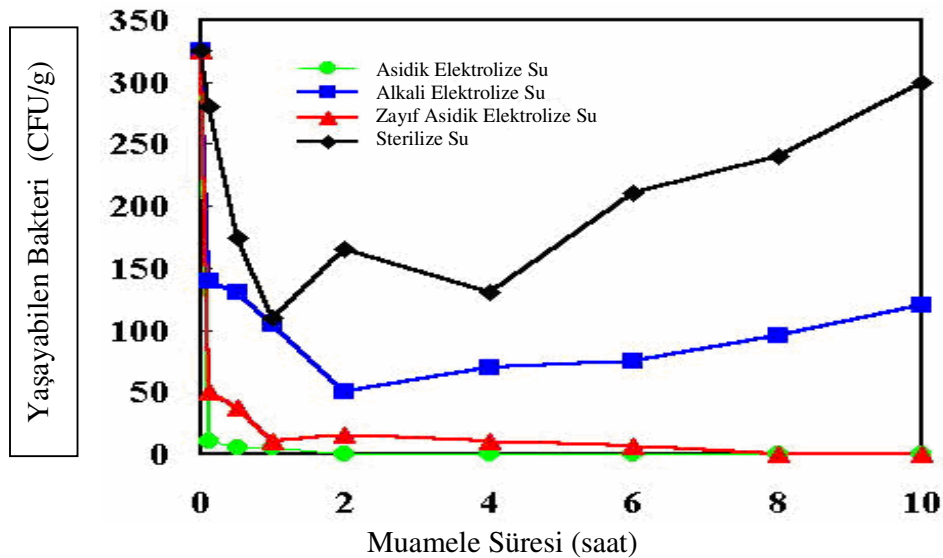
Elektrolize edilmiş nötral suyun, taze besin yüzeylerinin (domates), *Escherichia coli* O157 :H7, *Salmonella enteritidis* ve *Listeria monocytogenes*' den dekontaminasyonunda etkili olduğu, Deza ve ark., (2003) tarafından ortaya konmuştur.

Nakliye ve depolama süresince, donmuş asidik elektrolize suyun kıvırcık marullardaki bakteriler üzerine etkisi Koseki ve ark., (2002) tarafından araştırılmıştır. Bu su ile paketlenmiş kıvırcık salatalarda, aerobik bakteri popülasyonunun azaldığı görülmüştür. Aynı zamanda, asidik elektrolize su ve alkali elektrolize suyun donmuş bir karışımının tarladaki kıvırcık marul üzerinde bulunan mikroorganizma popülasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Koseki ve ark., (2002)' nin yaptığı deneylerde donmuş asidik elektrolize sudan klor gazı üretilmesine karşın; asidik elektrolize su ve alkali elektrolize suyun karışımından klor üretilmemiştir. Bu

sonuçlar, donmuş asidik elektrolize suyun dekontaminan etkisindeki ana faktörün klor gazı olduğunu göstermiştir.

Asidik elektrolize su ile yıkanan, kesilmiş taze lahana ve maruldaki aerobik bakteri, koliform bakteri, *Bacillus cereus* ve psychrotrophic bakteri popülasyonunun çoğalmasının bu suyun etkisi ile durduğu gözlenmiştir (Koseki ve ark., 2001). Yine aynı suyun, marul üzerindeki patojenlere (*E. coli* ve *Salmonella*) karşı öldürücü etkisi olduğu Koseki ve ark., (2003) tarafından yapılan bir başka çalışmada gösterilmiştir. Yang ve ark., (2003) tarafından yapılan çalışmada da; kesilmiş taze marullardaki patojen bakterilerin (*S. typhimurium*, *E. coli* 0157:H7 ve *L. monocytogenes*), marulların elektrolize suya (pH 4-9, 30 °C, 5 dakika) daldırılması sureti ile inaktive edildiği rapor edilmiştir.

Elektrolize suyun üç farklı çeşidinin, soya fasulyesi üzerindeki yerleşik bakterilere etkisi araştırılmıştır (Tatsumi, 2002). Zayıflatılmış asidik elektrolize su (pH 6.5, 891 mV ORP, ve 50 ppm klor), asidik elektrolize su (pH 2.1, 1185 mV ORP ve 100 ppm klor) ve alkali elektrolize su (pH 11.7, -120 mV ORP) ile yapılan çalışmalarda su örneklerinin hepsinin, otuz dakikada bile etkili olduğu görülmüştür (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Elektrolize Su İçindeki Soya'da Yaşayabilen Bakteri Popülasyonu Değişimi (Tatsumi, 2002).

Park ve ark., (2002) tarafından, tavukların vücut yüzeyindeki *Campylobacter jejuni* türünün sterilizasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, iyonize suyun sterilizasyon etkisinin, iyonize olmayan suya göre üç kat fazla olduğu bildirilmiştir.

2.3. Bitki Yetiştiriciliği ve Elektrolize Su

Sera bitkilerinin çiçekleri ve ağaç yaprakları üzerindeki fitotoksik semptomlarda elektrolize suyun etkisinin olup olmadığı test edilmiştir (Buck ve ark., 2003). Elektrolize edilmiş asidik okside suyun, bazı türlerin (*Pelargonium x hortorum*, *Impatiens walleriana*, *Catharanthus roseus*) çiçekleri üzerinde küçük beyaz noktalar şeklinde hasarlara yol açtığı ve *Petunia x hybrida* ve *Antirrhinum majus* gibi türlerin bazı yapraklarının kenarlarında önemsiz nekrozlara sebep olduğu, ancak genel olarak yabancı türler üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.

Asidik elektrolize su ile muamele edilmiş sebzelerin niteliği üzerine çalışmalar da yapılmıştır (Koseki ve ark., 2001). Askorbik asit hacmi, beta-karoten hacmi ve toplam klorofil hacmi ile, bitkinin renk tonuna etkileri araştırılmıştır. Asidik elektrolize su ile 10 dakika ıslatılmış, kesilmiş ya da kesilmemiş sebzelerin görünüşlerinde bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Toplam klorofil hacminin, 10 dakika asidik elektrolize su ile muamele edilmiş kesik lahana ve marulda % 10-20, beta-karoten hacminin ise % 30 azaldığı görülmüştür. Askorbik asit oranı ise; kesilmiş lahana, marul ve salatalıkta sırası ile % 20, % 15 ve % 35 azalmıştır. Ancak, bu azalmaların reaksiyon mekanizması açık değildir. Sonuç olarak, asidik elektrolize su ile muamele edilen kesilmiş sebzelerde nitelik kaybı olduğu görülmüştür.

2.4. Tıp ve Elektrolize Su

Yüksek derecede serbest klor içeren elektrolize edilmiş NaCl çözeltisi, klinik uygulamalar açısından incelenmiştir (Kiura ve ark., 2002). Güçlü asidik elektrolize suyun *Bacillus cereus* (Iwasawa ve ark., 1993) ve *Mycobacterium tuberculosis*

(Iwasawa ve Nakamura, 1993) gibi birçok insan patojeni üzerindeki etkisinin güçlü olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte, tıbbi malzemelerde aşındırıcı aktivitesi de tespit edilmiştir. Daniel ve ark., (1993); Knasmuller ve ark., (1996), yüksek konsantrasyonda klor içeren içme suyunun sitotoksosite ve genotoksositeye neden olabileceğini rapor etmişlerdir. Son zamanlarda, bu toksik etkiyi azaltmak için NaCl konsantrasyonu düşük, güçlü asidik elektrolize su hazırlanmış ve patojenik virüs soylarına karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Abe ve ark., 1994; Morita ve ark., 2000; Tagawa ve ark., 2000).

Asidik elektrolize suyun, sıçanlarda ciddi deri yaralarının iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (Yahagi ve ark., 2000). Elektroliz ile de üretilen ve antibakteriyel etkisi olduğu bilinen HOCl (hipoklorid asit)' in yaraların iyileşmesinde etkisiz olduğu ortaya çıkmıştır. Yahagi ve ark., (2000); asidik elektrolize suyun yaraların iyileşmesindeki hızlandırıcı etkisinin, HOCl'nin mekanizması dışındaki bir mekanizma ile gerçekleşebileceğini düşünmüşlerdir.

2.5. Enzim Aktivasyonunda Elektrolize Su

NaCl (100 mg/l) ile hazırlanan elektrolize su örneklerinde besinlerle ilgili hidroliz enzimlerinin (α – amilaz ve lipaz) aktiviteleri test edilmiştir. α – Amilaz aktivitesinin alkali elektrolize suda (pH:11) % 20 arttığı belirlenmiştir (Hara ve ark., 2003).

Musluk suyundan elde edilmiş elektrolize suyun, soya fasulyesi' ndeki proteinlerin *Aspergillus oryzae*'den elde edilen proteazlar tarafından hidrolizi sonucunda oluşan fonksiyonel bir peptitin üretimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır (Hara ve ark., 2003). Soya fasulyesi özütü (1 g), 2 mg proteaz ile karıştırıldıktan sonra, üç farklı su örneğine (10 ml) ilave edilerek, 40 °C' ta inkübasyona bırakılmıştır. Bu su örnekleri; musluk suyundan klorinin ayrılması ile elde edilen nötral su, nötral sudan elde edilen asidik elektrolize su ve alkali elektrolize sulardır. Moleküler ağırlığı düşük olan peptitler; bu üç su örneğinde de bulunmakla birlikte, en bol miktarda peptiti alkali elektrolize su örneği içermektedir. Nötral su örneğinde

meydana gelen peptit miktarına kıyasla; asidik elektrolize suda 1.8, alkali elektrolize suda ise 1.3 kat daha fazla peptit oluşmuştur. Sonuçlar, yüksek oksidasyon direnci olan peptit üretimi için, alkali elektrolize su örneğinin uygun olduğunu göstermiştir. Alkali ve nötral proteaz aktivitesi, alkali elektrolize su örneklerinde yükselmiştir.

2.6. Gıda Pişirmede Elektrolize Su

Tofu (soya peyniri) yapımında kaliteyi arttırmak açısından, elektrolize suyun her iki çeşidinin de etkili olduğu gösterilmiştir (Hara ve ark., 2003).

Kötü kalitedeki pirinç tanelerinden iyi kalitede pilav pişirmek için; musluk suyunun elektrolizi ile elde edilen suyun bir çeşidi olan zayıflatılmış alkali elektrolize su test edilmiştir (Onishi ve ark., 2001). Pirinçlerin bekletileceği suya; polioksietilen, polioksipropilen, gliserineter ve monogliserit gibi bir sürfaktan veya trihaloz gibi bir karbohidrat ilavesi ile pirinçte bozulmanın yavaşladığı görülmüştür. Pişirilen pirinç tanelerindeki nitelik parametreleri gözetilerek, zayıflatılmış alkali elektrolize su ile pişirilen pirinç tanelerinin, elektrolize edilmemiş musluk suyu ile pişirilen pirinç tanelerine göre, önemli ölçüde daha yumuşak olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, zayıflatılmış alkali elektrolize su ile pişirilmiş pilavdaki bozulmanın geciktiği gösterilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Elektrolize Su Örnekleri

Bu çalışmada; Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Çevre Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında hazırlanan, farklı pH'lardaki elektrolize sular ve saf su (Tablo 3.1.) kullanıldı.

