



T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

ESCHERICHIA COLI VE BACILLUS THURINGIENSIS TÜRLERİNİN BAZI
MERMER ÇEŞİTLERİ ÜZERİNDEKİ CANLI KALIM SÜRELERİNİN
BELİRLENMESİ

HASAN HÜSEYİN KOÇ

Ocak 2014

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

ESCHERICHIA COLI VE BACILLUS THURINGIENSIS TÜRLEİNİN BAZI
MERMER ÇEŞİTLERİ ÜZERİNDEKİ CANLI KALIM SÜRELERİNİN
BELİRLENMESİ

HASAN HÜSEYİN KOÇ

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK

Ocak 2014

Hasan Hüseyin KOÇ tarafından **Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK** danışmanlığında hazırlanan “*Escherichia coli* ve *Bacillus thuringiensis* Türlerinin Bazı Mermer Çeşitleri Üzerindeki Canlı Kalım Sürelerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Zeki KARACA



(Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Maden Mühendisliği Bölümü)

Üye : Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK



(Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü)

Üye : Prof. Dr. Mustafa KARATEPE



(Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü)

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Osman SİVRİKAYA
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Hasan Hüseyin KOÇ

ÖZET

ESCHERICHIA COLI VE BACILLUS THURINGIENSIS TÜRLEİNİN BAZI MERMER ÇEŞİTLERİ ÜZERİNDEKİ CANLI KALIM SÜRELERİNİN BELİRLENMESİ

KOÇ, Hasan Hüseyin
Niğde Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK

Ocak 2014, 75 sayfa

Mermer gibi çeşitli kayaçlar tarihi eserlerin yapısında kullanılmasının yanı sıra, özellikle mutfak, banyo ve havuz gibi suya ve neme maruz kalan ıslak zeminlerin yapımında kullanılmaktadır. Islak zeminlerde mikroorganizma faaliyetinin yoğun olması ve halk sağlığını tehdit edici mikroorganizmaların gelişmesine alt yapı oluşturması açısından iki farklı bakterinin bazı mermer tipleri üzerinde canlılığını muhafaza etme özelliği araştırılmıştır. Bu çalışmada *Escherichia coli* ATCC26 ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* T03A001'in iki farklı mermer üzerindeki canlı kalım süreleri tespit edilmiş ve mermerler üzerindeki biyofilm özellikleri SEM/EDX çalışmalarıyla belirlenmiştir. Sonuçlar, her iki bakteri türünün mermerler yüzeyinde kalsifikasyona sebep olduğunu ve *E. coli* ATCC26 suşunun *B. thuringiensis* var. *kurstaki* T03A001 suşu ile kıyaslandığında mermerler yüzeyinde daha aşındırıcı olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Mermer, kalsifikasyon, karbonatogenesis, taşın biyomineralizasyonu, indikatör bakteri, aerobik-mezofilik bakteriler, heterotrofik mikroorganizmalar, *Escherichia coli*, *Bacillus thuringiensis*, halk sağlığı, hijyen

SUMMARY

DETERMINATION OF SURVIVAL TIME OF ESCHERICHIA COLI AND BACILLUS THURINGIENSIS SPECIES ONTO VARIOUS MARBLE

KOÇ, Hasan Hüseyin

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK

January 2014, 75 pages

Historical monuments and building are made of stones such as marble. In addition, marble have been used for kitchen and bathroom which is exposing to water and moisture. Microorganisms have intensive activity on wetting grounds and floors. The activity has been important because of threatening public health. Some microorganisms have caused infections which are contaminated from surface of stones. In this study, two different types of bacteria which are *Escherichia coli* ATCC26 and *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* T03A001, were investigated for their viability of onto marble types. Survival of viability on the marbles for both bacterium and their activity were determined. Characteristic of these bacterial biofilm were analyzed SEM /EDX studies. Results showed that two bacterium caused calcification relation to bioprecipitation on two type of marbles. *E. coli* ATCC26 bacterium compared to *B. thuringiensis* var. *kurstaki* T03A001 was shown to be deteriorate on marbels.

Keywords: Marble, calcification, carbonategenesis, biominerilization of stone, indicator bacteria, aerobic mesophilic bacteria, heterotrophic microorganisms, *Escherichia coli*, *Bacillus thuringiensis*, public health, hygiene

ÖN SÖZ

Son yıllarda, tarihi ve kültürel yapı, kabartma ve heykellerin korunması ve temizliği, taş üzerindeki mikrobiyal faaliyetler ve etkileri yoğun olarak araştırılmaktadır. Banyo, tuvalet, havuz vb. gibi ıslak zeminlerde kullanılan mermerlerin mikroorganizmaları barındırıp barındırmadığının tespiti insan sağlığının korunması açısından oldukça önemlidir. Bazı mikroorganizmaların çeşitli yüzeyler üzerine tutunmalarının ve çoğalmalarının kolay olması enfeksiyonların yayılmasını da kolaylaştırmakta ancak materyallerin yüzeyini temizleyerek mikroorganizmaları bu tip ortamlarda tümüyle uzaklaştırmanın mümkün olmadığı yapılan bu çalışma ile de desteklenerek ortaya konmuştur. Bu çalışma ile özellikleri birbirinden farklı iki mermer çeşidi üzerinde *E. coli* ve *B.thuringiensis*'in canlı kalım sürelerinin belirlenmiş, mermerlerde meydana gelen değişiklikler de tespit edilmiştir.

Yüksek lisans tez çalışmamın yürütülmesi esnasında, çalışmalarına yön veren, bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen ve her türlü desteği sağlayan danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda kullanılan mermerlerin temini ve özelliklerinin belirlenmesinde yardımından dolayı Sayın Doç. Dr. Zeki KARACA'ya teşekkür ederim. Ayrıca Kimya Bölümü laboratuvarı ve cihazların kullanımında yardım ve destekleri için Sayın Doç. Dr. Emel BAYOL'a teşekkür ederim.

Sadece tez çalışmam boyunca değil tüm yaşıntım boyunca desteğini her zaman hissettiğim, laboratuvar çalışmalarımda en büyük destekçim olan yol arkadaşım ve meslektaşım Sayın Hatice Nur YİŞİL'e en içten teşekkürümü sunarım. Ayrıca destek ve yardımlarından dolayı Sayın İrfan İŞÇİ'ye teşekkür ederim

Öğrenim hayatım ve tez çalışmam boyunca maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan AİLEME'e teşekkür ederim.

Bu çalışmaya FEB 2012/04 numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xii
SİMGE VE KISALTMALAR	xiii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II TAŞLAR VE KULLANIM ALANLARI.....	3
2.1 Türkiye'nin Mermer Rezervi.....	4
2.2 Gündelik Yaşamda Kullanılan Mermerler.....	4
BÖLÜM III TAŞ İLE İLGİLİ PROBLEMLER	6
3.1 Bozunma (Deterioration)	7
3.1.1 Fiziksel bozunma	8
3.1.2 Kimyasal bozunma	8
3.1.3 Biyolojik bozunma (Biodeterioration).....	9
3.2 Bitkilerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma.....	11
3.3 Hayvanların Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma	12
3.4 Mantarların Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma	12
3.5 Likenlerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma.....	13
3.6 Alglerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma.....	15
3.7 Bakterilerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma	16
BÖLÜM IV ÇEVRE SAĞLIĞI VE HİJYEN	19

4.1 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 'nin Genel Özellikleri	19
4.2 <i>Escherichia coli</i> 'nin Genel Özellikleri	22
BÖLÜM V MATERYAL VE METOT	25
5.1 Materyal	25
5.1.1 Mermerlerin hazırlanması ve özelliklerinin belirlenmesi	25
5.1.2 Kullanılan cihazlar	25
5.2 Metot	26
5.2.1 Mikroorganizmaların geliştirilmesi	26
5.3 Deney Ortamları	27
5.4 Mermerlerin Çevresindeki Sulu Çözeltinin Madde Miktarının Belirlenmesi	28
BÖLÜM VI BULGULAR VE TARTIŞMA	30
6.1 Bakteri Sayım Sonuçları	30
6.2 Mermerlerdeki Kütle Kaybının Tespiti	33
6.3 SEM ve EDX Sonuçları	34
6.4 Mermerlerin Çevresindeki Sulu Çözeltinin Madde Miktarının Belirlenmesi	50
BÖLÜM VII SONUÇLAR VE ÖNERİLER	51
7.1 Sonuçlar	51
7.1 Öneriler	52
KAYNAKLAR	53
ÖZ GEÇMİŞ	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Biyolojik organizmaların doğal taşlar üzerinde etkileri	11
Çizelge 5.1. Mermerlerin fiziksel özellikleri	25
Çizelge 5.2. Mermerlerin kimyasal özellikleri	25
Çizelge 6.1. Mermerlerin EDX analiz sonuçları.....	49
Çizelge 6.2. Mermer test ortamlarındaki sulu çözeltide kalan çökeltiiler	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Gaz halindeki kirleticilerin doğal taşlar üzerine etkisi	9
Şekil 6.1. <i>B.t. kurstaki</i> suşunun mermerler yüzeyindeki canlı bakteri sayım sonuçları .	31
Şekil 6.2. <i>E. coli</i> içeren deney ortamında mermerler yüzeyindeki canlı bakteri sayım sonuçları.....	31
Şekil 6.3. Mermerlerin çevresinde bulunan sulu çözeltideki bakteri miktarları	33
Şekil 6.4. Mermerlerin yüzeylerindeki bakteri miktarları	33
Şekil 6.5. Mermerler üzerindeki bakteriyel aşınma miktarları	34
Şekil 6.6. Kontrol ortamındaki YW'nin 1.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	37
Şekil 6.7. Kontrol ortamındaki YW'nin 25.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	37
Şekil 6.8. Kontrol ortamındaki YW'nin 43.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	38
Şekil 6.9. YW üzerindeki <i>B.t. kurstaki</i> etkilerinin 1.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu	38
Şekil 6.10. YW üzerindeki <i>B.t. kurstaki</i> etkilerinin 25.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu	39
Şekil 6.11. YW üzerindeki <i>B.t. kurstaki</i> etkilerinin 43.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu	39
Şekil 6.12. YW üzerindeki <i>E. coli</i> etkilerinin 1.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	40
Şekil 6.13. YW üzerindeki <i>E. coli</i> etkilerinin 25.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	41
Şekil 6.14. YW üzerindeki <i>E. coli</i> etkilerinin 43.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	41
Şekil 6.15. Kontrol ortamındaki AS'nin 1.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	42
Şekil 6.16. Kontrol ortamındaki AS'nin 25.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu	43

Şekil 6.17. Kontrol ortamındaki AS'nin 43.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	43
Şekil 6.18. AS üzerindeki <i>B.t. kurstaki</i> etkilerinin 1.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu	44
Şekil 6.19. AS üzerindeki <i>B.t. kurstaki</i> etkilerinin 25.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu	44
Şekil 6.20. AS üzerindeki <i>B.t. kurstaki</i> etkilerinin 43.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu	45
Şekil 6.21. AS üzerindeki <i>E. coli</i> etkilerinin 1.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	46
Şekil 6.22. AS üzerindeki <i>E. coli</i> etkilerinin 25.gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu.....	46
Şekil 6.23. AS üzerindeki <i>E. coli</i> etkilerinin 43.gün yüzey SEM migrografı ve EDX spektrumu.....	47

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 5.1. Katı besiyerinde tek düşürülmüş bakterilerin görüntüleri.....	27
Fotoğraf 5.2. a) Deney ortamları b) Mermer örneğinin steril petri içersine alınması ...	28
Fotoğraf 6.1. AS mermeri üzerindeki <i>B.t.kurstaki</i> 'nin etkileri	35
Fotoğraf 6.2. AS mermeri üzerindeki <i>E. coli</i> 'nin etkileri	35
Fotoğraf 6.3. Kontrol ortamındaki AS mermerinin durumu.....	35
Fotoğraf 6.4. YW mermeri üzerindeki <i>B.t.kurstaki</i> 'nin etkileri	35
Fotoğraf 6.5. YW mermeri üzerindeki <i>E. coli</i> 'nin etkileri	36
Fotoğraf 6.6. Kontrol ortamındaki YW mermerinin durumu	36

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

H₂CO₃

H₂SO₄

NaCl

NO

NO₂

S

SO₂

SO₃

Açıklama

Karbonik asit

Sülfürik asit

Sodyum Klorür

Nitrik oksit

Nitrik di oksit

Kükürt

Kükürt di oksit

Kükürt tri oksit

Kısaltmalar

AS

ATCC

Btk

EDX

ICP-MS

rpm

SEM

SF

UV

YW

Açıklama

Aegean Silver Mermeri

American Type of Culture Collection

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki*

Enerji Dağılımlı X-Ray Analizi

Endüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi

Dakikadaki Devir Sayısı

Taramalı Elektron Mikroskobu

Serum Fizyolojik

Ultraviyole Işın

Yatağan White Mermeri

BÖLÜM I

GİRİŞ

Mermer ve mermer olarak adlandırılan kireçtaşı, traverten ve granit gibi doğal yapı taşları yüzyıllardan beri yapı ve heykel malzemesi olarak kullanılmaktadır. Anadolu, antik dönemden günümüze kadar, hemen her dönemde önemli bir doğal taş üretim, işleme ve kullanım merkezi olmuştur. Efes gibi antik şehirlerin yanı sıra Selçuklu ve Osmanlı dönemlerinde cami, medrese, han ve hamam gibi yapılarda doğal yapı taşları yaygınca kullanılmıştır. Sadece Osmanlı dönemine ait eserler değil dünyadaki tüm tarihi yapılar ve eserler olumsuz çevre şartlarına maruz kalmaktadır. Geçmişten günümüze yapılan tüm eserler incelendiğinde genel olarak yapıların aşındığı ve ilk yapıldığı günden bu yana çok değiştiği ve bozulduğu görülmektedir. Bu bozulma etkenleri arasında mikroorganizmalar başta olmak üzere pek çok biyolojik faktör rol oynamaktadır (Warscheid ve Braams, 2000; Gaylarde ve Morton, 1999; Crispim ve Gaylarde, 2005).

Son yıllarda, tarihi ve kültürel yapı, kabartma ve heykellerin korunması ve temizliğine yönelik araştırmalar artarak yapılmakta olup, taş üzerindeki mikrobiyal faaliyetler ve etkileri yoğun olarak çalışılmaktadır. Diğer taraftan, günümüzde gelişen ekonomiler ve alım gücü artışı, doğal malzemelere olan talep dünya doğal taş üretimi ve tüketimini arttırmaktadır. Türkiye, özellikle sahip olduğu karbonatlı doğal yapı taşı rezervleri ve mermer endüstrisi ile dünyanın başlıca doğal taş üreticisi ve sayılı tüketici ülkeleri arasındadır (Aycan, 2007; Tunca vd., 2007).

Taş, doğal bir materyal olduğu için tüm dünyada eskiden olduğu gibi günümüzde de bol miktarda kullanılmaktadır. Sadece zamana karşı direnen yapı ve eserlerin üretilmesi değil, aynı zamanda uygun ortamlarda uygun taşların kullanılması, taşların aşınmaya karşı direnmesi açısından ve halk sağlığı açısından da önemlidir. Bu amaçla halkın bireysel veya toplu kullandıkları çevrelerde mikroorganizma varlığının belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması önemli bir sorumluluktur (Yumuturuğ, 1988). Mermer ve granit gibi doğal taşlar ve ürünleri (taşıyıcı, döşeme, kaplama, heykel ve kabartma) atmosferik etkilere açık kullanım yerlerinde bazı fungus, mikroalg, liken ve çeşitli

bakterilerin yer aldığı mikroorganizmaların yanı sıra karayosunları ve eğrelti otları gibi organizmaların faaliyetleri neticesinde aşınmaktadır. Bu yaşamsal faaliyetler neticesinde taş ürünlerde çeşitli kimyasal ve fiziksel bozulmalar görülmektedir (Kumar ve Kumar, 1999; Northup ve Lavoie, 2001; Khobragade vd., 2006; De losRios vd., 2009).

Doğal taşların kültürel eserler ve yapılar dışında da kullanım alanları oldukça fazladır. İnsan sağlığı için son derece önemli olan mutfak tezgâhlarında, duş teknelerinde, küvette, havuz içi ve kenar kaplamalarında doğal taş ürünlerinden mermer oldukça fazla kullanılmaktadır. Banyo, tuvalet, havuz vb. gibi ıslak zeminler enfeksiyon hastalıklarının insandan insana geçişini kolaylaştıran ortak kullanım alanlarıdır. Bu alanların temizliği insan sağlığının korunması açısından oldukça önemlidir. Bazı mikroorganizmaların çeşitli yüzeyler üzerine tutunmalarının ve çoğalmalarının kolay olması enfeksiyonların yayılmasını da kolaylaştırmakta, sadece temizleyerek mikroorganizmaları bu tip ortamlarda uzaklaştırmak mümkün olmamaktadır. Literatürde, antik ve tarihi doğal taş yapı ve ürünler üzerinde yapılan araştırmalara karşın, hangi doğal taş türünün daha sağlıklı, daha hijyenik olduğu konusunda herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışma ile pratikte çok kullanılan bazı mermer tiplerinde hetetrofik fakültatif aerobik-mezofilik iki bakteri türünün canlı kalım süreleri belirlenmiş ve ıslak zeminlerde kullanılan mermerlerin iki tür bakteriyi (*Escherichia coli* ATCC26 ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* T03A001) ne kadar süre barındırdığı ve ne tip etkiler yaptığı çalışılmıştır. Deneyler sonrasında mermer yüzeylerinin morfolojisindeki değişimin incelenmesi için SEM ve EDX analizleri yapılmıştır. Bu çalışma ile bu bakterilerin mermerler üzerindeki kalım süreleri ve etkileri sonucunda literatüre yeni bilgiler kazandırılmıştır.

BÖLÜM II

TAŞLAR VE KULLANIM ALANLARI

Doğal taşlar, insanlar tarafından yapı, tasarım ve sanat eserleri malzemesi olarak geçmişten günümüze dek kullanılan malzemelerdir. Tarih boyunca dünyanın pek çok yerinde taşlar kullanılarak çeşitli binalar, kiliseler camiler, medreseler vb. eserler yapılmıştır. Anadolu topraklarında da özellikle Eski Yunan, Roma, Bizans, Selçuklu ve Osmanlı dönemlerinde doğal taştan yapılmış sayısız eser bulunmaktadır. Selçuklu ve Osmanlı mimarisinde kireçtaşı ve tüfler büyük bir ustalıkla işlenerek cami, medrese ve han gibi binaların dış ve iç mekanlarını süslemiştir. Cumhuriyet döneminde de Ankara ve İstanbul gibi büyük şehirlerde büyük binaların doğal taşlar ile yapılmasıyla taş işçiliğinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir (Çelik, 2003; Akman, 2003).

Daha sonraki yıllarda ise teknolojik gelişmelere paralel olarak yeni yapı malzemelerinin kullanılmaya başlanması sonucunda taş işçiliği uzun yıllar ikinci planda kalmış ve zamanla kaybolmaya yüz tutmuştur. Fakat son yıllarda insanoğlunun çevre bilinciyle birlikte, hayat ve yaşam anlayışındaki değişimler yeni yapılacak yapılarda doğal malzemelerin kullanımına yön vermektedir. Günümüzde ülkemizde de özellikle büyük şehirlerde ve turistik yörelerde, hem yapılarda hem de topluma açık ve kapalı alanlarda doğal taşlar kullanılmaya başlanması doğal taşların kullanım alanlarını giderek arttırmıştır (Gümüüşü ve Turgut, 2012; Çelik, 2003). Zamanla kullanımı artan doğal taşlar günümüzde özellikle inşaat, kaplama, döşeme, heykeltçilik, mezar taşı yapımı, mıcır, porselen ve cam sanayi, optik sanayi ve süs eşyası yapımında kullanılmaktadır. Doğal taş sektörü, son dönemde yeni üreticilerin de pazara girmesiyle ivme kazanan hem ülkemiz hem de dünya ticareti için önem arz eden sektörler arasındadır (Uyanık, 2010).

Yapılarda kullanılan doğal taşlar tabiatla bol miktarda bulunmakla beraber her taşın bileşimi, özelliği, rengi, sertliği birbirinden farklıdır. Taşlar bu özelliklerini yapısında bulunan minerallerin cins ve miktarından alırlar. Yapılarda kullanılan taşlar içerisinde granit, kireçtaşı, mermer, kumtaşı, serpentin, traverten, andezit ve bazalt sayılabilir (Gökçen, 2007; Özdoğlar, 2012).

2.1 Türkiye'nin Mermer Rezervi

Ülkemizde doğal taşlar pek çok bölgede farklı çeşitlerde bulunmakta ve bölgesel olarak işlenmektedir. Türkiye'nin çok çeşitli ve zengin doğal taş rezervlerine sahip olduğunu tarihimize baktığımızda topraklarımızda yaşamış medeniyetlerin inşa etmiş oldukları tarihi yapılardan anlamak mümkündür (Turgay, 2012).

Türkiye, dünyanın en zengin mermer yataklarının bulunduğu Alp-Himalaya kuşağında yer almaktadır. Türk doğaltaş sektörü; çeşit ve rezerv zenginliği, sektör deneyimi, ham madde bolluğu, deniz ulaşımında nakliye kolaylığı, dinamik sektör yapısı, kullanılan yeni teknolojiler ve geniş renk alternatifleri ile dünya doğal taş piyasasında önemli bir yere sahiptir. Dünya doğal taş sektörünün pazar büyüklüğü 20 milyar dolardır ve üretimin %70'i Türkiye'nin de içinde bulunduğu 7 ülke tarafından yapılmaktadır (Uyanık, 2010).

2.2 Gündelik Yaşamda Kullanılan Mermerler

Kültürel eserler ve yapılar dışında da kullanım alanları oldukça fazla olan doğal taşlar, farklı oluşum ve özellikleri ile yapılardaki kullanım yerleri ve amaçları da farklıdır. Örneğin; doğal taşların birim hacim ağırlığı, ağırlıkça su emme yüzdesi, don olayına dayanıklılığı, aşınma ve darbelere direnci deneylerle ölçülerek taşıyıcı veya yüzey elemanı ya da dolgu malzemesi olarak kullanım amacı belirlenir (Gürani ve Canpolat, 2012).

En fazla tüketilen doğal taş olan mermerin başlıca tüketim alanları inşaat sektörü ve dekorasyondur. En geniş kullanım alanını ise inşaat sektörü teşkil eder. Binaların iç ve dış kaplamaları, dekorasyon işleri, anıtlar, heykeller ile süs ve hediyelik eşya imalatı önemli tüketim alanlarını oluşturur. Özellikle binaların iç kısımlarında yer döşemesi ve duvar kaplamaları, merdiven basamakları, sütunlar, şömine ve insan sağlığı için son derece önemli olan mutfak tezgâhlarında, duş teknelerinde, küvette, mutfak ve banyolarda kullanılır. İç dekorasyon malzemesi olarak hijyen açısından önemli olan mutfak tezgâhı, havuz içi ve kenar kaplamalarında, masa, sehpa ve çeşitli mobilyaların üretiminde kullanılır. Hediyelik eşya ve el sanatları alanında ise, vazo, biblo, avize, şekerlik, kül tablası vs. yapımında özellikle renkli mermerler kullanılmaktadır. Ayrıca,

mezar ve mezar taşlarında da önemli miktarda mermer kullanılmaktadır (Çelik, 2003; Azizoğlu, 2005).

Ülkemizde, mermer üretiminin büyük bir kısmı Muğla'nın Milas, Yatağan ve Kavaklıdere ilçelerindeki mermer fabrikalarında gerçekleştirilmekte olup ülkemizin en büyük üreticisi durumundadır. Son yıllarda çok büyük gelişme kaydeden mermer ocak işletmeciliği ve mermer işleme fabrikalarının sayısında oldukça büyük bir artış görülmektedir. Muğla yöresinde üretilen mermerler renk ve kalite olarak tüm dünya piyasalarında aranılan nitelikte olması nedeni ile büyük çapta ihracat yapılmakta, geri kalan büyük bir kısım ise turistik sahil kesiminde kullanılmaktadır (Bağcı, 2006).

BÖLÜM III

TAŞ İLE İLGİLİ PROBLEMLER

Mikroorganizmalar başta olmak üzere çeşitli canlıların taş yüzeyinde oluşturdukları aşınmalar şimdiye kadar tarihi eserlerde, yapılarda ve tarihi eser kalıntılarında araştırılmıştır. Taş yapısına, tarihi eserlerin yer aldığı coğrafik özelliklere ve çevresel faktörlere bağlı olarak farklı mikroorganizmaların zaman içerisinde tarihi eserler üzerinde çeşitli seviyelerde aşınmaya, bozulmalara ve renk değişikliklerine yol açtığı tespit edilmiştir (Cutler ve Viles, 2010; De Belie, 2010).

Canlı, cansız bütün varlıklar üzerinde zararlı etkileri bilinen ve özellikle kentsel ortamlarda yüksek oranlarda bulunan atmosferik kirleticiler, yağmur, kar, nem, sis, rüzgar, sıcaklık ve güneş ışığı gibi atmosferik faktörler ile birleştiğinde yapıların bütününde veya dış kabuğunu oluşturan doğal taşları etkiler ve taşın cinsine bağlı olarak da büyük çeşitlilik ve değişkenlik gösteren hasar ve bozunmalar meydana gelir. Kirleticilerin taş yüzeyinde birikmesi sonucunda parlaklık kaybı, çiçeklenme ve kararma gibi çeşitli bozunmalar oluşmaktadır. Bunlara ek olarak kültür mirasları üzerinde yapılan yanlış restorasyon ve korumalar da kültür varlıklarının bozunmasını hızlandırmaktadır (Gökçen, 2007; Warscheid ve Braams, 2000).

Kayaçların aşınması biyolojik, kimyasal ve fiziksel faktörlerin toplam etkisiyle gerçekleşmektedir. Özellikle fotootorof olarak gelişen canlıların daha sonraki hetetrofik organizmalara zemin oluşturduğu ve bu süreç içerisinde taşın kimyasal ve yapısal özelliklerinin bozulduğu belirlenmiştir (Kumar ve Kumar, 1999; Khobragade vd., 2006). Şimdiye kadar taşın aşınması üzerinde etkili ve doğal olarak bulunan mikroorganizmaların belirlenmesine yönelik bazı çalışmalar şu şekilde özetlenebilir.

Taş, beton, briket gibi malzemelerin üzerinde biyolojik türlerin gelişmesi bu malzemelerin doğal yapısı içerdiği mineraller, pH, tuz içeriği ve nem gibi özelliklere bağlı olmakla birlikte sıcaklık nispi nem, ışık koşulları, rüzgar, yağmur ve atmosferik kirlilik düzeyine de bağlıdır. Kısaca canlıların taş ve benzeri materyallerin yüzeyinde

kolonize olabilmeleri, ekolojik şartlara ve canlının fizyolojik ihtiyaçlarına göre değişmektedir (Caneva ve Salvadori, 1988; Kumar ve Kumar, 1999).

Beslenme gereksinimlerine göre canlılar; ototroflar ve heterotroflar olmak üzere temelde iki gruba ayrılır. Bütün ototrofik organizmalar için temel besinsel gereksinimlerden olan mineraller taş yüzeyinde bulunmaktadır. Buna karşın heterotrofik organizmalar sadece yüzeyde organik materyal bulunduğunda söz konusudur. Dolayısıyla insan ve hayvanların yaşadığı ortamlarda normal floranın bir şekilde çevreye bulaşması neticesinde taş, toprak ve sularda hetetrofik mikroorganizmaların yayılması oldukça kolaylaşmaktadır. Bununla beraber, doğada çürümüş bitkisel ve hayvansal atıklar da hetetrofik mikroorganizmaların çoğalması üzerine etkilidir (Madigan vd., 2012).

Ototrofik mikroorganizmaların çoğu ve bitkiler gibi yüksek organizasyonlu canlılar, tutundukları bazı taş tiplerini, asit retetek parçalayabilirler (Kumar ve Kumar, 1999; Salvadori, 2003). Heterotrofik organizmalar da organik asit ürettiklerinden katyonların taş yüzeyinden ayrılmasını sağlayarak taşları zerler. Katyonların taş mineralleriyle oluşturduğu erimeyen tuzlar ve kelatlar taşın yüzeyinde bir kabuk tabakası oluştururken bazı erimiş olanlar ise zamanla yüzeyden yıkanarak gözeneklerin oluşmasına ve aşınmalara neden olmaktadır. Ayrıca, aerobik mikroorganizmaların solunumu sonucunda ortaya çıkan karbondioksit, karbonik aside dönüşerek mermer ve granit gibi taşların aşınmasını hızlandırmaktadır (Gadd, 1999; Kumar ve Kumar, 1999; Northup ve Lavoie, 2001; De losRios vd., 2009).