Tablo 3.1. Çimlendirmeler İçin Kullanılan Elektrolize Su ve Kontrol Gruplarının pH Değerleri

Elektrolizde Kullanılan Elektrolit	Elektrolize Su Örnekleri	pH
Musluk Suyu + NaCl	Asidik Elektrolize Su	1.0-2.0
Musluk Suyu + NaCl	Asidik Elektrolize Su	2.0-3.0
Musluk Suyu	Asidik Elektrolize Su	4.0-5.0
Musluk Suyu	Alkali Elektrolize Su	9.0-10.0
Musluk Suyu + NaCl	Alkali Elektrolize Su	11.0-12.0
	Saf Su (kontrol grubu)	6.0-7.0

3.1.2. Bakla (*Vicia faba L.*)

Bu çalışmada; bitki model organizması olarak Çayırova Tohum Sertifikasyon Test Müdürlüğünden temin edilen *Vicia faba L.* (bakla) bitkisine ait tohumlar (Seville cinsi) kullanıldı. Bakla, taksonomik olarak yaklaşık 12000 tür içeren

Leguminosae familyasına ait, $2n=2x=12$ kromozoma sahip bir bitkidir. Baklada; Seville J., Eresen – 87, Filiz 99, ve Kıtık 2003 gibi tescil edilmiş cinsler mevcuttur.

Tarımı yapılan baklanın; iri taneli, küçük taneli ve yemlik baklası olmak üzere 3 alt grubu vardır. Ülkemizde genellikle iri taneli bakla yetiştirilmekle birlikte, küçük taneli bakla da yetiştirilmektedir. Yemlik baklasının üretimi ise çok azdır.

Organik madde açısından zengin bir bitki olan bakla, % 20-25 oranındaki protein içeriğiyle değerli bir protein kaynağıdır. Ülkemizde yemeklik baklagiller içinde mercimek, nohut ve kurufasulyeden sonra, dördüncü sırada yer alır. Akdeniz'den Karadeniz'e kadar bütün sahil kesimlerinde yetişmekle beraber, üretimin % 80'i Ege ve Güney Marmara'da yoğunlaşır. Kuru bakla üretiminin % 31'i ise, ihraç edilir.

Bakla için en uygun sıcaklık, yetiştirme döneminde $18 - 27$ °C; çimlenme döneminde ise, 25 °C' tır. Karla örtülmemek koşuluyla, -5 °C soğuğa kadar dayanan bir bitkidir. Ancak 3 °C' ın altında kök gelişimi ve çimlenme yavaşlar. Fazla yağışlı geçen yetişme dönemleri hastalık ve zararlıların artması nedeni ile gelişimi olumsuz etkilemektedir. Sıcaklığa toleransı, kolay yetiştirilmesi, tohumlarının ve kromozomlarının iri olması gibi nedenlerle, genotoksisite çalışmalarında *Vicia faba* (bakla) bitkisi sıklıkla kullanılmaktadır (Kanaya ve ark., 1994; Jain ve ark., 2004).

3.2. Metot

3.2.1. Elektrolize Suyun Hazırlanması

Elektrolize suların hazırlanmasında iki farklı elektrolit kullanıldı. Bu elektrolitlerden birisi, içinde çözülmüş NaCl (250 ppm) bulunan musluk suyu, diğeri ise sadece musluk suyudur. Elektrolit içinde çözünen madde miktarı ile elektroliz süresi ters orantılıdır. Ayrıca, NaCl, elektrolizin daha etkin gerçekleşmesini, güçlü asidik ve alkali elektrolize su oluşmasını sağlamaktadır. Elektrolizin süresine bağlı olarak bu iki elektrolitten farklı pH' lardaki elektrolize sular oluşturuldu. Elektrolizin

süresi arttıkça, elektrolit içindeki hidrojen (H^+) ve hidroksil (OH^-) iyonlarının konsantrasyonları da artmaktadır. Diğer bir deyişle, oluşan elektrolize su örneklerinin asitlik ve alkalilik dereceleri yükselmektedir.

Elektroliz; iyon değişim diyaframı ile birbirinden ayrılan ve içlerinde elektrolit bulunan iki kaba, iki elektrot (+ ve - elektrot) daldırılarak, doğru akım güç kaynağından elektrik akımı verilmesi ile gerçekleştirildi. Elektrolit içindeki çözülmüş madde miktarı arttıkça, geçen akım miktarı da artmakta ve istenilen pH' daki elektrolize su örnekleri daha kısa sürede hazırlanmaktadır. Bu yüzden, elektrolizin daha etkin bir şekilde gerçekleşmesi için NaCl kullanıldı. Sonuç olarak; kapların birinde asidik elektrolize su, diğerinde ise alkali elektrolize su oluştu.

3.2.2. Tohumların Farklı pH'daki Elektrolize Sularla Petri Kaplarında Çimlendirilmesi

Elektrolize suyun, *Vicia faba* (bakla) tohumlarının çimlenmesi üzerine sitotoksik ve genotoksik etkisini analiz etmek amacıyla petri kaplarında çimlendirmeler yapıldı. Bakla tohumları; saf su (kontrol) ve değişik pH'lardaki (1.0-2.0, 2.0-3.0, 4.0-5.0, 9.0-10.0 ve 11.0-12.0) elektrolize sularda, eşit şartlar altında üç gün çimlenmeye bırakıldı. Her bir petri kabına Sang ve Li, (2004)' de belirtildiği gibi 30 tohum koyuldu. Çimlenen tohumlar; 24., 48. ve 72. saatlerde sayılarak çimlenme oranları hesaplandı.

3.2.3. Tohumların Farklı pH'daki Elektrolize Sularla Toprakta Çimlendirilmesi

Petri kaplarında yapılan incelemelerin desteklenmesi ve elektrolize suyun, toprak ortamında (doğal ortam) bakla bitkisini ne şekilde etkilediğinin kontrolü amacıyla beş ayrı saksıya beş'er tane tohum ekildi. Her bir elektrolize su örneği için ayrı saksı kullanıldı. Saksılara, 2 gün arayla 100 ml elektrolize su verildi. Kontrol

grubu için saf su kullanıldı. Çimlenmenin 14. gününde, saksılardaki fidelerin boyları ölçüldü, standart sapmaları hesaplandı ve fotoğrafları çekildi.

3.2.4. Mitotik Preparatların Hazırlanması

1. Hücre ve kromozomları mevcut durumlarında sabitlemek amacıyla, çimlenme sonrasında kök uçlarının apeks bölümü kesilerek, α - monobromonaftalen' in doymuş çözeltisinde 4 °C' ta 16-17 saat süreyle bekletildi (ön fiksasyon).
2. Kök uçları, Farmer çözeltisinde (1: glasiyel asetik asit, 3: etil alkol) 4 °C' ta muamele edilerek depolandı (fiksasyon).
3. Farmer çözeltisinden alınan kök uçları önce, % 70 alkol, daha sonra da saf su ile yıkandı.
4. Bir sonraki basamak olan boyama işlemini ve hücrelerin parçalanmasını kolaylaştırmak için kök uçları, 1 N HCl' de, 60 °C sıcak su banyosunda 12 dakika bekletildi. Burada amaç, hücre çeperi bileşenlerini yıkmak ve kromozomlardaki DNA' nın aldehit gruplarının serbest hale geçmesini sağlayarak Feulgen boyası ile irtibatını artırmaktır.
5. Hidrolizden sonra kök uçları, Feulgen boyasına koyularak 1 – 2 saat boyanmaya bırakıldı.
6. Boyanan kök uçlarından yaklaşık 1 – 2 mm kesilerek, bir lamın üzerine koyuldu.
7. Lam üzerine, 1 damla LPO (Lactopropioaseto-orcein) boyası damlatılarak, doku pirinç çubuk ile ezildi ve lamel kapatıldı.

8. Lamel üzerine kurutma kağıdı koyularak, fazla boyanın alınması için baş parmak ile kuvvetlice bastırıldı.
9. Son olarak kurutma kağıdı preparatın üzerindeyken, açılmamış bir kurşun kalemin düz tarafıyla, hücreleri iyice yaymak için, dik vuruşlar yapıldı ve kurutma kağıdı kaldırılarak hava almaması için lamelin etrafı tırnak cilası sürülerek kapatıldı.
10. Preparatlar, ışık mikroskopunda (Olympus BX50) incelenerek fotoğrafları çekildi.

3.2.5. Mitotik İndeks

Bölünme aşamasında olan hücre sayısının bölünmeyenlerin sayısına yüzde (%) olarak oranına, mitotik indeks denir. Mitotik indeks hesaplamaları için çimlenme süresinin sonunda (72. saat), kök uçlarından alınan meristematik doku ile her bir elektrolize su örneği (pH: 1.0-2.0, 2.0-3.0, 4.0-5.0, 9.0-10.0 ve 11.0-12.0) için 5 preparat hazırlandı. Her bir preparattan 200 olmak üzere toplam 1000 hücre sayıldı. Sayılan bu 1000 hücre ile mitotik indeks ve anormallik oranları hesaplandı. Elde edilen bulgularla, elektrolize suyun genotoksik açıdan güvenilirliği araştırıldı.

3.2.6. İstatistiksel Verilerin Hesaplanması

Asidik elektrolize su, alkali elektrolize su ve saf suda çimlendirilen tohumlardan gelişen kök uçlarıyla hazırlanan preparatlarda sayılan hücrelerden bölünme aşamasında olanlar belirlendi. Mitotik indeks yüzdeleri hesaplandı ve Student *t* test (<http://home.clara.net/sisa/t-test.htm>) ile istatistiksel değerlendirmeler yapıldı.

Bölünme aşamasındaki hücrelerde anormallik oranları hesaplandı. İnterfaz evresinde anormal çekirdeklere sahip hücrelerin, normal çekirdeklere sahip hücrelere

oranı da hesaplandı. Ki-kare testi ile istatistiksel geçerlilikler belirlendi. İstatistiksel hesaplamalar için SISA (Simple Interactive Statistical Analysis) programı kullanıldı (<http://www.unc.edu/~preacher/chisq/chisq.htm>).

4. BULGULAR

4.1. Elektrolize Suların Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri

Kontrol grubu (saf su) ve elektrolize su örneklerinde çimlenen tohumlarda morfolojik değişime rastlanmadı. Tüm elektrolize su örneklerinde; çimlenme süresi ile (24, 48 ve 72 saat), çimlenme oranı arasında doğru orantılı bir artış tespit edildi (Tablo 4.1.). Güçlü asidik elektrolize su (pH:1.0-2.0) ile yapılan deneylerde 24, 48 ve 72 saat sürelerinin hepsinde çimlenmenin % 0 olduğu görüldü. Bu gözlemin doğruluğunu kontrol etmek amacıyla çimlendirme, farklı zamanlarda, eşit koşullarda beş kez tekrarlandı ve her defasında aynı sonuç gözlemlendi.

Farklı su örneklerinde çimlenmeye bırakılan bakla tohumlarında, 24 saat sonundaki çimlenme oranları, güçlü asidik elektrolize su örneklerinde (pH: 1.0-2.0 ve 2.0-3.0) % 0, diğer örneklerde (pH: 4.0-5.0, 9.0-10.0, 11.0-12.0 ve kontrol grubunda) % 7 olarak hesaplandı.