3.1 Bozunma (Deterioration)

Sanatsal ifade için araç olarak kullanılan taşlar, antik anıtlardan tarihi binalara ve küçük ölçekli heykellere kadar geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir (Warscheid ve Braams, 2000). Kültürel miraslarda kullanılan taş ve taş yapıtların korunması, yıpranmasının engellenmesine yönelik çalışma ve incelemeler son iki yüzyılda önemli ölçüde artmıştır. Taşların aşınma mekanizmalarının araştırılmasında organizmaların etkinlik seviyelerinin tespit edilmesine yönelim vardır (Cifferi, 1999; Kumar ve Kumar, 1999; Hawks, 2001).

Her maddenin bir değeri olduğundan biyolojik bozunmanın da önemli bir ekonomik boyutu vardır. Bir organizmanın herhangi bir yüzey üzerinde gelişmesi, yüzey özelliklerine ve bileşenlerine (mineral bileşenler, pH, farklı minerallerin nispi oranları, tuzluluk, yumuşaklık-sertlik derecesi, nem içeriği) bağlıdır. Bu aynı zamanda birtakım çevresel faktörlere de (sıcaklık, nispi nem, ışık, atmosferin kirlilik seviyesi, rüzgar, yağış miktarı) bağlıdır. Bu faktörlerin tümü birlikte biyolojik bozunmaya sebep olur ve bunlar ile bozunmaya sebep olan organizmalar bir bütün olarak ele alınmalıdır (Özkan, 2009; Allsopp vd., 2004; Herrera ve Videla, 2004; Kumar ve Kumar, 1999).

Bozunma tipleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak üç şekilde incelenebilir.

3.1.1 Fiziksel bozunma

Doğal taşların ayrışmasına neden olan başlıca fiziksel etkenler; su ve rüzgar erozyonu, basınç, sıcaklık, yağmur, tuz, donma-çözünmeden kaynaklı basınç, ısı genleşme, su nedeniyle şişme, bina üzerindeki yükler, iç gerilme, bitki ve organizmaların mekanik etkileridir. Organizma materyali besin kaynağı olarak kullanmadan bozar ve değiştirir. Bu tür bozunmaya örnek olarak kaya tabakaları arasında mikroorganizmaların yığılması kayaların parçalanmasıdır. Fiziksel ayrışmada kimyasal bir değişiklik meydana gelmez, tane parçalanması, kırık ve çatlaklıklar meydana gelir (Allsopp vd., 2004; Gökçen, 2007; Kariya ve Nielsen, 2002).

3.1.2 Kimyasal bozunma

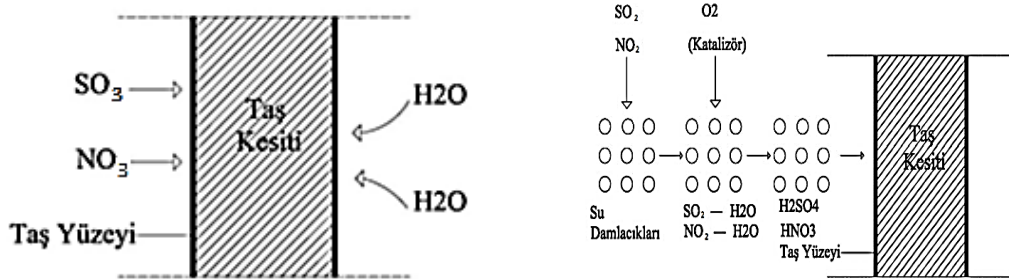
Kimyasal Bozunma; kayalarda minerallerin uzaklaşması ve değişime uğrayarak yeni minerallerin oluşması sonucu minerallerin iç yapısının değişimine neden olan karmaşık süreçler topluluğudur. Her taşın kimyasal bileşimi birbirinden farklıdır ve özellikle yapısında su ile reaksiyona girebilen bileşikler bulunduran taş veya kayaların kimyasal bozunması daha ileri seviyededir (Gökçen, 2007).

Kimyasal ayrışma mekanizmaları oksitlenme, indirgenme, hidrasyon, hidroliz, çözelti oluşumu, katyon değişimi, karbonatlaşma reaksiyonlarından oluşur. Kimyasal ayrışma sonucunda yeni mineraller oluşur ve dokusal renk değişiklikleri nedeniyle mineral

malzemesi kaybı olur. Kimyasal ayrışma sonucunda ise kireçtaşı yüzeyinde jipsler oluşmaktadır. SO_2 , NO_2 , CO_2 , asit yağmurları ve partikül maddelerin kireçtaşı yüzeyinde meydana getirdikleri reaksiyonlar sonucu kimyasal bozunmalar meydana gelmektedir (Gökçen, 2007).

Büyük şehirlerde ve endüstri bölgelerinde oluşan gazlar, yağmurla toprağa ya da taş üzerine inerler. Bunlar su ile birleşince asitleri oluştururlar. En önemlileri CO_2 (karbondioksit), S (kükürt), SO_2 (kükürt dioksit), SO_3 (kükürt trioksit), NO (nitrik oksit), NO_2 (nitrik dioksit) ve klor gazları taşlara en çok zarar veren gazlardır. Bunlar kömür, doğal gaz, petrol gibi doğal yakıtlardan oluşur. Taş üzerindeki bazı reaksiyonlar şu şekildedir (Dal, 2005);

- ▶ $CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3$ (karbonik asit)
- ▶ $3NO_2 + H_2O \longrightarrow 2HNO_3 + NO$ (nitrik asit)
- ▶ $SO_3 + H_2O \longrightarrow H_2SO_4$ (sülfürik asit; taşlarda erime yapar)



Şekil 3.1. Gaz halindeki kirleticilerin doğal taşlar üzerine etkisi (Gökçen,2007).

3.1.3 Biyolojik bozunma (Biodeterioration)

Biodeterioration yani biyolojik bozunma terimi yaklaşık 40 yıldır kullanılmasına rağmen insanların maddeleri işleyip kullanmaya başladığı yıllardan günümüze kadar uzanan bir süreci ifade eder. Hueck isimli araştırmacı biyolojik bozunmayı şu şekilde tanımlamıştır; “Bir materyalin bileşenlerinde canlı organizmaların sebep olduğu istenmeyen değişikliklerdir” (Allsopp vd., 2004). Biyolojik bozunma; bir maddenin özelliklerinin canlı organizmaların hayati etkinlikleri sonucu istenmeyen şekilde

değişmesi veya geriye dönüşümsüz olarak kaybedilmesi şeklinde de yorumlanabilir (Kumar ve Kumar, 1999).

Taşın değişimi ve aşınması temelde doğal ve antropojenik olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkiler sayesinde olur. Taşın biyolojik olarak bozunması direk olsun ya da olmasın tüm çevresel etmenler ile ilişkilidir. Taş yüzeyindeki mikrofloranın artışı, yüzeyi kaplayan biyofilm formasyonunun oluşumu, besin ve nem ile olmaktadır. Biyolojik bozunma süreçlerinin tespiti için uygun disiplinler arası tanı ve değerlendirmeler yapılmalıdır. Biyosidal uygulamaların yanı sıra, temizleme prosedürleri ve koruyucu işlemler taş üzerinde oluşan mikrobiyal kirliliğin azalması üzerinde etkilidir (Warscheid ve Braams, 2000).

Biyolojik bozunma ile ilgili organizmaları mikroorganizmalar ve makroorganizmalar olarak ikiye ayırabiliriz. Mikro ve makroorganizmaların varlığı tek başına bozunmanın sebebi olarak görülemez. Çünkü yalnız belli şartlarda ve diğer faktörlerde yeterince iyi olduğunda bu organizmalar bozunmaya sebep olabilirler. Yani biyolojik bozunmanın bileşenleri; organizmalar, materyaller, çevre şartları ve insanlardır. Bu dört bileşenin hepsi birbiri ile ilişkilidir ve birini ele almadan diğerlerini incelemek mümkün değildir (Özkan, 2009). Çizelge 3.1’de taş üzerinde etkili canlı grupları özetlenmiştir.

Çizelge 3.1. Biyolojik organizmaların doğal taşlar üzerinde etkileri
(Dal, ve Irgas, 2012; Kumar ve Kumar, 1999).

Biyolojik Organizma Türü	Doğal Taşa Etkisi
Ototrof bakteriler	Siyah kabuklar, kahverengi siyah patinalar, pulpul dökülme, kabarma.
Heterotrof bakteriler	Siyah kabuklar, kahverengi siyah patinalar, pulpul dökülme, renk değişimi.
Actinomyces	Beyaz-gri kabartı, patinalar, pul pul dökülme, beyaz lekeler.
Mantarlar	Renklenmiş tabakalar, pul pul dökülme, çukurlar.
Yeşil yosunlar	Değişik renkli ince film tabakası oluşumu ve patinalar.
Likenler	Kabuklar, parça kabuklaşmalar, çukurlar.
Kara yosunları	Yeşil-gri renkte geniş yüzeyleri kaplayan tabakalar.
Yüksek bitkiler	Çimen, funda ve yarıklarda yetişen ağaçsı türler, malzemede kopma ve deformasyona neden olma.
Hayvanlar, böcekler, kuşlar	Tipik şekilli delikler, paslanmaya neden olabilecek maddelerin birikmesi, çatlaklar.

3.2 Bitkilerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma

Bitkiler ve onlara eşlik eden mikrofauna ve makrofaunalar iklim ve uygun çevre koşullarında rahatlıkla gelişebilmektedirler. Benzer şekilde substrat ve çevre koşulları elverişli olduğunda arkeolojik ve mimarideki taş eser yüzeylerinde de yaygınca gelişebilmektedirler. Yıpranan taşlar üzerine rüzgarla bir miktar toprağın taşınması ve atmosferdeki toz bulutlarından da bir miktar ilavesiyle ortam bitki tohumlarının çimlenmesine elverişli duruma gelmektedir. Yeterli suyun ve ışığın olduğu durumda substratının gözenekli yapısı bitkilerin gelişmesi için uygundur. Oluşan bitki örtüsü fiziksel problemler oluşturduğu gibi taşın yüzeyini kaplayarak görsel kirlilik oluşturur. Bu olay, yapının mekanik ve kimyasal doğasının bozunmasında rol oynar. Bitkinin gelişimi, substrat üzerindeki mekanik hasarın büyüklüğü hakkında bize bilgi verir. Asidite ve jelatinimsi oluşum yapıdaki kimyasal aktivitenin nedenini oluşturmaktadır (Kumar ve Kumar, 1999; Dal ve Irgas, 2012).

Bitkiler kökleri, yaprak ve gövdelerinin tutucu ve tırmanıcı kısımları ile büyük problemlere neden olurlar. Köklerinden kaynaklanan mekanik etki, bulunduğu ortamla arasındaki iyon alış verişinden kaynaklanan kimyasal etki ve evaporasyon sonucu damlayan su, taşlar üzerinde önemli değişim ve zararlara yol açar. Bazı bitkiler ise taşın istenmeyen renklenmesine, organik ayrışmadan dolayı substratum üzerinde gözenek oluşturmaya neden olur. Ağaç köklerinin aşırı derecede gelişmesi köklerinin salgılamış olduğu asit benzeri sıvılar taşların yıpranmasına neden olmaktadır. Ayrıca kazık köke sahip olan otsu ve ağaçsı bitkilerin köklerinin büyümeleri sonucu tarihi yapıların taşlarını iterek, birbirinden uzaklaştırıp bozunmalarına neden olmaktadır (Kumar ve Kumar, 1999; Özkan, 2009).

3.3 Hayvanların Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma

Biyolojik bozunma ajanlarından birisi de hayvanlardır. Özellikle güvercinler dışkıları ile önemli miktarda estetiksel ve kimyasal zarara neden olmaktadır. Taş üzerinde güvercin pisliği, kazıma ve tırmanma gibi mekanik etkilerle estetiksel olarak zararlar olmaktadır. Ayrıca estetiksel ve kimyasal zararlarının dışında asit metabolitlerini ortaya çıkararak taşlar üzerinde aşındırıcı etki yapan kemoorganotrofik mikroorganizmalar için iyi bir ortam sağlamaktadır. Taş üzerindeki mineral karışımlar üzerinde veya içinde yaşayan çok sayıda küçük hayvanlar da vardır ki bunlardan en önemlileri örümcekler, sinekler, sivrisinekler, eşekarıları, karıncalar, keneler ve böceklerdir (Özkan, 2009; Dal ve Irgas, 2012).

3.4 Mantarların Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma

Mantarlar hetotrofik türler olup gelişimlerini taş üzerinde organik kalıntılar vasıtasıyla özellikle tropik bölgelerde gerçekleştirirler. Çürüyen yapraklar, kuş pislikleri, atık su yosunları ve gıda kaynakları ile beslenen mantarlar taş üzerinde organik madde kalıntısı olmadan büyüyüp gelişemezler. Mantarlar önemli ayrıştırıcılarıdır. Hayvan ve bitkiler ile mutualist, simbiyotik ve patojen olarak ilişkileri olup, doğal taşların hasar organizmalarıdır (Gadd, 1999; Sirt, 2011; Kumar ve Kumar, 1999).

Mantarlar her yerde bulunabilen kozmopolit türlere sahiptir. Hava ile her yere taşınabilen mantarlar bazı UV seviyelerine ve kuru şartlara da dayanıklıdır (Allsopp vd., 2004). Mantarlar taşların biyolojik bozunmalarında, yapıların kirlenmesinde oldukça etkilidirler. Mantarlar hifleri sayesinde taş üzerinde oluşan yarık ve çatlaklara penetre olarak aşınmasında etkilidir. Taş olduğu kadar, ağaç, plastik ve diğer yapı materyallerinde aynı etkiyi gösterebilirler (Hughes ve Lawley, 2003; Dal ve Irgas, 2012; Kumar ve Kumar, 1999).

Mantar, karbonat içeren kayalarda oldukça geniş bir alanda bulunmaktadır. Ayrıca çevre değişimlerine bağlı olarak granit, mermer, kumtaşı, andezit, bazalt, serpantin de bulunabilirler. Mantarların gerçekleştirdiği en önemli bozunma ise biyokimyasal etkileşimleri sebebiyle olmaktadır. Taşın biyokimyasal ayrışması, minerallerin mikrotopografisinin değişimi, oyuklaşma ve asitle oyuklaşması ile minerallerin yer değiştirme reaksiyonları ve hatta tüm mineral taneciklerin dağılmasından kaynaklanır. Nitekim mantarlar çoğunlukla taş üzerindeki kimyasal bozunma için asitler üretir ve en tanınanları nitrik, karbonik, sülfirik ve diğer organik asitlerdir. Mantarlar, mineralleri ve metal bileşiklerini asidoliz (acidolysis), kompleksoliz (complexolysis) ve redoksoliz (redoxolysis) gibi çeşitli mekanizmalar vasıtasıyla çözebilirler. Mineral bozunmasında mantarın ana etkisi, organik asit üretimine bağlı olarak asidoliz etkisidir. Mantar hem patina oluşumu hem de melaninin serbest bırakılmasına bağlı olarak taş yüzeyinde renk değişimine yol açar. Bu olay biyomekanik ve biyokimyasal olarak taşta verdiği hasardır (Dal ve Irgas, 2012; Sirt, 2011).

3.5 Likenlerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma

Likenler, mantarlar ile alglerin birleşerek, morfolojik ve fizyolojik bir bütün halinde meydana getirdikleri simbiyotik birliklerdir. Şekil ve yaşayış bakımından likenler kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen ayrı bir yapı gösterirler. Likenler ve karayosunları neredeyse tüm karasal ekosistemlerde gelişebilen kriptogamik organizmalardır ve uzun süren kuraklıklara dayanabildiklerinden dolayı aşırı çevre koşullarında bile çoğalabilme özelliğine sahiptirler (Dal ve Irgas, 2012).

Likenler yapısında bulunan mantar hifleriyle taşa penetre olurlar ve bazı asitler salgılayarak kayaca sıkıca tutunup zamanla aşınmaya neden olurlar. Su olmadığında fotosentez yapamadığı halde solunuma devam ederek yaşayabilmesi, kuru ve güneşli ortamlara dahi dayanıklı olmaları özelliği onların eski taşlar üzerinde yüzyıllarca kalmalarına olanak verir (Çakar, 2009; Özkan, 2009).

Yüksek yüzey hacim oranları, basit anatomileri ve mumsu bir kutikuladan yoksun olma özelliklerinden dolayı ağır metalleri dokularında toplayarak biriktirirler. Bu yüzden çevresel kirlenmenin önemli birer biyolojik göstergelerdir. Özellikle büyük şehirlerdeki birçok binanın kirli görüntüsü atmosferik ve endüstriyel kirlenmeye karşı dayanıklı olan küçük ama yaygın ve koyu renkli likenlerin oluşturduğu biyofilmlerden kaynaklanır. Likenlerin bu özellikleri ile biyolojik indikatörler olduğu ve hava kirliliği fazla olan bölgelerde genellikle dalsı ve yapraksı türlerin ortadan kalkıp onların yerini daha dayanıklı kabuksu türlerin aldığı bilinmektedir (Çobanoğlu, 2005; Özkan, 2009).

Normal şartlarda, çıplak kayalar üzerinde yaşamın olmadığı söylenebilir (Asan, 1993). Ancak kabuksu likenler, üzerinde su bulunduran kayalar üzerinde yaşama imkanı bulabilirler. Bunlar solunumları sonucunda dış ortama karbondioksit (CO_2) salarlar. CO_2 , dış ortamdaki su molekülleri ile birleşir ve karbonik asit (H_2CO_3) oluşur. Meydana gelen bu asit, kaya yüzeyini biraz aşındırır ve mineral maddeler bu canlıların daha iyi kullanabileceği hale gelir. Böylece liken, daha iyi büyüme ve gelişme olanağına kavuşur. Şu halde, toprak oluşumu için gerekli olan ilk faktör, kayaların çeşitli şekillerde parçalanması ve ufalanmasıdır. Kayaların parçalanma ve ufalanmasından sonra ayrışması, bitki gelişimi için son derece önemlidir. Zira ayrışma olayında mineral maddeler açığa çıkmaktadır ve bu maddeler de bitki gelişiminde önemli rollere sahiptirler (Çakar, 2009).

Liken, özellikle su azlığı gibi sebeplerle öldükten sonra, alttaki maddelerle karışır ve böylece yüzeyde, mineral ve organik maddeden oluşmuş ilk toprak meydana gelir ve zamanla kalınlığı gittikçe artar. Daha sonra aynı nedenlerle ortama karayosunları hakim olur. Bu aşamadan sonra toprak, otsu bitkileri barındırabilecek duruma gelir. Otsu bitkilerin faaliyeti ile toprak oluşumu hız kazanır ve toprak üzerinde çalılar görülmeye başlar. Bir zaman sonra ise, çalılar arasında ağaçlar görülür. Çalılar, zamanla ağaçların

rekabetine dayanamazlar ve ortamdan elimine olurlar. Böylece, daha önce çıplak kayalarla örtülü olan alan, ormana dönüşmüş olur. Ancak toprak oluşumu, her zaman ormanın meydana gelmesiyle sonuçlanmaz. İklim ve çok çeşitli başka faktörlere bağlı olarak bu zincir bir yerde kırılabilir (Dal ve Irgas, 2012).

Likenler, sulu ya da susuz ortamda yaşayabilen organizmalardır. Bu özellik onları olağanüstü çevrelerde oluşma ve yaşamalarına olanak sağlar. Siyanobakteri, Chlorophyta (yeşil alg) ve mantarlar ile beraber, kayaların üzerinde yaşam birliği kurulmasında öncü organizmalar olarak önemli bir rol oynarlar ve nispeten birkaç yılda alt tabakada kolonize olabilirler. Tüm alt yüzeyleri ile substratuma sıkı sıkıya bağlanan likenler yapısındaki hifleriyle bazen kayaları dahi eriterek, sert ortamların içlerine kadar girebilirler (Çakar, 2009).

3.6 Alglerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma

Algler, taş üzerinde etkili öncül gruplardır ve yaklaşık birkaç yılda bulunduğu substratın alt tabakasına kolonize olabilirler. Işık şiddeti, sıcaklık, pH ve nem alg toplulukları için en önemli faktörlerdir. Bu organizmalar kendilerini belirli bir substrata bağlayıp, morfoloji ve renk değişimine sebep olurlar. Genellikle çok sayıda bir araya gelerek likenik bir birleşme yaparlar (Tomaselli vd., 2000; Tiano, 2002).

Algal ve siyanobakteriyal gelişim sadece görüntü olarak çirkinlik oluşturmakla kalmayıp aynı zamanda düz yollar ve havaalanları gibi yerlerde önemli tehlike oluştururlar (Urzi ve De Leo, 2001; Gaylarde ve Gaylarde, 1999; Allsopp vd., 2004). Binaların içindeki yüzeylerde büyüyen siyanobakteriler, yeşil ve kırmızı algler çok düşük ışık seviyelerinde yaşamlarını sürdürmeye adapte olmuşlardır. Işık ve su bulunan taş ve duvarlarda sıklıkla görülürler. Bu mikroorganizmalar kolonizasyonları ve gelişmelerinin bir sonucu olarak çatlakların genişlemesi ile mekanik hasara neden olurlar ve meydana gelebilecek don olayları da bu etkilerini artırır (Albertano ve Urzi, 1999; Allsopp vd., 2004).

Bazen funguslar ve algler zarar görmemiş materyaller üzerinde gelişirken de görülebilirler. Yalnızca yüzeyi kirletir ve yığıntı oluştururlar. Bu durum materyalin

değeri ve kabul görülebilirliğini azaltır. Buna örnek olarak plastik duş perdelerinde gelişen koyu fungal koloniler verilebilir. Materyalin özelliği etkilenmez fakat bu durum istenmeyen ve kabul edilmez bir durumdur (Allsopp vd., 2004).

3.7 Bakterilerin Sebep Olduğu Biyolojik Bozunma

Beslenme gereksinimlerine göre canlılar; ototroflar ve heterotroflar olmak üzere temelde iki gruba ayrılır. Bütün ototrofik organizmalar için temel besinsel gereksinimlerden olan mineraller genellikle taş yüzeyinde bulunmaktadır. Buna karşın hetetrofik organizmalar sadece yüzeyde organik materyal bulunduğunda söz konusudur. Dolayısıyla insan ve hayvanların yaşadığı ortamlarda normal floranın bir şekilde çevreye bulaşması neticesinde taş, toprak ve sulara hetetrofik mikroorganizmaların yayılması oldukça kolaylaşmaktadır. Bununla beraber, doğada çürümüş bitkisel ve hayvansal atıklar da hetetrofik mikroorganizmaların çoğalması üzerine etkilidir (Özkan, 2009; Madigan vd., 2012).

Kayaçların aşınması biyolojik, kimyasal ve fiziksel faktörlerin toplam etkisiyle gerçekleşmektedir. Özellikle fotoototrof olarak gelişen canlıların daha sonraki hetetrofik organizmalara zemin oluşturduğu ve bu süreç içerisinde taşın kimyasal ve yapısal özelliklerinin bozulduğu, bozunma sürecinin doğrudan etkilendiği belirlenmiştir (Kumar ve Kumar, 1999; Khobragade vd., 2006; Warscheid ve Braams, 2000).

Ototrofik mikroorganizmaların çoğu ve bitkiler gibi yüksek organizasyonlu canlılar, tutundukları bazı taş tiplerini asit üreterek parçalayabildiği gibi hetetrofik organizmalar da organik asit ürettiklerinden katyonların taş yüzeyinden ayrılmasını sağlayarak taşları çözerler. Katyonların taş mineralleriyle oluşturduğu erimeyen tuzlar ve kelatlar taşın yüzeyinde bir kabuk tabakası oluştururken bazı erimiş olanlar ise zamanla yüzeyden yıkanarak gözeneklerin oluşmasına ve aşınmalara neden olmaktadır. Ayrıca, aerobik mikroorganizmaların solunumu sonucunda ortaya çıkan karbondioksit, karbonik aside dönüşerek mermer ve granit gibi taşların aşınmasını hızlandırmaktadır (Gadd, 1999; Kumar ve Kumar, 1999; Northup ve Lavoie, 2001; De losRios vd., 2009; Salvadori, 2003).

Mikrobiyal çoğalma özelliği daima taşın ortalama ağırlık kaybına yol açar. Bakterilerden dolayı değişimler sonucunda, sadece kimyasal orijinde farklılık olmayıp, siyah tortu tabakası oluşmaktadır. Ayrıca toz halinde parçalanma ve pul pul dökülmelerde görülmektedir. Mikrobiyal topluluklar, taş yüzeyinde veya bünyesinde pas, tortu, kaygan yapı gibi tabakalar oluşmasında rol alırlar (Dal ve Irgas, 2012; Tiano, 2002).

Karbonatlı kayaçların, karasal şartlarda biyolojik bozunmasının en önemli şekli olan oyukların oluşumunda, kaya yüzeyinde gelişen mantarlar, siyanobakteriler, algler, likenler gibi organizmalar etkilidir. Biyolojik oyuk oluşumunda organizmalar solunum ile dışarı CO₂ verir ve kayaç ıslak olduğunda suya CO₂ geçer, böylece zayıf asit H₂CO₃ (karbonik asit) oluşur. Bu asit doğrudan temas halindeki kaya parçalarının çözülmesine neden olur. Çözülen bu kaya parçacıklarının, kayacın diğer kısımlarına bağlanması zayıflar ve yağmur damlaları ile etrafa sıçrarlar. Böylece organizmanın bulunduğu oyuk yanında aşınma hızı ivme kazanarak çukurlar oluşturur (Dal ve Irgas, 2012; Sirt, 2011).

Doğal koşullarda mikroorganizmalar bulunduğu habitatlarda hayatta kalabilmesi için biyofilm oluştururlar. Mikroorganizmaların bir yüzeye yerleşmesi ile başlayan biyofilm süreci çok farklı form ve kompozisyonlarda olabilir. Katı yüzeyler, sucul çevreler ve özellikle tropik ve alt tropik iklimlerde neme maruz kalan maddeler de dahil olmak üzere her yerde mevcuttur (Pangallo vd., 2007., Laiz vd., 2003). Mikroorganizmalar taş yüzeyinde rastgele değil belli bölgelerde koloniler halinde yaşamayı tercih eder. Bu durum taşın aşınmasını hızlandırmakla birlikte mikroorganizmanın canlılığının devamını sağlar. Mikroorganizmalar kolonizasyonları ve gelişmeleri sonucu olarak taş yüzeyindeki çatlakların genişlemesi ile mekanik hasarlar olur ve meydana gelebilecek don olayları da bu etkilerin artmasına sebep olur (Albertano ve Urzi, 1999; Allsopp vd., 2004).

Biyofilm ve tabakalar oluşturmalarından dolayı taş yüzeyinde renk değişimi ile meydana getirdikleri estetik biyolojik bozunma mikroorganizmaların neden olduğu diğer bir etkidir. Bu, sadece taşlarda değil bir miktar ışık alan odun, boyanmış yüzeyler gibi yerlerde de meydana gelir. Gelişimleri neticesinde binalarda yeşil, pembe ve kahverengi büyük lekeler meydana getirerek çirkin görüntü oluştururlar ve bu tür

gelişim özellikle tropik bölgelerde birkaç hafta gibi çok çabuk sürede olur. Algal ve siyanobakteriyal gelişim sadece görüntü olarak çirkinlik oluşturmakla kalmayıp aynı zamanda düz yollar ve havaalanları gibi yerlerde önemli tehlike oluşturlar (Urzi ve De Leo, 2001; Gaylarde ve Gaylarde, 1999; Allsopp vd., 2004).

BÖLÜM IV

ÇEVRE SAĞLIĞI VE HİJYEN

20. yüzyılda bilim ve teknolojinin ilerlemesi ile birlikte insanoğlunun yaşadığı ortamlardaki hijyen kalitesi de buna paralel olarak artmıştır. Ancak günümüzde gerek bölgesel gerek küresel meydana gelen ciddi enfeksiyon ve salgınlar, aşılar ve antibiyotik tedavilerinin ilgi odağı olmasını sağlamıştır. Bu yüzden hijyen için gereken önem azalmaktadır. Bu durum ise en çok enfeksiyon riskinin az olduğu düşünülen ev ortamlarında görülmektedir (Tayar, 2011).