Çimlendirmenin 48. saatindeki hesaplamalarda en yüksek çimlenme oranının, pH:4.0-5.0' daki % 60 değeri olduğu görüldü. Diğer elektrolize su örneklerindeki çimlenmeler ise sırasıyla; pH:9.0-10.0' da % 47, pH:11.0-12.0' da % 40, pH:2.0-3.0' da, % 17 ve pH: 1.0-2.0' da % 0 olarak bulundu. Kontrol grubunda % 43 oranında bir çimlenme tespit edildi.

pH:1.0-2.0' da, 72 saat sonundaki çimlenme oranı % 0 olarak belirlendi. Diğer elektrolize su örneklerindeki çimlenme oranları ise, pH:2.0-3.0' da % 40, pH:4.0-5.0' da % 90, pH:9.0-10.0' da % 100, pH:11.0-12.0' da % 83 ve kontrol grubunda % 97 olup, pH:2.0-3.0 asidik elektrolize suda çimlenme oranındaki azalma istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı bulundu ($p < 0.00001$). Diğer elektrolize su örneklerinin çimlenme oranları ile kontrol grubu arasındaki fark ise anlamlı bulunmadı ($p > 0.01$).

Tablo 4.1. Farklı Elektrolize Suların Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri

Su Örnekleri	Çimlenmeye bırakılan tohum sayısı	Çimlenme Oranı (%)			p
		24. saat	48. saat	72. saat	
Asidik Elektrolize Su (pH:1.0-2.0)	30	0	0	0	-
Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0)	30	0	17	40	p<0.00001
Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0)	30	7	60	90	p>0.01
Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0)	30	7	47	100	p>0.01
Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0)	30	7	40	83	p>0.01
Saf su (kontrol grubu) (pH:5.0-6.0)	30	7	43	97	

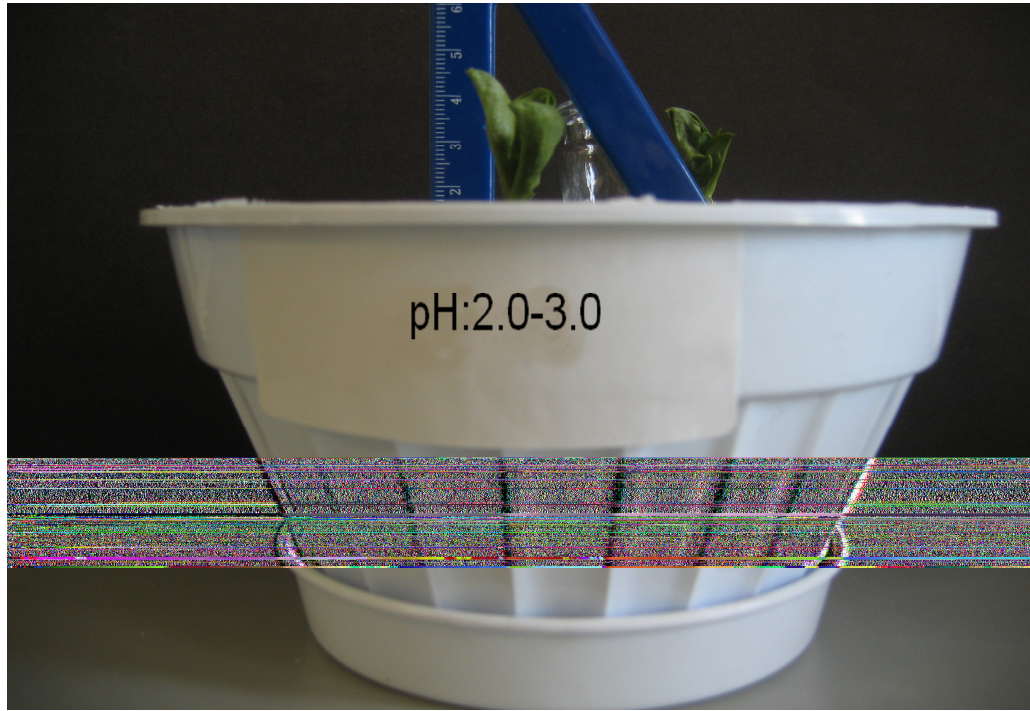
4.2. Elektrolize Suların Bakla Fideleri Gelişimi Üzerine Etkileri

Kontrol grubu ve dört farklı (pH:2.0-3.0, pH:4.0-5.0, pH:9.0-10.0, pH:11.0-12.0) elektrolize su ile toprakta çimlendirilen bakla tohumları, fide haline getirildi (Şekil 4.1., pH:2.0-3.0; Şekil 4.2., pH:4.0-5.0; Şekil 4.3., pH:9.0-10.0; Şekil 4.4., pH:11.0-12.0 ve Şekil 4.5., Kontrol). Bu gruplara ait fide boyu ortalamaları Tablo 4.2.' de sunulmaktadır. Fide boyları ortalaması ve standart sapmalar, asidik

elektrolize su örneklerinde pH:1.0-2.0' da 0, pH:2.0-3.0' da $3,8 \pm 1,92$, pH:4.0-5.0' da $6,2 \pm 3,81$ olarak hesaplandı. Alkali elektrolize su örneklerine ait fide boyları ortalaması, pH:9.0-10.0' da $8,2 \pm 1,64$ ve pH:11.0-12.0' da $6,8 \pm 1,79$ bulundu. Kontrol grubunda ise, bu ortalama $7,0 \pm 1,41$ olarak hesaplandı.

Tablo 4.2. Farklı Elektrolize Sularda Çimlendirilmiş Bakla Fidelerinin Boy Ortalamaları

Su Örnekleri	Saksılara Ekilen Tohum Sayısı	14. Gün Fide Boyları Ortalaması (cm)
Asidik Elektrolize Su (pH:1.0-2.0)	5	0
Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0)	5	$3,8 \pm 1,92$
Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0)	5	$6,2 \pm 3,81$
Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0)	5	$8,2 \pm 1,64$
Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0)	5	$6,8 \pm 1,79$
Saf su (kontrol grubu) (pH:5.0-6.0)	5	$7,0 \pm 1,41$



Şekil 4.1. Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri



Şekil 4.2. Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri



Şekil 4.3. Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri



Şekil 4.4. Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri



Şekil 4.5. Saf Su (Kontrol) (pH:6.0-7.0) İle Sulanan Toprakta Geliştirilmiş Bakla Bitkileri

4.3. Elektrolize Suların Mitotik İndeks Üzerine Etkileri

Kontrol grubu ve elektrolize sularda çimlenen tohumların kök uçlarından hazırlanan preparatlarda, bölünen hücre sayısı, mitotik indeks (%) ve t değerleri hesaplandı (Tablo 4.3.). Güçlü asidik elektrolize suda (pH:1.0-2.0), çimlenme olmadığı için mitotik indeks hesaplanamadı. Diğer gruplar (pH:2.0-3.0, 4.0-5.0, 9.0-10.0, 11.0-12.0) ve kontrol grubu için mitotik indeks hesaplandı. Mitotik indeks; pH:2.0-3.0 asidik elektrolize su grubunda % 3.4, pH:4.0-5.0 asidik elektrolize su grubunda % 10.6, pH:9.0-10.0 alkali elektrolize su grubunda % 22.9 ve pH:11.0-12.0 alkali elektrolize su grubunda %11.9 olarak bulundu. Kontrol grubunda ise bu oran % 14.8 hesaplandı.

Kontrolle kıyasla; pH:2.0-3.0 asidik elektrolize su grubuna ait preparatlarda mitotik indeksdeki azalma ileri derecede ($p<0.0001$) anlamlı, pH:4.0-5.0 ve pH:11.0-12.0 elektrolize su örneklerindeki mitotik indeksdeki azalma ise ($p<0.01$) anlamlı bulundu. Alkali elektrolize sulardan pH:9.0-10.0' un, mitotik indeksi, kontrolle kıyasla ileri derecede ($p<0.0001$) anlamlı olacak şekilde artırdığı belirlendi.

Tablo 4.3. Farklı pH'lardaki Elektrolize Su Örneklerinin Mitotik İndeks ve t Değerleri (Student t test, $t_f : 1,645$)

	Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks %	t	p
Asidik Elektrolize Su (pH:1.0-2.0)	-	-	-	-	-
Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0)	1000	34	3,4	9,042	$p<0.0001$
Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0)	1000	106	10,6	2,826	$p<0.01$
Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0)	1000	229	22,9	-4,656	$p<0.0001$
Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0)	1000	119	11,9	1,908	$p<0.01$
KONTROL (saf su)	1000	148	14,8		

4.4. Elektrolize Sularda Çimlendirilen Tohumlarda Mitotik Anormallik Oranları

Elektrolize su grupları ve kontrol grubuna ait mitotik anormallik oranları; Tablo 4.4.' de sunulmaktadır. Asidik elektrolize sulardan pH:1.0-2.0'de çimlenme olmadığı için, anormallik yüzdeleri hesaplanamadı. pH:2.0-3.0' da anormallik yüzdesi % 3,

pH:4.0-5.0' da % 2.9 olarak hesaplandı. Alkali elektrolize sulardan pH:9.0-10.0' da ise, anormallik yüzdesi % 1.3, pH:11.0-12.0' da % 1.7 bulundu. Kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarda, anormallik yüzdeleri arasındaki fark, örneklerin hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,01$).

Tablo 4.4. Farklı pH' lardaki Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumların Mitotik Anormallik Oranları

	Hücre Sayısı	Normal Mitoz	Anormal Mitoz	Anormallik Yüzdeleri	p
Asidik Elektrolize Su (pH:1.0-2.0)	-	-	-	-	-
Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0)	1000	33	1	3,0	$p>0,01$
Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0)	1000	103	3	2,9	$p>0,01$
Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0)	1000	226	3	1,3	$p>0,01$
Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0)	1000	117	2	1,7	$p>0,01$
KONTROL (saf su)	1000	146	2	1,4	

Tespit edilen mitoz anormalliklerinin evre dağılımları ve oranları (%), Tablo 4.5.' de sunulmaktadır. pH:1.0-2.0' daki asidik elektrolize suda çimlenme, dolayısıyla hücre bölünmesi olmadığı için mitotik evre dağılımları tespit edilemedi.

pH 2.0-3.0 asidik elektrolize suda, profaz evresinde toplam 24, metafazda 7, anafazda 2 ve telofazda 1 hücre sayıldı ve elektrolize suyun bu pH'sında görülen anormallik oranı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p<0,01$). Asidik elektrolize suyun diğer örneği olan pH:4.0-5.0' da; profazda 58, metafazda 25, anafazda 17 ve telofazda 6 hücre tespit edildi. pH:9.0-10.0 alkali elektrolize suda; profazda 144, metafazda 46, anafazda 27 ve telofazda 12, pH:11.0-12.0 alkali elektrolize suda ise,

profazda 70, metafazda 24, anafazda 22 ve telofazda 3 hücre gözlemlendi. Kontrol grubundaki mitotik evre dağılımı, profazda 85, metafazda 34, anafazda 22 ve telofazda 7 hücre olarak belirlendi.

Tablo 4.5. Farklı pH' lardaki Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumların Mitotik Evre Dağılımı ve Anormallik Oranları (N: Normal Safha, A: Anormal Safha, %: Anormallik Yüzdesi)

Su örnekleri	Profaz			Metafaz			Anafaz			Telofaz		
	N	A	%	N	A	%	N	A	%	N	A	%
Asidik Elektrolize Su (pH:1.0-2.0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0)	24	0	0	6	1	16,67	2	0	0	1	0	0
Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0)	58	0	0	23	2	8,69	16	1	6,25	6	0	0
Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0)	143	1	0,70	45	1	2,22	26	1	3,85	12	0	0
Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0)	69	1	1,45	24	0	0	21	1	4,76	3	0	0
KONTROL (saf su)	84	1	1,19	34	0	0	21	1	4,76	7	0	0

4.4.1. Elektrolize Sularda Çimlendirilen Tohumlarda İnterfaz Anormalliği Oranları

Bölünme geçirmeyen interfaz hücrelerinde büzölmüş çekirdeklere rastlandı (Şekil 4.22.). Bu anormalliklerin görölme sıklığı ve oranları hesaplandı (Tablo 4.6.). Kontrol grubu ile asidik elektrolize su (pH:4.0-5.0) ve alkali elektrolize su örnekleri (pH:9.0-10.0) arasındaki interfaz anormalliği farkı anlamlı bulunmadı ($p>0,01$). Diğer su örneklerinden asidik elektrolize su (pH:2.0-3.0) ile kontrol grubu arasındaki fark; istatistiksel olarak, ileri derecede anlamlı ($p<0,0001$); alkali elektrolize su

(pH:11.0-12.0) ile kontrol grubu arasındaki fark ise, en yüksek düzeyde anlamlı ($p<0,00001$) bulundu.