Bir birey herhangi bir patojen ile enfekte olduğunda ya da bunu taşıyıp risk altında olduğu durumlarda hedefe yönelik günlük uygulanacak hijyen, enfeksiyonun yayılmasını önleyebilmektedir. *Escherichia coli* gibi tipik bakteriler gündelik yaşamda kullandığımız çeşitli malzemeler üzerinde, ellerimizde, temizlik bezlerinde, mutfak veya banyo gibi sürekli temas halinde olduğumuz yüzeyler üzerinde canlı kalabilmekte ve diğer ortamlara bulaşabilmek için canlılığını koruyabilmektedir (Bloomfield vd., 2006). Bu nedenle sürekli temas halinde olunan ortamlarda (örneğin; mutfak ve banyo mermer yüzeyleri, temizlik malzemeleri, kapı ve pencere yüzeyleri, zemin kaplamada kullanılan mermer veya fayanslar) hijyene sağlık açısından son derece önem verilmelidir.

4.1 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin Genel Özellikleri

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* heterotrof, Gram pozitif özellikte, endospor oluşturan, fakültatif aerob gelişme özelliğine sahip, toprak kökenli bir bakteridir. İlk defa 1901 yılında Ishiwata tarafından ölü ipekböceği larvasından izole edilmiştir. Bu bakteriler tarafından üretilen protein yapıdaki parasporal kristallerin insektisidal aktivitelerini, böcek larvalarının alkali pH'ya sahip bağırsak sistemlerinde kazandığı ve bu protein yapının alkali pH'da bir kaç oligopeptide ayrılarak çeşitli bağırsak proteazları tarafından insektisidal aktivite gösteren toksine dönüştürüldüğü bulunmuştur (Lacey ve Undeen, 1986; Porter vd., 1993).

B.thuringiensis'e ait suşların 100'den fazla Lepidoptera üyesi böcek larvasına, Diptera ve Coleoptera üyelerinin çeşitli türlerine karşı patojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. *B.thuringiensis* suşlarının alfa ekzotoksin, beta ekzotoksin ve delta endotoksin olmak üzere temelde üç tip toksini sentezlediği ve toksin tiplerinin her birinin biyokimyasal yapısının ve aktivitesinin suştan suşa değişebildiği bulunmuştur. Bununla birlikte şimdiye kadar izole edilen *B.thuringiensis* alttürlerine ait suşların her birinin, farklı böcek türlerine patojen olabildiği de gösterilmiştir *Bacillus thuringiensis* serotiplerinin toksin bileşimlerinin farklı böcek türlerinde farklı şekilde reaksiyonlar verdiği ve bu durumun böceğin bağırsak kimyası ile de ilgili olduğu belirlenmiştir (Porter vd., 1993).

B.thuringiensis'in hayvan ve insan sağlığı açısından güvenirliliğinin test edildiği çalışmalarda hedefin dışındaki canlılara toksik olmadığı belirlenmiştir. Fare, sıçan, tavşan ve kobay üzerinde, *B.t.thuringiensis*, *B.t.kurstaki* ve *B.t.israelensis* preparasyonlarının oral, deri, derialtı, intraperitonal, damar içi, göz içi ve teneffüs yoluyla yapılan uygulamaları sonucunda, 10^7 - 10^8 bakteri/hayvan düzeyindeki preparasyonların akut veya kronik toksisiteye ya da enfeksiyona neden olmadığı, sadece 10^6 canlı bakteri/fare düzeyinde, fare beynine yapılan bir enjeksiyonun ölüme neden olduğu bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalarda, bu bakterinin kristal toksinlerine maruz kalan balık, kurbağa gibi diğer vertebratların, sivrisinek predatörü olan artropodların (eklembacaklıların), yumuşakçalar ve diğer su canlılarının olumsuz yönde etkilenmediği ortaya çıkarılmıştır (Krieg ve Miltenburger, 1984; Bauce vd., 2006).

Zararlılarla mücadelede sulu konsantrelerinin laboratuvar ve saha koşullarında başarılı bir şekilde kullanıldığı *B.thuringiensis*'in preparatları, sıvı ya da toz halde hazırlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda sıvı preparatların hazırlanmasındaki kolaylığa karşın, toz preparatların raf ömrünün daha uzun olduğu tespit edilmiştir (Krieg ve Miltenburger, 1984; Porter vd., 1993). Her iki formülasyon tipinin kullanıldığı yerler birbirinden farklıdır. Toz preparatların kullanıldıkları alanlarda yerleşik olma özelliklerinin (adaptasyonlarının) ve devamlılıklarını koruma oranlarının daha düşük olduğu bulunmuştur. Senkronize olmayan sivrisinek türlerinin larvaları genellikle uygulamanın yapıldığı 3. ya da 4. gün içerisinde yeniden görülmektedir. Preparatlarda yer alan kristal endotoksinler uygulamayı takiben zararlılara olan etkisini 6 dakika ile 24 saatlik bir sürede uygulama dozuna bağlı olarak etkisini gösterirken, spor

formundaki *B.thuringiensis* etkisini daha sonra ve daha uzun süreli olarak gösterebilmektedir (Porter vd., 1993; Çetinkaya vd., 1995).

B.thuringiensis preparatlarının saha etkinliğinin tespitiyle ilgili çalışmalarda, *B.thuringiensis* suşlarının doğada kalım süresini etkileyen faktörler de araştırılmıştır. Böyle bir araştırmada tuzun (NaCl) ve kısa süreli gün ışığına maruz kalmanın *B.thuringiensis* (H14)'ün aktivitesini etkilemediği belirlenmiştir. Bununla beraber, UV radyasyonuna maruz bırakılan *B.thuringiensis* sporlarının ölmesine karşın, kristal toksinlerinin halen aktif olduğu da gösterilmiştir. *B.thuringiensis*' in topraktaki kalım süresinin immünofloresan yöntemiyle belirlenmesinin hedeflendiği bir çalışmada, canlı vejetatif hücrelerinin topraktan çok hızlı bir şekilde (ilk 24 saatte % 91'inin) yok olduğu, buna karşın sporların daha uzun süre (25 °C'de 91 gün) değişmeden kaldığı belirlenmiştir. Fakat bu süre zarfında bakteri sporlarında herhangi bir şekilde germinasyonun oluştuğu gözlenmemiştir (West vd., 1984).

Zanardini vd. (2000), yaptıkları çalışmada, antik çağlardan beri kullanılan taşlar ve mermerler üzerindeki atmosferik kirleticiler ile meydana gelen biyolojik tahribatlar araştırılmış ve iki buçuk yıl süre ile dış ortamla etkileşim halinde olan örneklerin yapısında hem fiziksel hem de kimyasal değişiklikler olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin mikrobiyolojik analizinde nitrit ve sülfür okside eden bakterilere ve fotosentetik mikroorganizmalara rastlanmamış, hetetrofik mikroorganizmalardan *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *Staphylococcus lentus*, *Micrococcus roseus*, *Promicromonospora enterophila* cinslerini, funguslardan ise *Moniliella* sp.ve *Fusarium* sp. cinslerini örneklerden düşük miktarda izole etmişlerdir. Bu durumun substratın düşük su miktarına bağlı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Guamet vd. (2013), mermerden yapılan mezar taşları üzerinde meydana gelen biyolojik bozunmayı araştırmışlar ve mermer yüzeylerinden alınan örneklerde çok sayıda *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp. izole etmişlerdir. Mermer mezarların üzerindeki canlılığı yitirmiş fototrof veya hetotrof organizmalar ve toz yığınları gibi nedenlerden dolayı yüzeyin tüm heterotrofik bakteriler için organik madde kaynağı olduğu, bu nedenle materyalin zarar gördüğü tespit edilmiştir.

4.2 *Escherichia coli*'nin Genel Özellikleri

İlk kez 1185 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanan ve ilk olarak *Bacterium coli commune* olarak adlandırılan *Escherichia coli*, 1950 yılına kadar hayvanların ve insanların bağırsak florasında bulunan ve patojen olmayan mikroorganizma olarak kabul edilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda bazı serotiplerinin hastalıklara neden olduğunun ortaya çıkması ile potansiyel bir patojen olarak tanımlanmaktadır. Hijyenik koşulların ve gıda kontrolünde indikatör mikroorganizma olarak kabul edilen ve fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilen *E. coli*, Enterobacteriaceae familyasının *Escherichia* cinsine ait bakteriyolojik boyalarla boyanabilen, Gram negatif bir bakteridir. Sıcakkanlı hayvanların sindirim sisteminde doğumdan hemen sonra kısa bir süreç içerisinde kolonize olan fakültatif aerob bir bakteridir (Chen ve Frankel, 2005; Münnich ve Lübke-Becker, 2004; Nataro ve Kaper, 1998).

Memeli ve kanatlı hayvanların bağırsağında normal flora elemanı olarak yaşayabilen *E. coli*'nin çoğu suşu patojenik değildir ve rutin olarak vücuttan dışkı ile atılırlar. Bununla birlikte *E. coli*'nin enterotoksik suşları ise ince bağırsak hücrelerine spesifik olarak tutunan CFA (kolonizasyon faktör antijenleri) olarak adlandırılan fimbriyal proteinleri üretir. Bundan sonra, kolonize olarak ve enterotoksin üreterek diyare ve başka hastalıklara neden olurlar. Patojenik olmayan diğer suşları ise nadiren CFA proteinlerine sahiptir (Madigan vd., 2012; Tunail, 2009).

Günümüzde *E. coli*'nin belirli serotiplerinin patojenik özellikten başka enterotoksijenik özellik gösterdikleri ve çok çeşitli virulans faktörler içerdikleri de bilinmektedir. Bunların hepsi bağırsakların ağırlıklı florası *E. coli*'den ayrı olarak Enterovirulent *E. coli* grubunda toplanmıştır. Bu grup içindeki değişik virulans faktörlere sahip ve bağırsak sistemini farklı etkileyen serotipler şunlardır; enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvasif *E. coli* (EIEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enteroaggregatif *E. coli* (EAggEC), difüz-adherent *E. Coli* (OAEC) ve fakültatif entero patojenik *E. coli* (FEEC)'dir (Wani vd., 2004; Tunail, 2009).

Gıdaların mideye alınması ile mide-bağırsak sistemine kolayca geçebilen enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) türleri insanlarda ve hayvanlarda diyarejenik

enfeksiyonlara neden olmaktadır. Her yıl iki milyondan fazla meydana gelen ölümler ile dünya çapındaki halk sağlığı problemlerinin (ishal gibi) meydana gelmesi patojen olan bazı *E. coli* türleri ile ilişkilidir ve bu durum patojenik ve enteretoksijenik suşların araştırmalarının önemini giderek arttırmıştır (Chen ve Frankel, 2005).

Yıkanmamış sebze ve meyveler, az pişirilmiş etler, tuvalet sonrası yıkanmamış eller ile insanlarla kurulan ilişki ve pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri *E. coli* kaynaklı enfeksiyonların başlıca sebepleri arasındadır. İnsanlarda kanlı ishal ve karın ağrısı en yaygın görülen etkileridir. Gıda kaynaklı enfeksiyonların nedeni genellikle *E. coli*’dir ve bu enfeksiyonların sayısı her geçen gün artmaktadır (Ertaş vd., 2013; Tosun ve Gönül, 2003).

İnsanlar ve hayvanları ölüme kadar götüren bağırsak rahatsızlıklarına neden olan *E. coli* serotipleri, bağırsakların ağırlıklı florası olan *E. coli*’den ayrı olarak enterovirulent *E. coli* grubunda toplanmıştır. Sağlıklı dişi köpekler üzerinde yapılan araştırma ve otopsi bulgularına göre doğumdan kısa süre sonra olan ölümlerin ve hastalıkların nedenlerinin *E. coli*, *Staphylococcus* veya *Streptococcus* türlerinden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Enfeksiyonların potansiyel kaynakları ise çevre ortamı, vajinal akıntılar ve süt salgılarıdır. Bu durum aynı zamanda insanlarda da benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte otopsi bulguları veya hasta köpek yavrularından alınan örneklerde genellikle hastalık ajanının *E. coli* olduğu tespit edilmiştir (Münnich ve Lübke-Becker, 2004).

Köpeklerde idrar kesesi taşı oluşumu ile ilgili yapılan diğer bir çalışmada, idrar taşı oluşumunda en sık karşılaşılan bakteri türleri *Staphylococcus*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* ve *Enterobacter* olarak tespit edilmiştir. Struvit taşlarının oluşumunda ise üreaz oluşturan genellikle tek ve en yaygın tür *Staphylococcus spp.*’dir. Köpeklerde bilinen en iyi üreaz üreticisi *Staphylococcus intermedius* ve *Proteus spp.*’dir. Diğer üreaz üreten bakteriler ise *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Corynebacterium spp.*’dir. Ayrıca *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus* suşları ise yaklaşık olarak % 0-5 oranında üreaz üretebildiği tespit edilmiştir (Hesse ve Neiger, 2009).

Ürosepsisin tedavisi ile ilgili yapılan farklı çalışmalarda ürosepsisi oluşturan bakteriyel spektrumda %50 *E. coli*, %15 *Proteus* spp., % 15 *Enterobacter* ve *Klebsiella* spp., %5 *P. aeruginosa* ve %15 Gram pozitif organizmalar olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca biyofilm enfeksiyonu, ürosepsis için herhangi bir idrar yolu tıkanmasında, taş ve prostat iltihabının oluşumunda önemli bir rol oynadığı da tespit edilmiştir (Wagenlehner vd., 2008).

BÖLÜM V

MATERYAL VE METOT

5.1 Materyal

5.1.1 Mermerlerin hazırlanması ve özelliklerinin belirlenmesi

Bu çalışmada farklı özelliklere sahip iki mermer üzerinde hetetrofik aerobik-mezofilik iki bakteri türünün canlı kalım süreleri araştırılmıştır. Bu amaçla Muğla yöresi (Aegean Silver (AS) ve Yatağan White (YW)) mermerlerinin 1 cm kalınlığında 1 cm x 1 cm boyutlarındaki doğal mermer örnekleri kullanılmıştır.

Deney öncesi mermer örneklerinin bazı fiziksel özellikleri TS 699'a göre belirlenmiş (Çizelge 5.1) (TS 699, 2009) ve kimyasal analizleri (Çizelge 5.2), ICP-MS tekniği ile AcmeLab (Kanada) Ankara Temsilciliğinde yaptırılmıştır.

Çizelge 5.1. Mermerlerin Fiziksel Özellikleri

Örnek	Porozite %	Su emme %
Aegean Silver (AS)	0,459	0,168
Yatağan White (YW)	0,220	0,080

Çizelge 5.2. Mermerlerin Kimyasal Özellikleri (% Ağırlıkça)

Örnek	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	TiO ₂	MnO
AS	0,33	0,21	0,08	5,70	48,96	0,05	0,09	0,02	0,04
YW	0,01	<0,03	0,01	0,18	56,40	0,01	<0,01	<0,01	<0,01

5.1.2 Kullanılan cihazlar

Otoklav: Deneyler boyunca çözelti ve diğer malzemelerin sterilizasyonunu sağlamak amacıyla WiseClave Wac-47 markalı otoklav kullanılmıştır.

UV- Visible Spektrofotometre: Deney aşamalarında sulu çözelti absorbanlarını okumak için Selecta markalı cihaz kullanılmıştır.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM-EDX): Mermerlerin yüzey morfolojilerini belirlemek için Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde bulunan Leo 440 model taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır.

Hassas Terazı: Mermerlerin ve kimyasal maddelerin tartılması için Radweg marka hassas terazı kullanılmıştır.

Pastör Fırını: Deney boyunca cam malzemelerin sterilizasyonu için Elektromag M42 markalı pastör fırını kullanılmıştır.

Etüv: Deney boyunca mikroorganizmaların inkübasyonu ve deney ortamı için gerekli ısının sağlanması Heraeus markalı etüv kullanılarak sağlanmıştır.

Santrifüj Cihazı: Deneyde kullanılan mikroorganizmaların sıvı ortamdan ayrılmasında Nüve NF615 markalı santrifüj cihazı kullanılmıştır.

Kül Fırını: Mermerlerin çevresindeki sulu ortamdaki madde miktarının belirlenmesi için Elektromag 1813 markalı kül fırını kullanılmıştır.

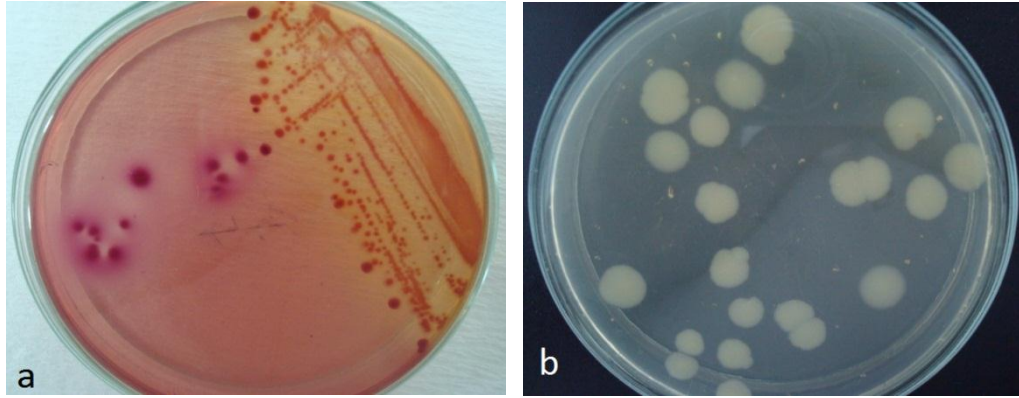
5.2 Metot

5.2.1 Mikroorganizmaların geliştirilmesi

Çalışmada kullanılan Bacillaceae familyasına ait olan *Bacillus* cinsinin *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* T03A001 suşu Ankara Üniversitesinden temin edilmiştir. Spor oluşturan Gram pozitif bakteri *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin geliştirilebilmesi için öncelikle Nutrient agar (İdg) katı besiyerinde ekimi yapıp, tek düşen kolonisi alınıp (Fotoğraf 5.1.b) 2 gün süre ile Nutrient broth (Difco) sıvı besiyerinde inkübasyona bırakılmıştır. Bu şekilde saf olarak aktiveştirilip üretilmesi sağlanan hetetrofik aerobik-mezofilik bakteri türü deney ortamına aseptik koşullarda inoküle edilmiştir. Deneyde kullanmak üzere istenilen miktarının (1,0 g/L) hazırlanması

ise, Nutrient broth sıvı besiyerinde bakterinin üretimi sağlandıktan sonra aseptik koşullarda santrifüj tüplerine aktarılan besiyerinden santrifüj edilerek toplanmıştır.

Deneyde kullanılan diğer bir bakteri türü ise Enterobacteriaceae familyasına ait olan bağırsak kökenli Gram negatif bakteri *Escherichia coli* ATCC26, Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığından temin edilmiştir. Bakterinin geliştirilebilmesi için MacConkey Agar (Merc) katı besiyerinde tek düşürülen kolonisi alınıp (Fotoğraf 5.1.a) 3 gün süre ile Nutrient broth sıvı besiyerinde inkübasyona bırakılmıştır. Bu şekilde saf olarak aktifleştirilip üretilmesi sağlanan bakteri, deney ortamına aseptik koşullarda inoküle edilmiştir. Deneyde kullanılacak bakteri miktarının (1,0 g/L) hazırlanması ise, Nutrient broth sıvı besiyerinde bakterinin üretimi sağlandıktan sonra aseptik koşullarda santrifüj tüplerine aktarılan besiyerinden santrifüj edilerek toplanmıştır.



Fotoğraf 5.1. Katı besiyerinde tek düşürülmüş bakterilerin görünüşleri

a) *E. coli*

b) *B.t.kurstaki*

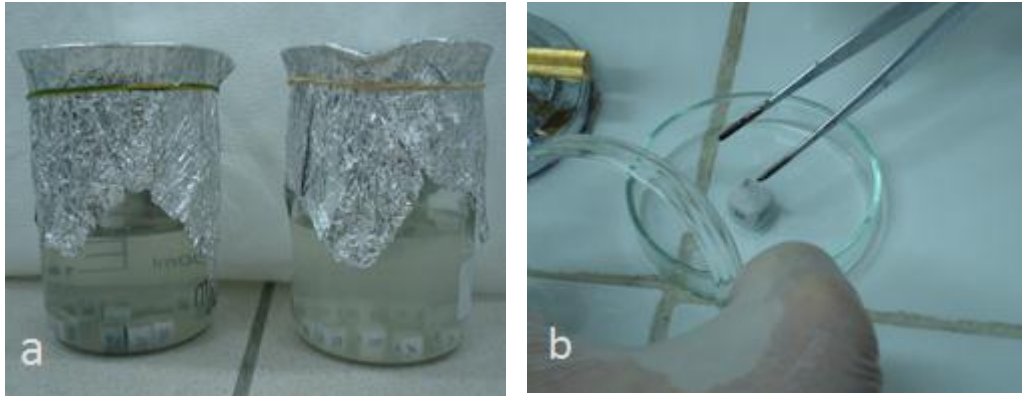
5.3 Deney Ortamları

İçerisinde steril Serum Fizyolojik (% 0,9 g NaCl) bulunan beherlere daha önceden pastör fırınında steril edilip hazırlanan mermer örnekleri aseptik koşullarda yerleştirilmiş ve üzerine 1,0 g/L aktif mikroorganizma kültürlerinden inoküle edilmiştir (Fotoğraf 5.2.a). Bu işlem her bir bakteri ve mermer ortamı için ayrı ayrı yapılmıştır. Kontrol grubu olarak mikroorganizma içermeyen Serum Fizyolojik (SF) ortamındaki mermerler kullanılmıştır. Her bir mermer örneği için kontrol grup dahil 20 paralel kullanılmıştır.

Hazırlanan deney ortamları 25–30 °C sıcaklığında 43 gün süre ile inkübasyona bırakılmış ve belirli zaman aralıklarında (1 saat, 1, 3, 7, 15, 25, 35, 43. gün) mikrobiyal gelişme spektrofotometrik ve kültürel sayımla (adet/ml) tespit edilmiştir. Ayrıca mermerlerin deney öncesi ve deney sonunda ağırlıkları tartılarak kütle kayıpları da hesaplanmıştır.

Mikrobiyal sayının belirlenmesi için her bir deney ortamından mermer örnekleri steril petri kaplarına alınmıştır. 10 ml SF ile yıkanan mermerler eküvyon (swap) yardımıyla yüzeyindeki tabaka kazınarak petri içerisine aktarılması sağlanmıştır (Fotoğraf 5.2.b). Petri içerisinde oluşan bu çözeltiden tüp dilüsyon tekniği kullanılarak bakteri sayısı belirlenmiştir. Ekimler Nutrient Agar ve MacConkey Agar besiyeri içeren petrilere yapılmıştır.

Deneyler sonucunda, mermer yüzeyinde mikroorganizma varlığının oluşturduğu farklılık, deneme sonucunda elde edilen kontrol grubu örnekleri ile beraber SEM ve EDX çalışmaları ile kıyaslamaları yapılmıştır. Mermer örneklerinden SEM görüntülerini elde etmek için deneme sonunda mermer örnekleri kurutulmuş ve altınla kaplanmıştır.



Fotoğraf 5.2. a) Deney ortamları b) Mermer örneğinin steril petri içerisine alınması

5.4 Mermerlerin Çevresindeki Sulu Ortamdaki Madde Miktarının Belirlenmesi

43 günlük deney periyodu sonunda deney ortamındaki sulu çözeltide kalan organik madde ve çözünmüş mermer miktarını belirlemek için darası alınmış santrifüj tüplere doldurulan çözelti 5000 rpm’de 10 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında

elde edilen peletler 3 kez SF ile yıkanıp kurutulduktan sonra ağırlıkları tartılıp kül fırınında yakmak için hazır hale getirilmişlerdir. Kül fırınında yakabilmek için porselen krozeler önceden 300 °C'ye kadar ısıtılan kül fırınında, 1'er saat ara ile 2 kez bekletilip desikatörde yarım saat soğutulduktan sonra ağırlıkları tartılıp sabit ağırlığa getirilmişlerdir. Sabit ağırlığa getirilen krozelere konulan peletler 300 °C'de 1 saat maruz bırakıldıktan sonra yine desikatörde yarım saat bekletilip soğutulduktan sonra son ağırlığı tartılıp kalan miktarı belirlenmiştir.

BÖLÜM VI

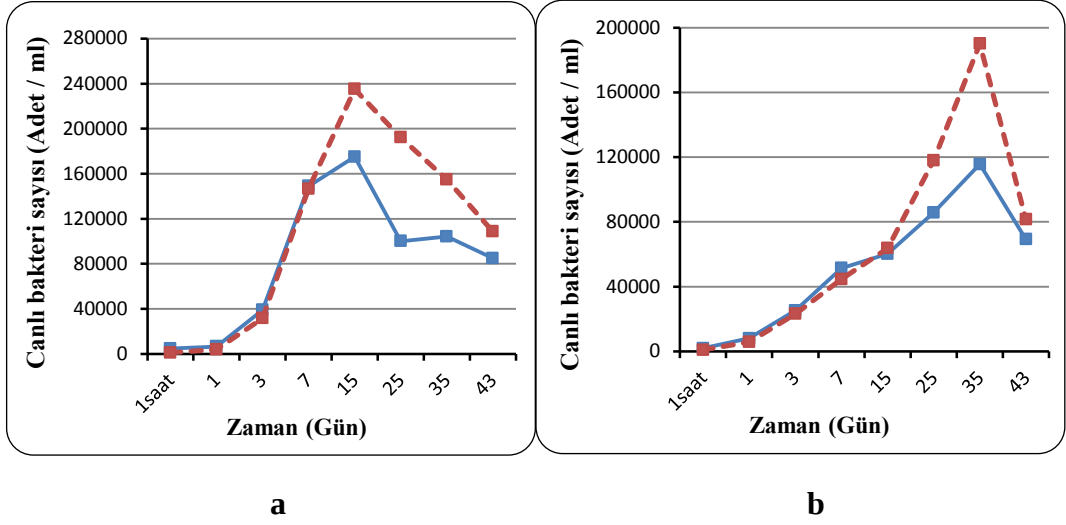
BULGULAR VE TARTIŞMA

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* T03A001 ve *Escherichia coli* ATCC26 suşlarının 1,0 g/L miktarlarının özellikleri birbirinden farklı olan Aegean Silver (AS) ve Yatağan White (YW) mermerleri üzerindeki etkileri 1. saat, 1. 3. 7. 15. 25. 35. ve 43. günlerin sonunda kontrol ortamları (% 0,9 NaCl (izotonik)) ile birlikte karşılaştırmalı olarak aktiviteleri belirlenmiştir. Bu amaçla bu çalışma sürelerinin sonunda mikroorganizmaların kültürel sayımla canlı kalım süreleri, spektroskopik absorbans ölçümleri, ağırlık miktarındaki değişimler de hesaplanmış, 1. 25. ve 43. günlerin sonunda ise SEM ve EDX analizleri yapılmıştır.

6.1 Bakteri Sayım Sonuçları

Mermerlerin bulunduğu Serum Fizyolojik (SF) ortamına inoküle edilmiş bakterilerin mermerler yüzeyinde gerçekleştirdiği aktivitenin değerlendirilebilmesi için mermer yüzeyindeki canlı bakteri sayısı kültürel sayımla belirlenmiştir. Mermer yüzeyine tutunan bakteri sayısını belirlemek için deney ortamından steril petri kaplarına paralelli olarak alınan YW ve AS mermerlerinin yüzeyi eküvyon (swap) yardımı ile kazınıp 10 ml SF ile yıkandıktan sonra oluşan çözeltiden bakteri sayımı yapılmıştır.