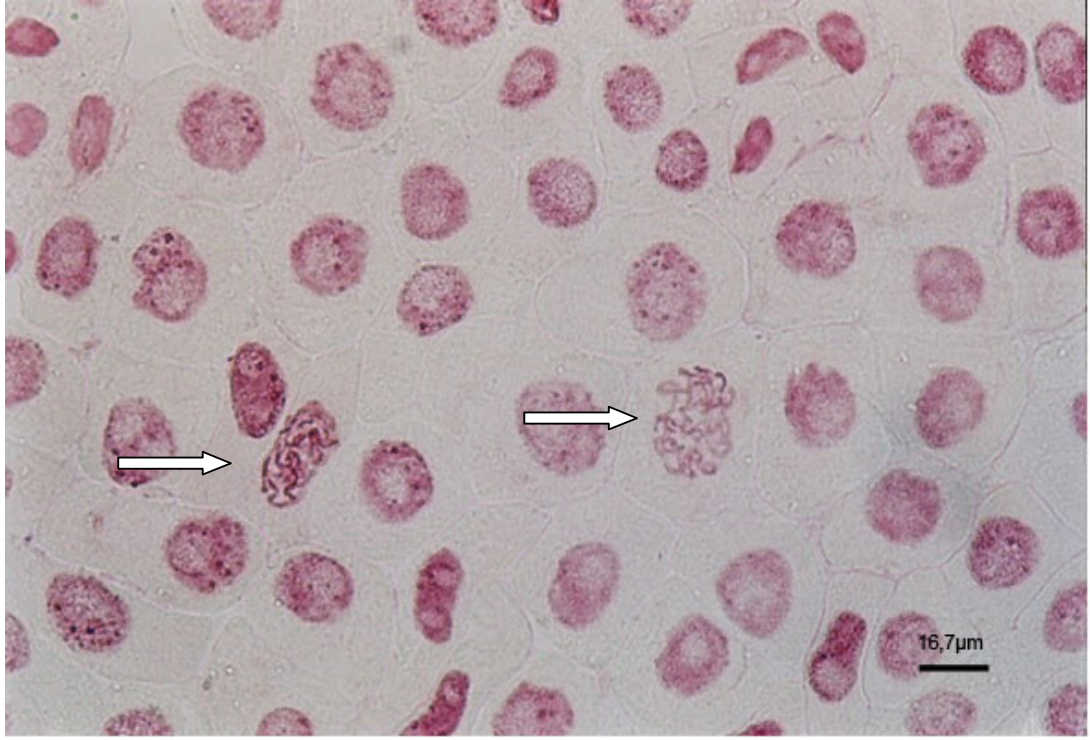
Tablo 4.6. Farklı pH' lardaki Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumların Normal ve Anormal İnterfaz Evre Dağılımı ve Anormallik Oranları

	Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Normal İnterfaz	Anormal İnterfaz (çekirdek büzülmesi)	Anormallik Oranları (%)	p
Asidik Elektrolize Su (pH:1.0-2.0)	-	-	-	-	-	-
Asidik Elektrolize Su (pH:2.0-3.0)	1000	34	938	28	2,98	$p<0.00001$
Asidik Elektrolize Su (pH:4.0-5.0)	1000	106	886	8	0,90	$p>0.01$
Alkali Elektrolize Su (pH:9.0-10.0)	1000	229	766	5	0,64	$p>0.01$
Alkali Elektrolize Su (pH:11.0-12.0)	1000	119	817	64	7,83	$p<0.000001$
KONTROL (saf su)	1000	148	849	3	0,35	

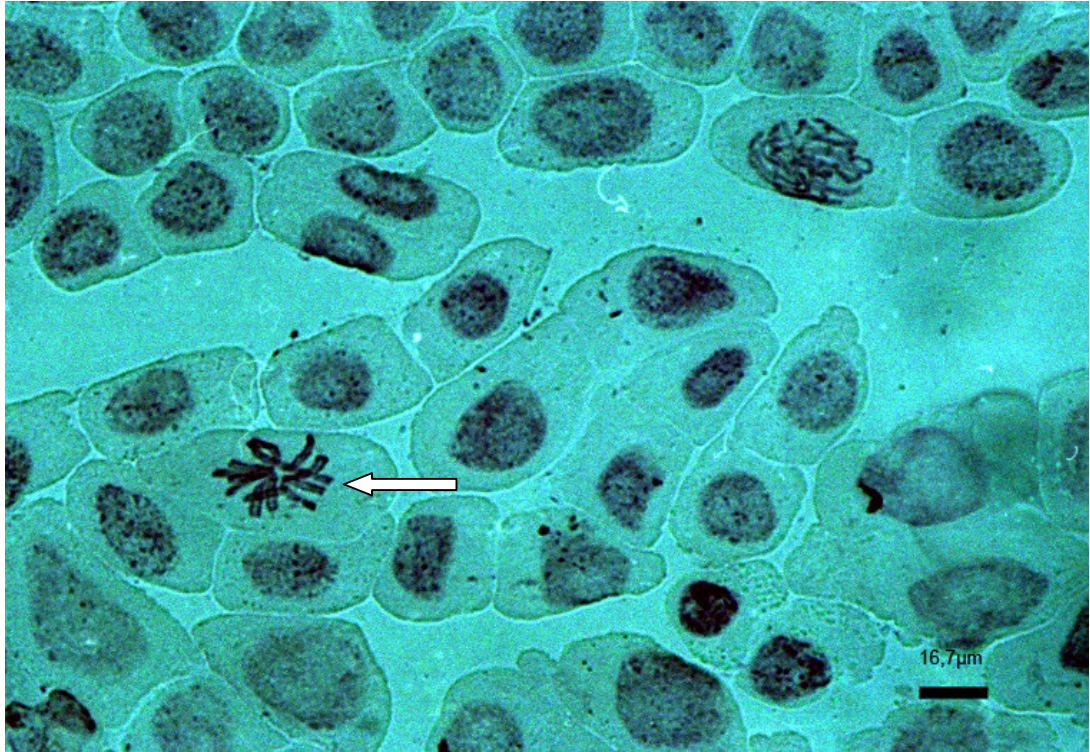
4.5. Elektrolize Sularda Çimlendirilen Tohumlarda Mitotik Anormallik Tanımları

4.5.1. Kontrol Grubuna Ait Mitotik Anormallik Tanımları

Kontrol amacı ile hazırlanan gruba ait preparatlardaki incelemelerde, mitoz bölünmenin tüm aşamaları [profaz (Şekil 4.6.), metafaz (Şekil 4.7.), anafaz (Şekil 4.8.) ve telofaz (Şekil 4.9.)] incelendi. Bölünmekte olan 148 hücreden, 2 hücre dışında kalan 146 hücrede, herhangi bir mitotik anormalliğe rastlanmadı.



Şekil 4.6. Kontrol Grubunda Normal Profaz Safhaları (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.7. Kontrol Grubunda Normal Metafaz Safhası (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.8. Kontrol Grubunda Normal Anafaz Safhası (beyaz ok) (10 X 40).



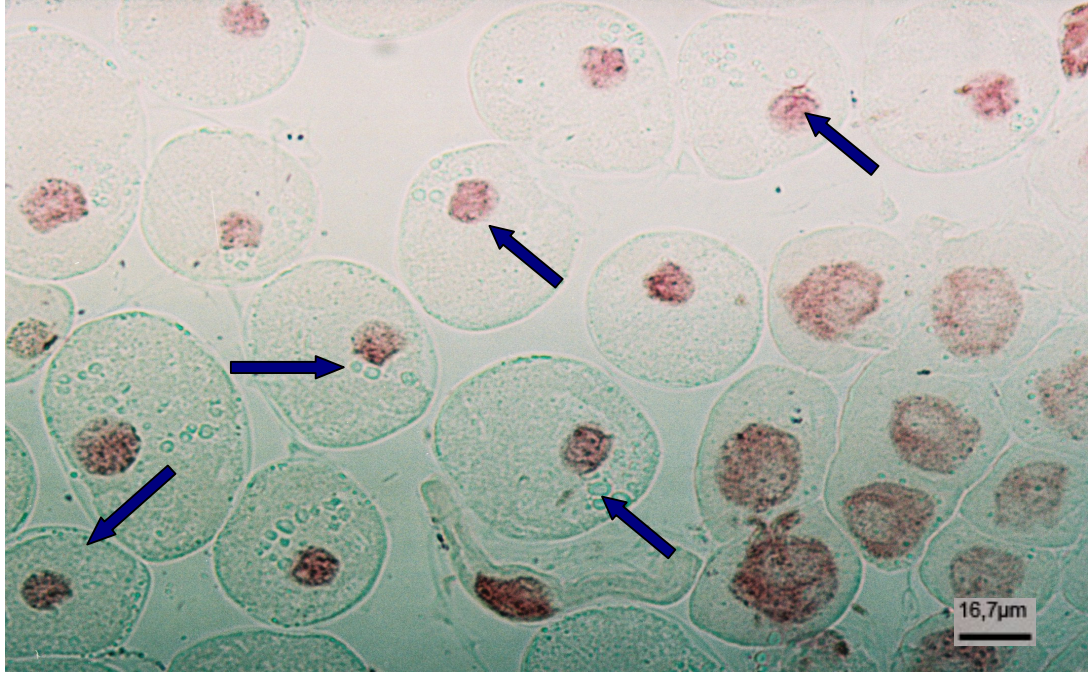
Şekil 4.9. Kontrol Grubunda Normal Telofaz Safhası (beyaz ok) (10 X 40).