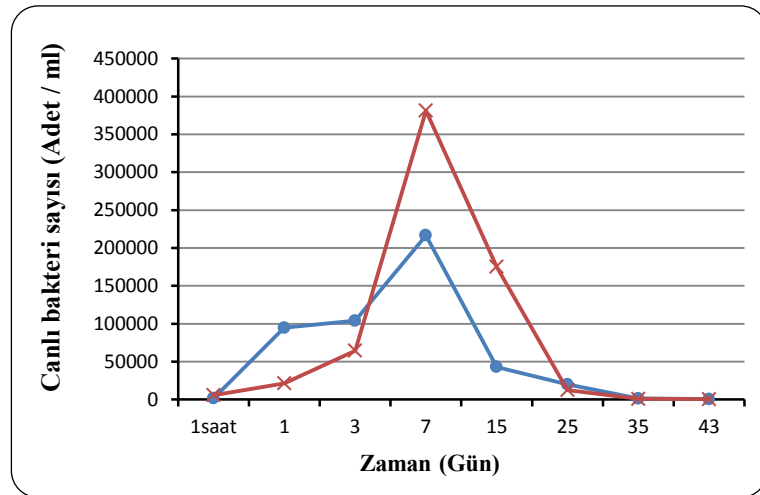
Şekil 6.1’de görüldüğü gibi, *B.t.kurstaki* suşunun mermerler üzerindeki canlı kalım süresi araştırılmış, vejetatif ve sporlu bakteri miktarları belirlenmiştir. YW mermeri üzerinde 1. saatten başlayan ve 15. güne kadar artan bakteri miktarı 15. günden sonra azalmaya ve yerini sporlu formlara bırakmaya başlamıştır. AS mermeri üzerinde ise 35. güne kadar artmaya devam eden bakteri miktarı 35. günden sonra azalmaya başlamıştır.



Şekil 6.1. *B.t. kurstaki* suşunun mermerler yüzeyindeki canlı bakteri sayım sonuçları

a) YW mermeri yüzeyindeki sayım **b)** AS mermeri yüzeyindeki sayım
(—■—: vejetatif bakteri formu, ---■---: sporlu bakteri formu)

Şekil 6.2’de, *E. coli* içeren deney ortamında, YW ve AS mermerleri üzerinden yapılan bakteriyel sayım sonucuna göre, 7. güne kadar artan bakteri miktarı 7. günden sonra azalmaya başlamış ve 25. günden itibaren bakteriler mermerler yüzeyinde neredeyse yok denecek kadar az miktarda sayılabilmektedir.



Şekil 6.2. *E. coli* içeren deney ortamında mermerler yüzeyindeki canlı bakteri sayım sonuçları

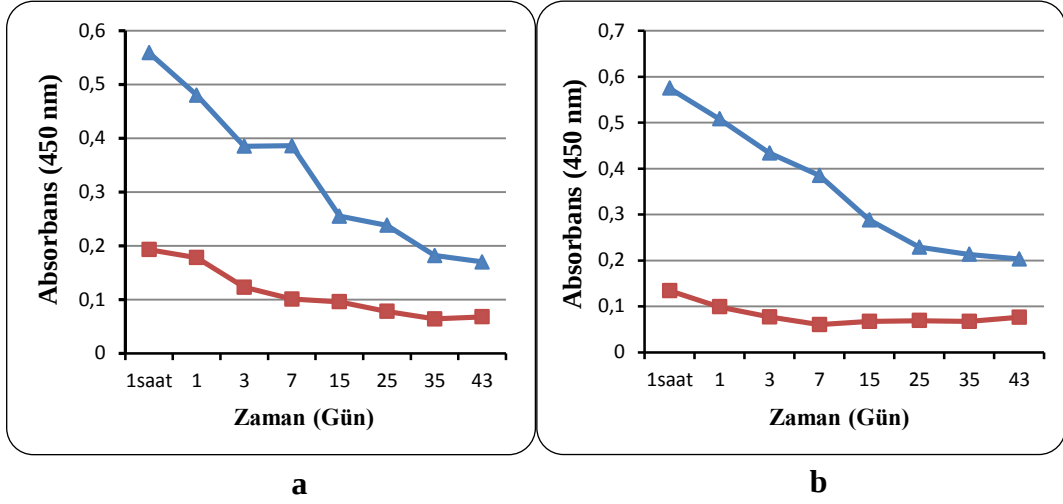
(×: YW mermeri yüzeyinde, ●: AS mermeri yüzeyinde)

B.t.kurstaki suşunun ve *E. coli*’nin YW mermeri üzerindeki canlı kalım süreleri kıyaslandığında, *B.t.kurstaki*’nin 15. güne kadar özellikle sporlu bakteri miktarındaki artış ile birlikte miktarı $2,4 \times 10^5$ adet/ml olurken *E. coli*’de 7. güne kadar artan bakteri

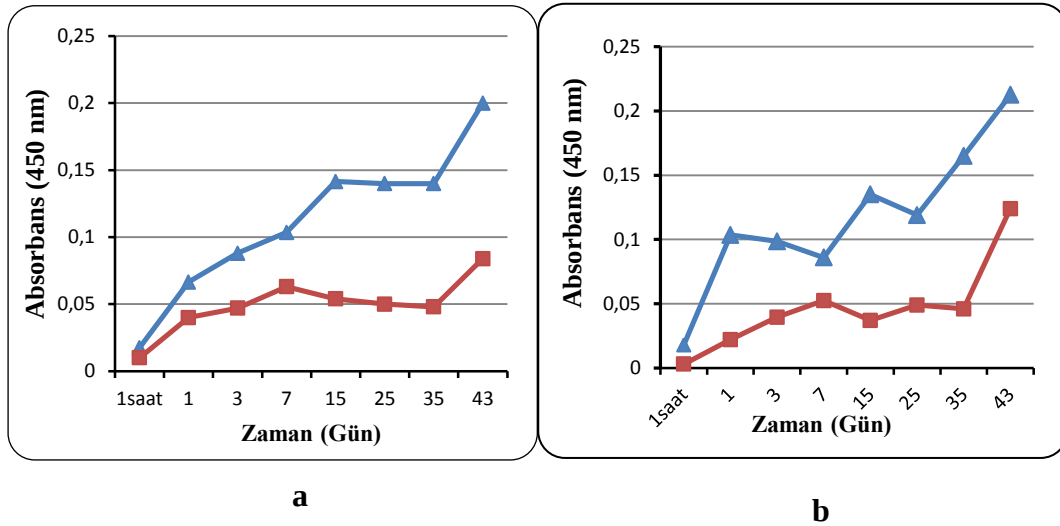
miktarı 4×10^5 adet/ml civarında olmuştur. Bu farklılığın mermerlerin kimyasal ve fiziksel içeriklerinede bağlı olduğu düşünülmektedir. *B.t.kurstaki*'nin miktarı 43. günde 1×10^5 adet/ml olurken, *E. coli*'de ise 43. günde mermer yüzeyindeki bakteri sayısı 540 adet/ml olarak sayılabilmektedir.

Her iki bakterinin (*B.t.kurstaki* ve *E. coli* suşunun), AS mermeri üzerindeki canlı kalım süreleri kıyaslandığında, *B.t.kurstaki*'nin 25. güne kadar özellikle, sporlu bakteri miktarındaki artış ile birlikte sayısı $1,9 \times 10^5$ adet/ml olurken, *E. coli* sayısı 7. günde $2,2 \times 10^5$ adet/ml olarak belirlenmiştir. *B.t.kurstaki* sayısı 43. günde 8×10^4 adet/ml iken *E. coli* sayısı ise 510 adet/ml olarak belirlenmiştir. YW mermerinde olduğu gibi AS mermeri üzerinde de bakteri sayısında azalma olmuştur. *E. coli* sporsuz bir bakteri olması nedeniyle elverişsiz ortamda canlı sayısı azalmıştır. *B.t.kurstaki* ise sporlu bir bakteri olması nedeniyle ortam koşullarının yaşamaya elverişli olmadığı durumda sporlanarak kendi varlığını koruması, yüksek olan bakteri sayısını açıklayabilmektedir (Nicholson vd., 2000).

Şekil 6.3'de mermerlerin çevresindeki sulu çözeltilerde bulunan bakteri sayısının ilk başta homojen olarak dağılması nedeniyle yüksek miktarda olduğu ve yüzeydeki bakteri sayısına karşın giderek azaldığı tespit edilmiştir. Canlıların yaşamaları için gerekli tutunma isteği nedeniyle zamanla yüzeydeki bakteri miktarının arttığı, sulu çevredeki bakteri miktarının ise azaldığı Şekil 6.3 ve 6.4 arasındaki kıyaslamadan anlaşılmaktadır.



Şekil 6.3. Mermerlerin çevresinde bulunan sulu çözeltideki bakteri miktarları
a) YW mermerinde b) AS mermerinde
 (▲: *E. coli* ■: *B.t. kurstaki*)

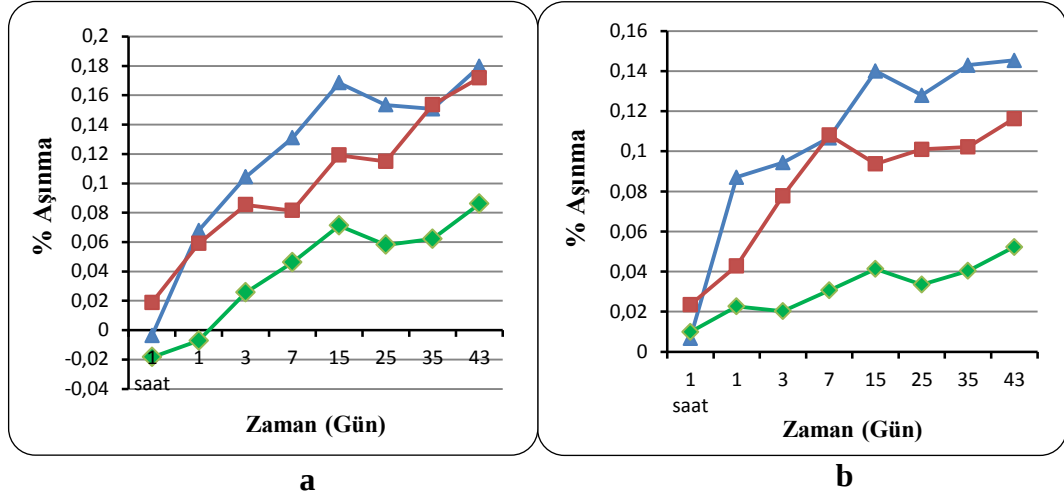


Şekil 6.4. Mermerlerin yüzeylerindeki bakteri miktarları
a) YW mermerinde b) AS mermerinde
 (▲: *E. coli* ■: *B.t.kurstaki*)

6.2 Mermerlerde Kütle Kaybının Tespiti

Şekil 6.5 a ile b'de kontrol gruplar kıyaslandığında, YW mermerinde, AS mermerine göre daha fazla kütle kaybı gözlenmiş olup YW mermerinin AS mermerine göre farklı kimyasal özelliğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmekle birlikte, *E. coli* ve *B.t.kurstaki*'nin bu mermer üzerinde gelişmesi de daha aşındırıcı etki oluşturabilmiştir. Özellikle Al_2O_3 ve Fe_2O_3 'ün kütlece % miktarlarının AS mermerinde fazla olması

bakterilerin bu mermer yüzeyindeki gelişimini baskılamakta olup, zaman içerisindeki kütlece aşınmasını da etkileyebilmektedir. *E. coli* suşunun mermerler üzerindeki gelişiminin *B.t.kurstaki* suşuna göre daha aşındırıcı olduğu da tespit edilmiştir.



Şekil 6.5. Mermerler üzerindeki bakteriyel aşınma miktarları

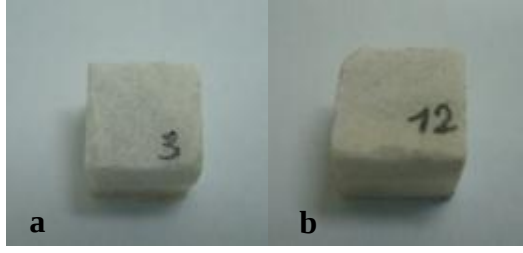
a) YW mermerinde b) AS mermerinde

(▲: *E. coli* 'nin geliştiği ■: *B.t. kurstaki* 'nin geliştiği ♦: hiçbir bakterinin olmadığı kontrol grubu)

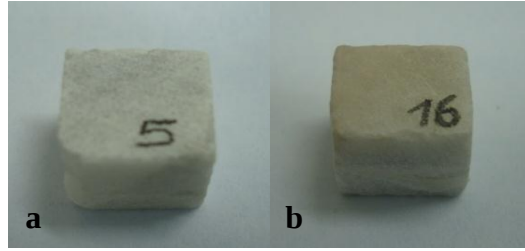
6.3 SEM ve EDX Sonuçları

Mermerlerin yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası, bozunmalar ve bakterinin yüzey üzerindeki tutunmalarını gözlemlemek için 1., 25. ve 43. gün sonunda yüzeyleri SEM ile görüntülenmiş ve EDX ile kütlece yüzey bileşim analizi yapılmıştır. Bunun için YW mermeri üzerinde hem *B.t. kurstaki*'nin hem de *E. coli*'nin etkileri, AS mermeri üzerinde ise *B.t. kurstaki*'nin ve *E. coli*'nin etkileri ayrı ayrı belirlenmiştir. Ayrıca bakteri içermeyen kontrol ortamlarındaki AS ve YW mermerleri de fotoğraflanmıştır.

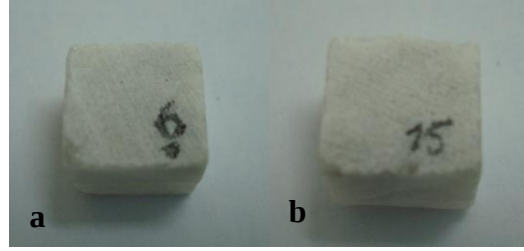
Elde edilen sonuçlara göre, AS mermerinin ve YW mermerinin her ikisi de bakteriyel gelişmeye izin vermekte olup *E. coli*'nin her her iki mermer tipinde de daha iyi geliştiği tespit edilmiştir. Her iki mermer yüzeyinde de 43. gün sonunda bakterilerin belli miktarlarda canlılığını devam ettirdiği görülmüş olup, ayrıca her iki bakteri suşunun YW ve AS mermerleri üzerinde biyofilmden dolayı oluşturduğu renk değişimi çıplak gözle bile farkedilebilmektedir (Fotoğraf 6.1 - Fotoğraf 6.6).