4.5.2. Elektrolize Su Örneklerinde Çimlendirilen Tohumlarda Mitotik Anormallik Tanımları

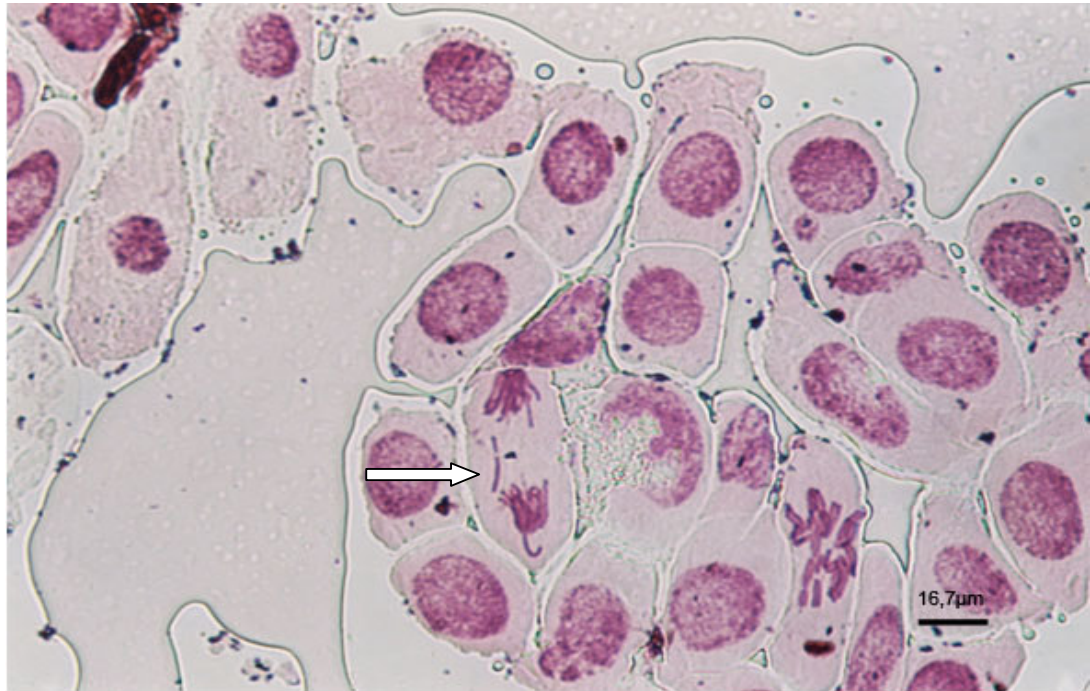
Çimlenmenin gerçekleşmediği güçlü asidik elektrolize suda (pH:1.0-2.0), preparat hazırlanamadığından, mitotik gözlem yapılamadı. Diğer elektrolize su örneklerinde çimlenen tohumlardan hazırlanan preparatlarda yapılan mikroskobik incelemeler sonunda, bazı anormallikler tespit edildi. Bunlar; kromozom fragmentasyonu (Şekil 4.10.), çekirdek büzölmeleri (Şekil 4.11.), anafazda kromozom geri kalmaları (Şekil 4.12. ve 4.13.), metafaz plağında toplanamama (Şekil 4.14., 4.15 ve 4.16.), mikronükleus (Şekil 4.16., 4.17.), çift çekirdekli hücre (Şekil 4.18. ve 4.22), kromozom köprüsü (Şekil 4.19., 4.20. ve 4.21.) ve çok çekirdekçikli interfaz hücreleri (Şekil 4.22.) olarak belirlendi.



Şekil 4.10. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Kromozom Fragmentasyonu (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.11. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Çekirdek Büzülmeleri (mavi oklar) (10 X 40).



Şekil 4.12. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Anafazda Geri Kalma (beyaz ok) (10 X 40).



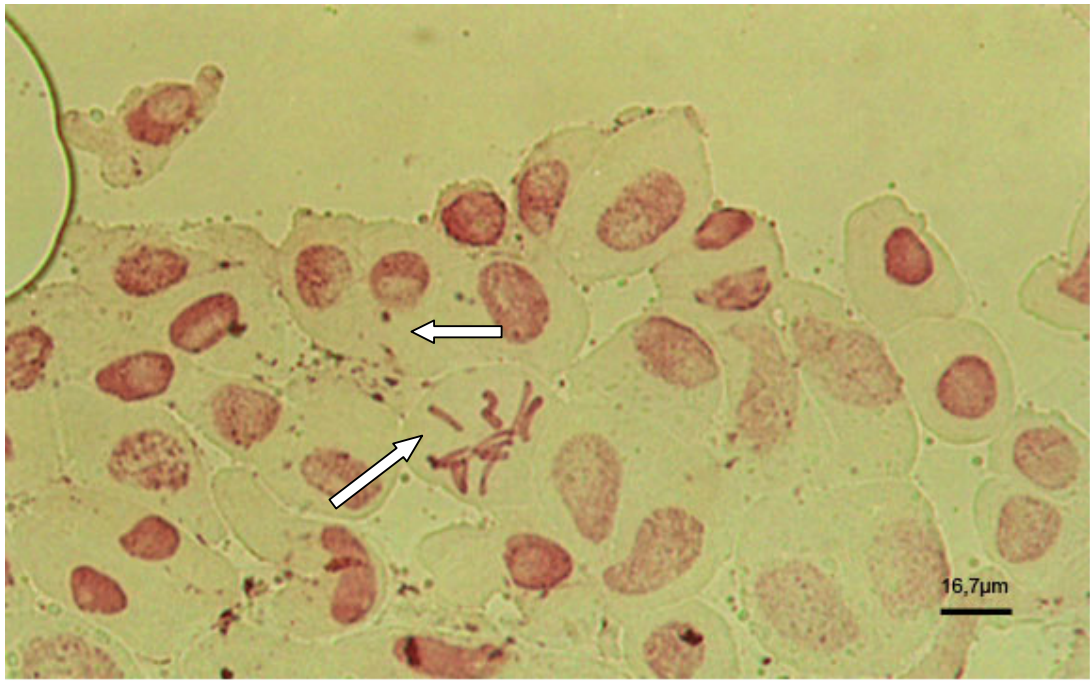
Şekil 4.13. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Anafazda Geri Kalma (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.14. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Metafaz Plağında Toplanamayan Kromozomlar (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.15. Asidik Elektrolize Suda (pH:4.0-5.0) Metafaz Plağında Toplanamama (beyaz ok) (10 X 40).



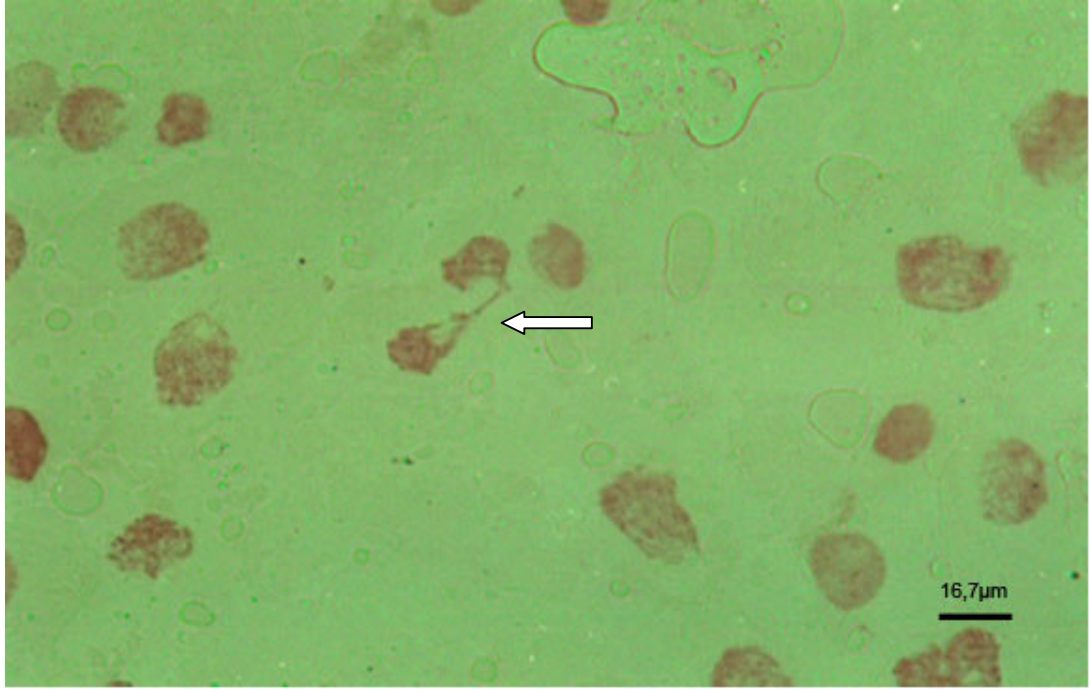
Şekil 4.16. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Metefaz Plağında Toplanamayan Kromozomlar (alt ok) ve İnterfazda Mikronükleus (üst ok) (10 X 40).



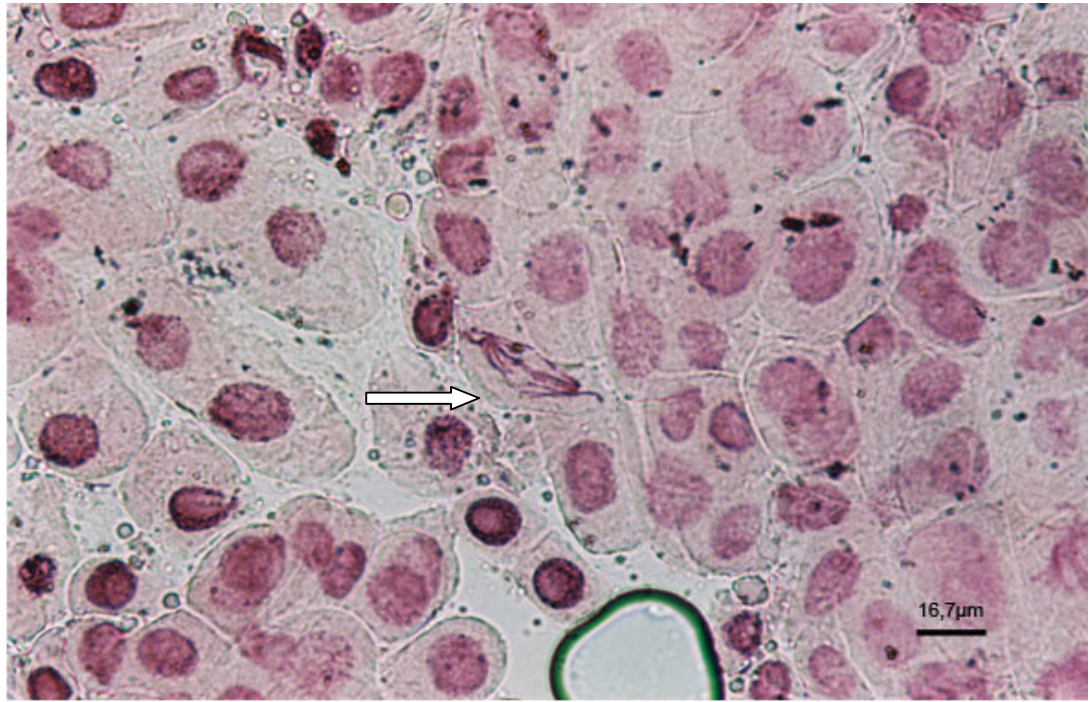
Şekil 4.17. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Profazda Mikronükleus (beyaz ok) (10 X 40).



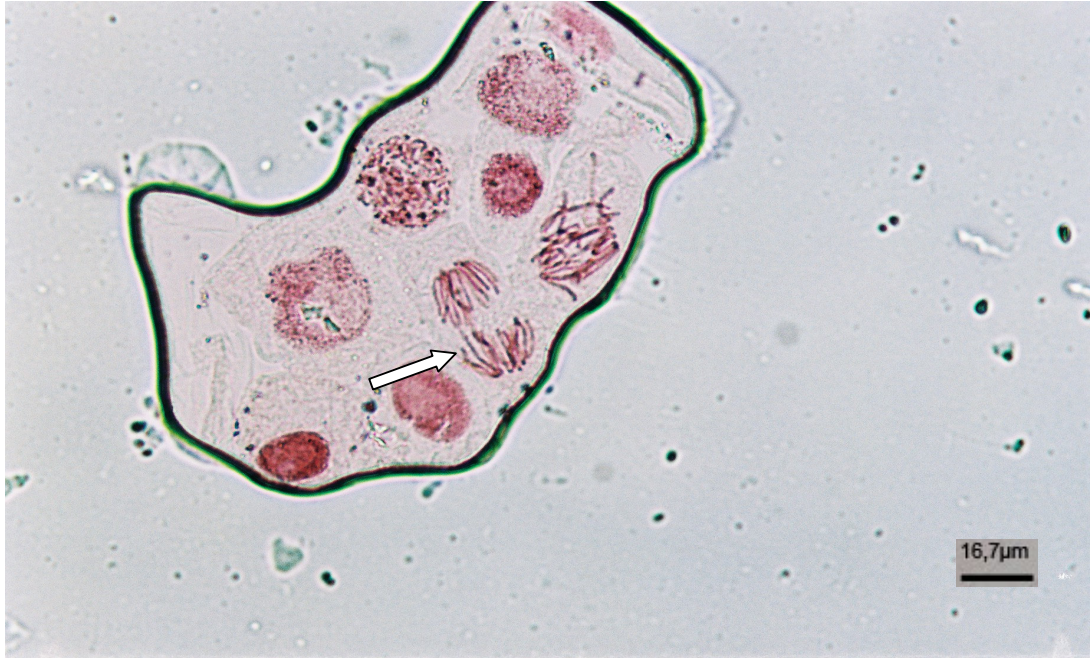
Şekil 4.18. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Çift Çekirdekli Hücre (beyaz oklar) (10 X 40).



Şekil 4.19. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Telofazda Kromozom Köprüsü (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.20. Alkali Elektrolize Suda (pH:11.0-12.0) Anafazda Kromozom Köprüleri (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.21. Asidik Elektrolize Suda (pH:4.0-5.0) Anafazda Kromozom Köprüsü (beyaz ok) (10 X 40).



Şekil 4.22. Asidik Elektrolize Suda (pH:2.0-3.0) Çift Çekirdekli Hücreler (beyaz oklar) ve Çok Çekirdekçikli İnterfaz Hücreleri (mavi oklar) (10 X 40).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada; birçok kullanım alanı olan elektrolize suyun, pH:1.0-2.0, 2.0-3.0, 4.0-5.0, 9.0-10.0 ve 11.0-12.0 olmak üzere beş farklı örneğinin, *Vicia faba* (bakla) bitkisi üzerine genotoksik etkileri kontrol edildi. Elektolize sular, G.Y.T.E. Çevre Mühendisliği Bölümü Labaratuvarlarında hazırlandı. Asidik elektrolize suyun üç (pH:1.0-2.0, 2.0-3.0 ve 4.0-5.0), alkali elektrolize suyun ise iki (pH:9.0-10.0 ve 11.0-12.0) örneği hazırlanarak beş farklı elektrolize su deney grubu oluşturuldu. Kontrol grubu olarak saf su (pH:6.0-7.0) kullanıldı. Kullanılan sitolojik yöntemlerin ve bitki materyalinin amaç için elverişli olduğu sonucuna varıldı.

Şu ana kadar elektrolize su ile yapılan çalışmalar çoğunlukla, elektrolize suyun dezenfektan etkisi ve sterilizasyon amaçlı kullanımı üzerine olmuştur. Bakteriler üzerine etkileri Shimizu ve Hurusawa, 1992; Hayashibara ve ark., 1994; Iwasawa ve Nakamura, 1996; Venkitanarayanan ve ark., 1999a, 1999b; Kim ve ark., 2000, 2001; Buck ve ark., 2002 tarafından araştırılmış olup; tıp (Iwasawa ve ark., 1993), gıda sterilizasyonu (Koseki ve ark., 2002, Deza ve ark., 2003) alanlarında ve enzim aktivasyonu (Hara ve ark., 2003) konularında da araştırmalar yapılmıştır. Ancak, literatürde elektrolize suyun canlılar üzerine genotoksik ve sitotoksik etkisi ile ilgili bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışma; elektrolize suyun potansiyel genotoksik etkilerinin, bitki materyali modelinde canlılar üzerinde test edildiği ilk çalışma olma özelliğindedir.

Çimlenen tohum sayılarına bakıldığında; 24, 48 ve 72 saatlik çimlenme gruplarında, asidik elektrolize sulardaki çimlenme oranının, saf su ve alkali elektrolize sulardakinden daha az olduğu görüldü. Ayrıca, asidik elektrolize sulardan pH:1.0-2.0' da hiçbir tohumun çimlenmediği belirlendi. pH:1.0-2.0, çok yüksek asidite özelliğine sahiptir. Bu sebeple, pH:1.0-2.0' da çimlenmeye bırakılan tohumlarda gözlenen durumun, DNA'nın düşük pH'da kararlılığını yitirerek, denatüre olmasından ve dolayısıyla hücre bölünmesinin olumsuz etkilenmesinden kaynaklandığı düşünüldü. Ancak böyle bir etkinin varlığı, ileride hücre döngüsü ve moleküler biyoloji temelinde yapılacak çalışmalarla desteklenmelidir.

Elektrolize suyun, canlılarda mitotik indeks üzerindeki etkisi (sitotoksik etki), ilk kez bu çalışmada incelendi. Hesaplamalar sonucunda, asidik elektrolize su (pH:2.0-3.0 ve 4.0-5.0) ve alkali elektrolize suyun (pH:11.0-12.0), hücre bölünmesini kontrole kıyasla olumsuz etkilediği belirlendi ($p<0.01$). Bakteri hücre bölünmesi üzerine yapılan daha önceki çalışmalarda da; Len ve ark., (2000) pH:4,0' da, Nakagawara ve ark., (1998) pH:2,0' da ve Koseki ve Itoh, (2000) pH:11' de bazı bakteri türleri kültürlerinde (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli* K12) populasyon sayısının azaldığını ortaya koymuşlardır.

Alkali elektrolize suyun (pH:9.0-10.0), mitotik indeksi ve bitki büyümesini istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı olacak şekilde arttırdığı gözlemlendi ($p<0.0001$). Fide boyları; kontrol grubunda ortalama $7,0 \pm 1,41$ cm iken, pH:9.0-10.0 olan alkali elektrolize suda ortalama $8,2 \pm 1,64$ cm olarak ölçüldü. Bu sonuç, toprağa pH:9.0-10.0 alkali elektrolize su verilmesinin, bakla bitkisi gelişimi üzerindeki olumlu etkisine işaret etti. pH:11.0-12.0 alkalilik derecesinde yetiştirilen fide uzunlukları ($6,8 \pm 1,79$ cm) ile kontrol grubu arasındaki fark, istatistiksel açıdan anlamsız bulundu ($p>0.01$). Buradan yola çıkarak; toprağın pH:11.0-12.0 alkalilik derecesine sahip elektrolize su ile sulanmasının, bakla bitkisi gelişimini etkilemediği sonucuna varıldı.

pH:9.0-10.0 alkali elektrolize suyun, bitki gelişimini ve mitotik indeksi ileri derecede arttırıcı etkisinin, bu suyun antioksidan etkisinden kaynaklanabileceği düşünüldü. Hanaoka, (2001); alkali elektrolize suyun bir hidroksil radikali olan hidrojen peroksit (H_2O_2) için, antioksidan etki gösterdiğini rapor etmiştir. Alkali elektrolize su içinde çözülmüş aktif H_2 ile H_2O_2 reaksiyona girer ve reaksiyon sonunda H_2O oluşturur. Süperoksit dismutaz gibi enzimler, antioksidan vitaminler, katalaz ve glutatyon peroksidaz; reaktif oksijen türleri içeren serbest radikallere karşı antioksidan etki gösterirler. Alkali elektrolize suyun, yine elektrolize su içinde var olan serbest radikallere karşı antioksidan etkisi, muhtemelen pH:9.0-10.0'da gözlenen mitotik indeks ($p<0.00001$) ve fide gelişimini artıran faktördür. pH:11.0-12.0 alkali elektrolize suda azalan mitotik indeks istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.01$). Söz konusu pH' da aynı zamanda çekirdek büzülmesi anormalliklerine de rastlandı. Bu durumun, pH:9.0-10.0 alkali elektrolize suya kıyasla, hem pH'nın, hem de hidroksil radikali sayısının daha fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Östling ve Johannson (1984), daha önce pH'nın DNA üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarında; alkali ortamda, DNA zincirinde lup ve kırılma, Klaude (1996) ve Collins (1997) ise, alkali şartlarda DNA iplikçiklerinde gevşeme olduğunu ortaya koymuşlardır. Bunun sebebini, alkali ortamda bağların çözülmesine ve DNA moleküllerinin denatürasyonuna bağlamışlardır.

pH:2.0-3.0 asidik elektrolize su gruplarında, kontrol grubuna kıyasla mitotik indeksin düşük ve çekirdek büzülmesinin yüksek çıkması, istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu ($p < 0.00001$). Bu etkilerin, ortamın pH'sından veya serbest radikallerden kaynaklanabileceği düşünüldü. Aktif oksijen türlerinin, DNA üzerinde hasarlara yol açabileceği daha öncede Shirahata ve ark., (1997), tarafından rapor edilmiştir.

Alkali ve asidik elektrolize su örneklerinin tamamında, istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde ($p > 0.01$), kromozom fragmentasyonu, çekirdek büzülmeleri, anafazda kromozom geri kalmaları, metafaz plağında kromozomların toplanamaması, mikronükleus oluşumu, çift çekirdekli hücre ve kromozom köprüsü gibi mitoz anormalliklerine rastlandı. Cordova ve ark., (2003); reaktif oksijen türlerinin *Vicia faba*' da DNA hasarlarına neden olarak mikronükleus oluşumunu tetikleyebileceğini göstermişlerdir. Ancak, suyun elektrolizi ile meydana gelen hidroksil ve süperoksit radikallerinin etkisi sonucu ortaya çıkabileceği düşünülen ve sitotoksik etki olarak kabul edilen çekirdek büzülmeleri, asidik (pH:2.0-3.0) ve alkali (pH:11.0-12.0) elektrolize su örneklerinde istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir artış gösterdi ($p < 0.0001$ ve $p < 0.00001$). Bu bulgulara paralel olarak; Noji ve ark., (2001), bisülfid – sülfid karışımının yüksek konsantrasyonlarında bitkilerde toksik etki görüldüğünü, Yi ve Meng, (2003)' de; kükürt dioksitin benzer bir etki yaptığını ve bu toksik etkinin, kendisini çekirdek büzülmesi, mikronükleus ve anafaz anormalliği şeklinde gösterdiğini daha önce rapor etmişlerdir.

Benzer şekilde, Tao ve ark., (2005), HT29 hücre serilerinde, iğ ipliklerinde meydana gelen hasar nedeniyle kromozomların mitoz bölünme sırasında ayrılmadığını sitokinez geçirmeksizin mitozdan çıktığını, buna bağlı olarak da, tetraploid hücrelerin meydana geldiğini ve sonunda çekirdeğin büzülmesiyle, hücrenin apoptosise gittiğini rapor etmişlerdir. Tagawa ve ark., (2000); 500 ppm

NaCl ile hazırladıkları asidik elektrolize suyun (pH:2.7< ve 7.15 ppm klor), Cl₂ ve elektroliz sırasında oluşan diğer ürünlerin (HClO, H⁺, Cl⁻, O₂ ve O₃) enzimatik fonksiyonları protein denatürasyonu eliyle ortadan kaldıracabileceğini, viral genom ve DNA polimeraz aktivitesinin azalabildiğini ve geri dönüşsüz protein denatürasyonuna neden olabileceğini rapor etmişlerdir. Bunlara bağlı olarak da, hücre ölümlerinin gerçekleşeceğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada; 250 ppm NaCl kullanılarak hazırlanan asidik elektrolize suda (pH:2.0-3.0) çimlenen bakla tohumlarında, mitoz anormallikleri kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.01). pH:2.0-3.0 ve pH:11.0-12.0 değerindeki asidik ve alkali elektrolize suların hazırlanmasında kullanılan NaCl' nin, bu örneklerde meydana gelen çekirdek büzülmesi anormalliğine (pH:2.0-3.0 p<0.0001 ve pH:11.0-12.0 p<0.00001) bir katkısının olmadığı düşünüldü. Çünkü, elektrolize sularda kullanılan NaCl konsantrasyonu; Sachs, (1860)' da belirtilen miktarı geçmeyecek şekilde düzenlenmiştir. Sachs, (1860); bitki yetiştiriciliği için kullanılacak besin çözeltisine eklenen 0,25 g (250 ppm) NaCl'nin büyümeyi olumlu etkileyeceğini ve bu seviyenin zararlı olmadığını belirtmiştir. Daha yüksek Na konsantrasyonunun DNA yapısında bozulmalara (Hibino ve ark., 2006); ve klor konsantrasyonunun ise genotoksik ve sitotoksik etkiye sebep olduğu Daniel ve ark., (1993) ile Knasmuller ve ark., (1996) tarafından bildirilmiştir.

Bu sonuçlar ışığında; mitotik indeksi düşüren ve anlamlı bir genotoksik etkisi olmayan (p>0.01) asidik elektrolize suyun (pH:4.0-5.0), kanser çalışmalarında kullanılabilirdiği düşünülebilir. Alkali elektrolize suyun (pH:9.0-10.0) ise, mitotik indeksi artırması, bitki büyümesini hızlandırması ve genotoksik etkisinin anlamlı olmaması (p>0.01) dolayısıyla, zirai çalışmalarda bitki büyümesini arttırmak üzere kullanılması olasıdır. Ancak, bu kullanım potansiyellerinin, her iki uygulama alanında, ileride yapılacak çalışmalarla değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Konu üzerine ileride yapılacak çalışmalar arasında; biyoçeşitlilik ve canlılardaki hücre metabolizması farklılıkları göz önüne alınarak, elektrolize suyun farklı türler üzerindeki genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi önerilebilir. Bitki ve hayvan doku kültürleri, hücre döngüsü çalışmaları, pH, NaCl ve oksijen radikalleri gibi elektrolize su bileşenleri / özelliklerinin DNA üzerine etkisi ve

mekanizmalarının moleküler düzeyde araştırılması, bu çalışmanın bulgularının desteklenmesi bağlamında önem taşımaktadır.

6. SONUÇ

Bu çalışma; elektrolize suyun, canlılar üzerindeki olası genotoksik etkilerini bitki materyali *Vicia faba* (bakla) model organizması özelinde inceleyen ilk çalışma olma özelliğindedir. Kullanılan elektrolize su örnekleri bakla bitkisi için istatistiksel olarak anlamlı bir genotoksik etkiye işaret etmemiştir ($p>0.01$). Bu çalışmadan elde edilen bulgular, bakla bitkisinin elektrolize suya, genotoksik açıdan toleranslı olduğunu düşündürmüştür.

Alkali elektrolize su ve pH:4.0-5.0 asidik elektrolize su örneklerinde çimlenen tohum sayılarının kontrol grubuna yakın olduğu, fakat, pH:2.0-3.0 asidik elektrolize suda çimlenen tohum sayısının, kontrol grubundan az olduğu ve pH:1.0-2.0 asidik elektrolize suda ise, hiçbir tohumun çimlenmediği belirlenmiştir. Bu durumun, DNA'nın düşük pH' da kararlılığını yitirmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bakla bitkisinin toprak ortamındaki gelişiminin, kontrole ($7,0 \pm 1,41$ cm) kıyasla pH:9.0-10.0 alkali elektrolize suda ($8,2 \pm 1,64$ cm) arttığı, pH:2.0-3.0 asidik elektrolize suda ($3,8 \pm 1,92$ cm) ise azaldığı belirlenmiştir. Alkali elektrolize suyun (pH:9.0-10.0) büyümeye olumlu etkisinin, muhtemelen bu suyun antioksidan etkisinden kaynaklanabileceği, asidik elektrolize sudaki (pH:2.0-3.0) olumsuz etkinin ise düşük pH' dan kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Bu bulgular aynı zamanda, mitotik indeks bulguları ile paralellik göstermektedir.

Hazırlanan elektrolize su örneklerinden; pH:2.0-3.0, 4.0-5.0 ve 11.0-12.0 değerindeki asidik ve alkali elektrolize suların mitotik indeksi düşürmekte olduğu ($p<0.01$), pH:9.0-10.0 değerindeki alkali elektrolize suyun ise, mitotik indeksi arttırdığı ($p<0.0001$) belirlenmiştir. pH:1.0-2.0 değerindeki asidik elektrolize su örneğinin varlığında hücre bölünmesi ve çimlenmesinin, suyun düşük pH' sından kaynaklanması olası DNA denatürasyonu nedeniyle gerçekleşmemesi; mitotik indeksin hesaplanmasını engellemiştir.

Elektrolize su örneklerinde; kromozom fragmentasyonu, mikronükleus, çift çekirdekli hücre, kromozom geri kalmaları, metafaz plağında toplanamama,

kromozom köprüleri gibi anormallikler gözlenmiştir. Ancak, istatistiksel hesaplamalar sonucunda; mitotik anormallik oranları, örneklerin hiçbirinde kontrole göreceli anlamlı bulunmamıştır ($p>0.01$).

Asidik elektrolize su (pH:2.0-3.0) ve alkali elektrolize su (pH:11.0-12.0) örneklerinde meydana gelen çekirdek büzülmesi sıklığı oranları, kontrole kıyasla ileri derecede anlamlı bulunmuştur ($p<0,0001$ ve $p<0,00001$). pH:2.0-3.0 asidik elektrolize su ve pH:11.0-12.0 alkali elektrolize suyun sitotoksik etkilerinin, yüksek oranda serbest radikaller içermelerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Asidik (pH:2.0-3.0) ve alkali (pH:11.0-12.0) elektrolize suların *Vicia faba* bitkisi için sitotoksosite açısından güvenilir olmadığı sonucuna varılmıştır.

Farklı pH'lardaki elektrolize suyun *Vicia faba* bitkisi üzerindeki genotoksik etkisinin değerlendirildiği bu çalışmanın bulguları ışığında, pH:9.0-10.0 alkali elektrolize suyun zirai çalışmalarda, pH:4.0-5.0 asidik elektrolize suyun ise kanser çalışmalarında kullanılabileceği önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Abe, S., Miya, Y., Okuda, R. Inactivation of Hepatitis B virus by high oxidation potential water. *Jpn. J. Conserv. Dent*, 37, 1616-1623, (1994).
2. Al-Haq, M.I., Seo, Y., Oshita, S., Kawagoe, Y. Fungicidal effectiveness of electrolyzed oxidizing water on postharvest Brown rot of peach. *Hort Science*, 36 (7), 1310-1314, (2001).
3. Al-Haq, M.I., Seo, Y., Oshita, S., Kawagoe, Y. Disinfection effects of electrolyzed oxidizing water on suppressing fruit rot of pear caused by *Botryosphaeria berengeriana*. *Food Research International*, 35 (7), 657-664, (2002).
4. Bonde, M.R., Nester, S.E., Schaad, N.W., Frederick, R.D., Luster, D.G. Improved detection of *Tilletia indica* teliospores in seed or soil by elimination of contaminating microorganisms with acidic electrolyzed water. *Plant Disease*, 87 (6): 712-718, (2003).
5. Buck, J.W., Van Iersel, M.W., Oetting, R.D., Hung, Y.C. In vitro fungicidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water. *Plant Disease*, 86: 278-281, (2002).
6. Buck, J.W., Van Iersel, M.W., Oetting, R.D., Hung, Y.C. Evaluation of acidic electrolyzed water for phytotoxic symptoms on foliage and flowers of Bedding plants. *Crop Protection*, 22 (1): 73-77, (2003).
7. Collins, A.R., Dobson, V.L., Duinska, M., Kennedy, G., Rtina, R. Fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis. *Mutation research*, 375 (2), 183-193, (1997).
8. Cordova, R.V., Valgas, C., Souza, M., Corrêa, X.R., Radetski, M. Biomass growth, micronucleus induction, and antioxidant stress enzyme responses in *Vicia faba* exposed to cadmium in solution. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (3) 645 – 649, (2003).

9. Daniel, F.B., Meier, J.R., Deangelo, A.B. Advances in research on carcinogenic and genotoxic by-products of chlorine disinfection: chlorinated hydroxy-furanones and chlorinated acetic acids. *Ann. Ist. Super. Sanita*, 29, 279-291, (1993).
10. Deza, MA., Araujo, M., Garrido, MJ. Inactivation of *Escherichia coli* O157 :H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water. *Letters in Applied Microbiology*, 37 (6): 482-487, (2003).
11. Fabrizio, K. A., Sharma, R.R., Demirci, A., Cutter, C.N. Comparison of electrolyzed oxidizing water with various antimicrobial interventions to reduce *Salmonella species* on poultry. *Poultry Science*, 81: 1598-1605, (2002).
12. Fenech, M. The cytokinesis-block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations. *Environmental Health Perspectives*, 101: 101 – 107, (1993).
13. Grant, W.F. Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. *Environmental Health Perspectives*, Vol. 27, pp. 37 – 43, (1978).
14. Grant, W.F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations. *Mutation Research*, 426: 107 – 112, (1999).
15. Grant, W.F. and Owens, E.T. Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. *Mutation Research*, 488: 91 – 116, (2001).
16. Grant, W.F. and Owens, E.T. *Lycopersicon* assays of chemical radiation genotoxicity for the study of environmental mutagens. *Mutation Research*, 511: 207 – 237, (2002).
17. Hanaoka, K., Antioxidant effects of reduced water produced by electrolysis of sodium chloride solutions. *Journal of Applied Electrochemistry*, 31: 1307 – 1313, (2001).

18. Hara, Y., Kobayashi, K., Izumi, Y. Activation of subtilisin, alpha-amylase and lipase by electrolyzed water. *Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 50 (12): 563-569, (2003).
19. Hara, Y., Kobayashi, K., Yamamoto, T., Arai, E., Matsuda, H. The effect of electrolyzed water on production of soybean functional low-molecular weight peptide by an *Aspergillus oryzae* protease. *Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 50 (9):419-427, (2003).
20. Hara, Y., Matsuda, H., Arai, E. Effects of weakly electrolyzed water on properties of tofu (soybean curd). *Food Science and Technology Research*, 9 (4): 332-337, (2003).
21. Hartmann, A. Novartis Pharma AG, Genetic and Experimental Toxicology, WSH-2881-5.14, CH-4002, (1999).
22. Hayashibara, T., Kadowaki, A., Yuda, N. A study of the disinfection / microbial effects of electrolyzed oxidizing water. *Japanese Journal of Medical Technology*, 43: 555-561, (1994).
23. Hibino, K., Yoshikawa, Y., Murata, S., Saito, T., Zinchenko, A.A., Yoshikawa, K. Na^+ more strongly inhibits DNA compaction by spermidine (3+) than K^+ . *Chemical Physics Letters*, 426, 405 – 409, (2006).
24. Hsu, Shun-Yao. Effects of flow rate, temperature and salt concentration on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*, 66: 171-176, (2005).
25. Iwasawa, A. and Nakamura, Y. Antimicrobial activity of aqua oxidation water. *Clin. Bacteriol.*, 20, 469-473, (1993).

26. Iwasawa, A., Nakamura, Y., Mizuno, T. Bactericidal activity of aqua oxidation water against clinically isolated strains. *Kankyo Kansen*, 8: 11, (1993).
27. Iwasawa, A., Nakamura, Y., Nakamura, K., Murai, T. Bactericidal effect of aqua oxidation water. *Clinical Pharmacology and Therapeutic*, 3:1555, (1993).
28. Iwasawa, A., Nakamura, Y., Okada, J., Mizuno, T. Antiviral activity of acid water. *Clin. Bacteriol*, 20, 231-236, (1993).
29. Iwasawa, A. and Nakamura, Y. Bactericidal effect of acidic electrolyzed water – comparison of chemical acidic sodium hydrochlorine (NaOCl) solution. *J. J. A. Inf. D.*, 70, 915-922, (1996).
30. Izumi, H. Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. *Journal of Food Science*, 64, 536-539, (1999).
31. Jain, K., Singh, J., Chauhan, L.K.S., Murthy, R.C., Gupta, S.K. Modulation of flyash-induced genotoxicity in *Vicia faba* by vermicomposting. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59, 89-94, (2004).
32. Kanaya, N., Gill, B.S., Grover, I.S., Murin, A., Osiecka, R., Sandhu, S.S., Andersson, H.C. *Vicia faba* chromosomal aberrations assay. *Mutat. Res*, 310, 231-247, (1994).
33. Kihlman, B.A. Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations. *Mutat. Res*. 31: 401, (1975).
34. Kim, C., Hung, Y.C., Brackett, R.E. Roles of oxidation-reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. *Journal of Food Protection*, 63: 19-24, (2000).
35. Kim, C., Hung, Y.C., Brackett, R.E., Frank, J. F. Inactivation of *Listeria monocytogenes* biofilms by electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Processing and Preservation*, 25: 91-100, (2001).

36. Kim, C., Hung, Y.C., Brackett, R.E., Lin, C.-S. Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating *Salmonella* on alfalfa seeds and sprouts. *Journal of Food Protection*, 66, 208-214, (2003).
37. Kiura, H., Sano, K., Morimatsu, S., Nakano, T., Morita, C., Yamaguchi, M., Maeda, T., Katsuaka, Yoji. Bactericidal activity of acid water from solution containing sodium chloride at low concentration, in comparison with that at high concentration. *Journal of Microbiological Methods*, 49 285-293, (2002).
38. Klaude, M., Eriksson, S., Nygren, J., Ahnström, G. DNA repair. *Mutation Research*, 363 (2), 89 – 96, (1996).
39. Knasmüller, S., Zoehrer, E., Kronberg, L., Kundi, M., Franzen, R., Schulte-Hermann, R. Mutational spectra of *Salmonella typhimurium* revertants induced by chlorohydroxyfuranones, byproducts of chlorine disinfection of drinking water. *Chem. Res. Toxicol*, 9, 374-381, (1996).
40. Koseki, S. and Itoh, K. Fundament properties of electrolyzed water. *Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 47 (5): 390-393, (2000).
41. Koseki, S. and Itoh, K. The effect of available chlorine concentration on the disinfecting potential of acidic electrolyzed water for shredded vegetables. *Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 47 (12): 888-898, (2000).
42. Koseki, S. and Itoh, K. Prediction of microbial growths in fresh-cut vegetables treated with acidic electrolyzed water during storage under various temperature conditions. *Journal of Food Protection*, 64 (12): 1935-1942, (2001).
43. Koseki, S and Itoh, K. The effect of acidic electrolyzed water on the quality of cut vegetables. *Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 48 (5): 365-369, (2001).

44. Koseki, S., Fujiwara, K., Itoh, K. Decontaminative effect of frozen acidic electrolyzed water on lettuce. *Journal of Food Protection*, 65 (2): 411-414, (2002).
45. Koseki, S., Yoshida, K., Isobe, S., Itoh, K. Decontamination of lettuce using acidic electrolyzed water. *Journal of Food Protection*, 64 (5): 652-658, (2001).
46. Koseki, S., Yoshida, K., Kamitani, Y., Itoh, K. Influence of inoculation method, spot inoculation site, and inoculation size on the efficacy of acidic electrolyzed water against pathogens on lettuce. *Journal of Food Protection*, 66 (11): 2010-2016, (2003).
47. Koseki, S., Yoshida, K., Kamitani, Y., Isobe, S., Itoh, K. Effect of mild heat pre-treatment with alkaline electrolyzed water on the efficacy of acidic electrolyzed water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 21: 559-566, (2004).
48. Len, S.V., Hung, Y.C., Erickson, M., Kim, C. Ultraviolet spectrophotometric characterization and bacterial properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH, (2000).
49. Liao, L.B., Chen, W.M., Xiao, X.M. The generation and inactivation mechanism of oxidation-reduction potential of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*, xxx: xxx-xxx, (2006).
50. Morita, C., Sano, K., Morimatsu, S., Kiura, H., Goto, T., Kohno, T., Hong, W., Miyoshi, H., Iwasawa, A., Nakamura, Y., Tagawa, M., Yokosuka, O., Saisho, H., Maeda, Y., Katsuoka, Y. Disinfective potential of electrolyzed solutions containing sodium chloride at low concentration. *J. Virol. Methods* 85, 163-174, (2000).
51. Nakagawara, S., Goto, T., Nara, M., Ozawa, Y., Hotta, K., Arata, Y. Spectroscopic characterization and the pH dependence of bactericidal activity of the aqueous chlorine solution. *Analytical Science*, 14 (4): 691-698, (1998).

52. Nilan, R.A., and Vig, B.K. Plant test systems for detection of chemical mutagens. In: Chemical Mutagens; Principles and Methods for Their Detection. Vol. 4, Hollaender, Ed., Plenum Pres, New York, 143, (1976).
53. Noji, M., Saito, M., Nakamura, M., Aono, M., Saji, H., Saito, K. Cysteine synthase overexpression in tobacco confers tolerance to sulfur – containing environmental pollutants. *Plant Physiol*, 126, 973 – 980, (2001).
54. Onishi, R., Hara, Y., Arai, E. Improvement of eating quality and preservability of cooked rice obtained from aged rice grains by weak electrolyzed cathode water. *Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 48 (2): 112-118, (2001).
55. Oomori, T., Oka, T., Inuta, T., Arata, Y. The efficiency of disinfection of electrolyzed water in the presence of organic materials. *Analytical Sciences*, 16 (4): 365-369, (2000).
56. Östling, O. and Johanson, K.J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 123:291-298, (1984).
57. Park, C. M., Hung, Y.C., Doyle, M.P., Ezeike, G.O.I., Kim, C. Pathogen reduction and quality of lettuce treated with electrolyzed oxidizing and acidified chlorinated water. *Journal of Food Science*, 66 1368-1372, (2001).
58. Park, H., Hung, Y.C, Brackett, R.E. Antimicrobial effect of electrolyzed water for inactivating *Campylobacter jejuni* during poultry washing. *International Journal of Food Microbiology*, 72 (1-2): 77-83, (2002).
59. Park, H., Hunk, YC., Kim, C. Effectiveness of electrolyzed water as a sanitizer for treating different surfaces. *Journal of Food Protection*, 65 (8): 1276-1280, (2002).

60. Qian, X., Luo, W., Zheng, O. Joint effects of microwave and chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. Journal of Zhejiang University SCIENCE B., 7 (3):221-227, (2006).
61. Ryoo, K., Kang, B., Sumita, O. Electrolyzed water as an alternative for environmentally benign semiconductor cleaning. Journal Of Materials Research, 17 (6): 1298-1304, (2002).
62. Rutala, W.A., Weber, D.J. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. Clin. Microbiol. Rev., 10, 597-610, (1997).
63. Sachs, J. Vegetationsversuche mit Ausschluss des Bodens über die Nährstoffe und sonstigen Ernährungsbedingungen von Mais, Bohnen, und anderen Pflanzen. Landw. Versuchs-Stat, 2:219-268, (1860).
64. Sang, N. and Li, G. Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. Mutation Research, 560: 159-165, (2004).
65. Shimizu, Y. and Hurusawa, T. Antiviral, antibacterial, and antifungal actions of electrolyzed oxidizing water through electrolysis. Dental Journal, 37: 1055-1062, (1992).
66. Shirahata, S., Kabayama, S., Nakano, M., Miura, T., Kusumoto, K., Gotoh, M., Hayashi, H., Otsubo, K., Morisawa, S., Katakura, Y. Electrolyzed-Reduced water scavenges active oxygen species and protects DNA from oxidative damage. Biochemical and Biophysical Research Communications, 234, 269-274, (1997).
67. Sohal, R.S and Weindruch, R. Oxidative Stress, Caloric Restriction and Aging. Science, 273: 59-63, (1996).
68. Stan, S.D. and Daeschel, M.A. Reduction of *Salmonella enterica* on alfalfa seeds with acidic electrolyzed oxidizing water and enhanced uptake of acidic electrolyzed oxidizing water into seeds by gas. Journal Of Food Protection, 66 (11): 2017-2022, (2003).

69. Tagawa, M., Yamaguchi, T., Yokosuka, O., Matsutani, S., Maeda, T., Saisho, H. Inactivation of hepadnavirus by electrolyzed acid water. *J. Antimicrob. Chemother.*, 46, 363-368, (2000).
70. Tao, W., South, V.J., Zhang, Y., Davide, J.P., Farrell, L., Kohl, N.E., Sepp-Lorenzino, L., Lobell, R.B. Induction of apoptosis by an inhibitor of the mitotic kinesin KSP requires both activation of the spindle assembly checkpoint and mitotic slippage. *Cancer Cell*, 8: 49 – 59, (2005).
71. Tatsumi, E. Control of Microbial Contamination by Electrolyzed Water in Tofu Manufacturing. *E. Food Science & Technology Division, JIRCAS.* 32, 5, (2002).
72. Tosa, N. and Yamasaki, Y. Effect of organic substances on the residual chlorine contained in the strong acidic electrolyzed water. *Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 47 (4): 287-295, (2000).
73. Venkitanarayanan, K.S., Ezeike, G.O.I., Hung, Y.C., Doyle, M.P. Efficacy of electrolyzed oxidizing water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, and *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 4276-4279, (1999a).
74. Venkitanarayanan, K.S., Ezeike, G.O.I., Hung, Y.C., Doyle, M. P. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Protection*, 62, 857-860, (1999b).
75. Yahagi, N., Kono, M., Kitahara, M., Ohmura, A., Sumita, O., Hashimoto, T., Hori, K., Chen, N.J., Woodson, P., Kubota, S., Murakami, A., Takamoto, S. Effect of electrolyzed water on wound healing. *Artificial Organs*, 24 (12): 984-987, (2000).
76. Yang, H., Swem, B.L., Li, Y. The effect of pH on inactivation of pathogenic bacteria on fresh-cut lettuce by dipping treatment with electrolyzed water. *Journal of Food Science*, 68 (3): 1013-1017, (2003).

77. Yi, H. and Meng, Z. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. *Mutation Research*, 537, 109 – 114, (2003).

ÖZGEÇMİŞ

Özgür Millioğlu, 1977 yılında Giresunda doğdu. Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Bölümü'nden 1999'da mezun oldu. 2003 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoloji Bölümü'nde Yüksek Lisans Programı'na başladı.