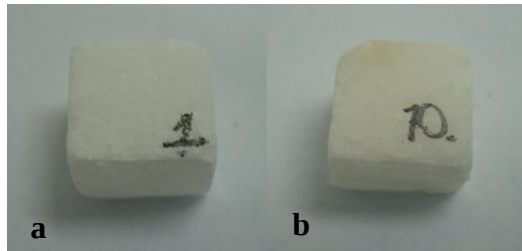
Fotoğraf 6.1. AS mermeri üzerindeki *B.t.kurstaki*'nin etkileri
a) 1. gün b) 25. gün



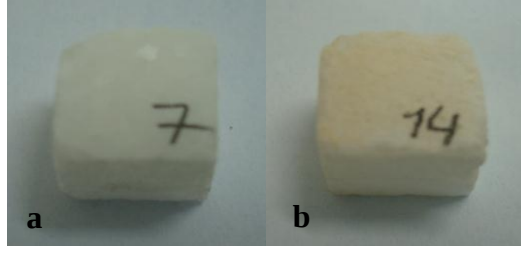
Fotoğraf 6.2. AS mermeri üzerindeki *E. coli*'nin etkileri
a) 1. gün b) 25. gün



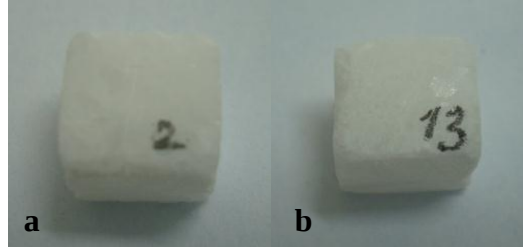
Fotoğraf 6.3. Kontrol ortamındaki AS mermerinin durumu
a) 1. gün b) 25. gün



Fotoğraf 6.4. YW mermeri üzerindeki *B.t.kurstaki*'nin etkileri
a) 1. gün b) 25. gün

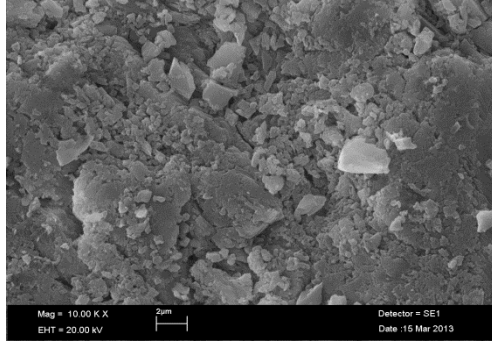


Fotoğraf 6.5. YW mermeri üzerindeki *E. coli*'nin etkileri
a) 1. gün b) 25. gün

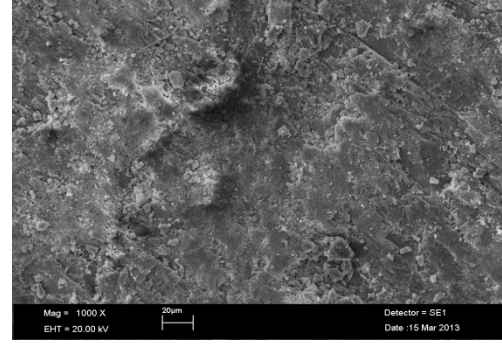


Fotoğraf 6.6. Kontrol ortamındaki YW mermerinin durumu
a) 1. gün b) 25. gün

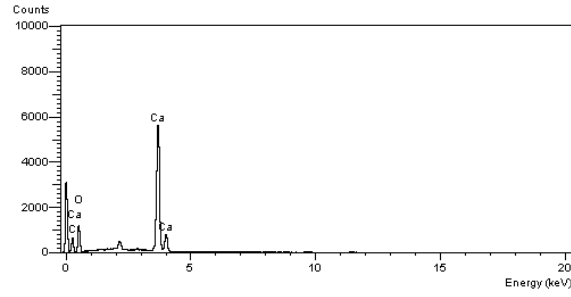
SEM mikrografları sayım sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğinde, taşlaşma nedeniyle yüzeye tutunmuş bakterinin tamamını yüzeyden almanın mümkün olmadığı ve son günlerde sayım sonuçlarının azalmış şekilde görülmesinin bundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Şekil 6.6 - Şekil 6.23).



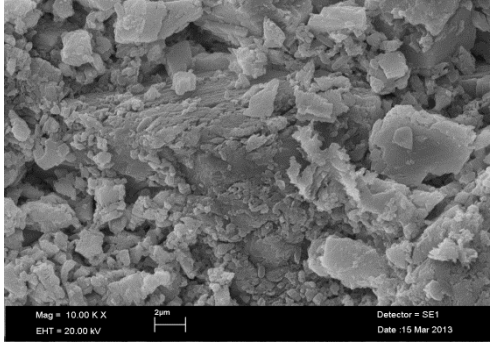
a



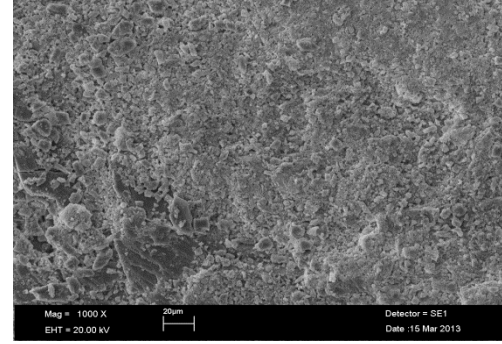
b



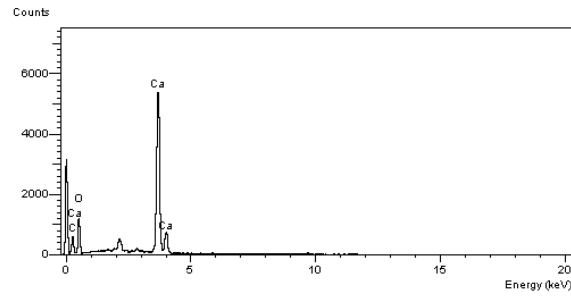
Şekil 6.6. Kontrol ortamındaki YW'nin 1. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



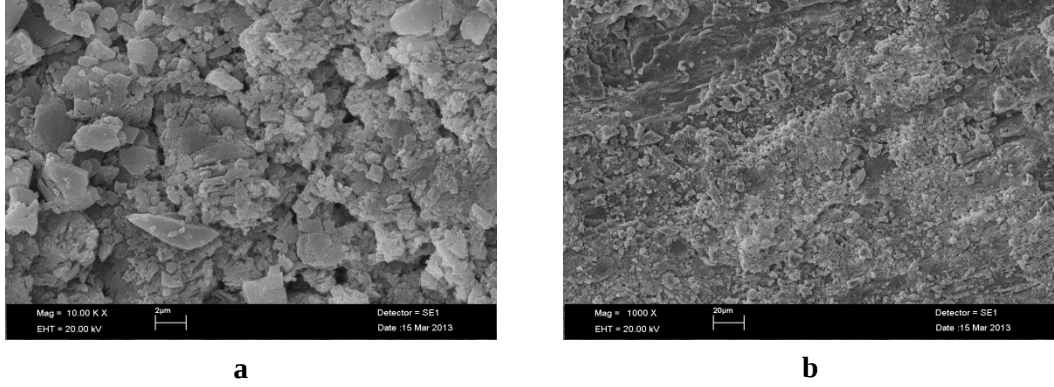
a



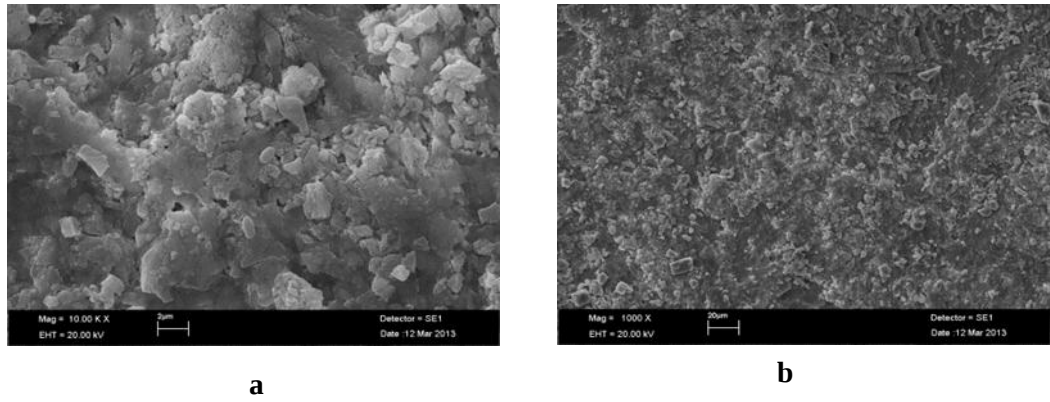
b



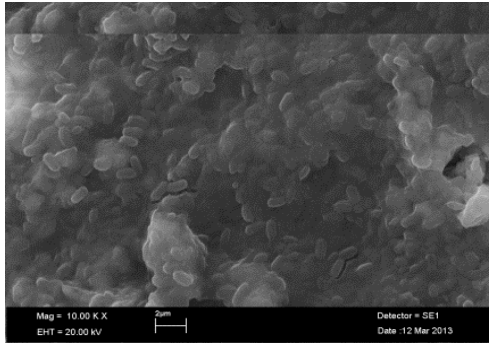
Şekil 6.7. Kontrol ortamındaki YW'nin 25. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



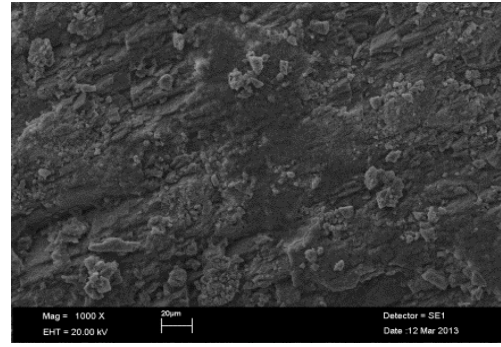
Şekil 6.8. Kontrol ortamındaki YW'nin 43. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



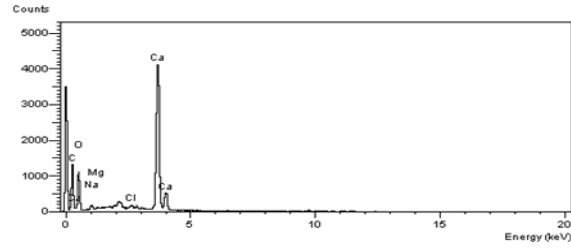
Şekil 6.9. YW üzerindeki *B.t. kurstaki* etkilerinin 1. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



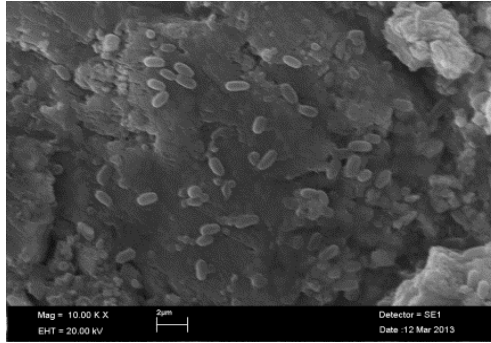
a



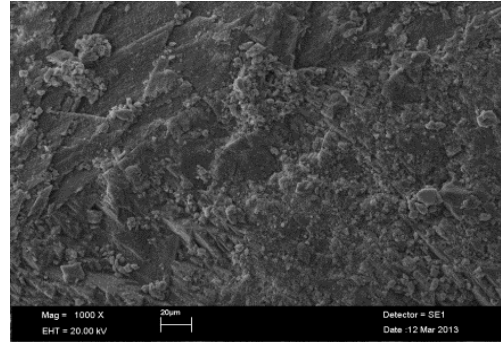
b



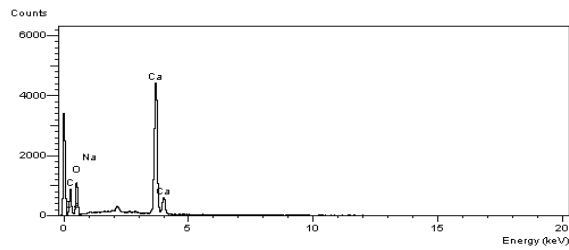
Şekil 6.10. YW üzerindeki *B.t. kurstaki* etkilerinin 25. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



a



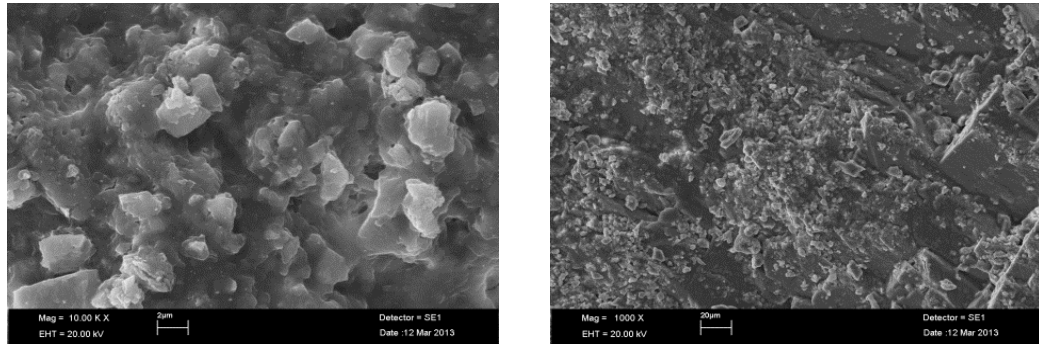
b



Şekil 6.11. YW üzerindeki *B.t. kurstaki* etkilerinin 43. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)

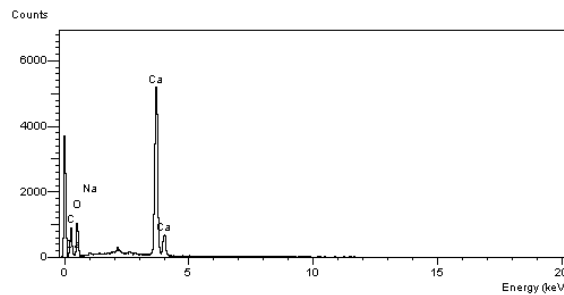
Şekil 6.6, Şekil 6.7 ve Şekil 6.8’de görüldüğü gibi YW mermeri, bakteri içermeyen kontrol ortamlarında yüzey olarak değişmezken, Şekil 6.9, Şekil 6.10 ve Şekil 6.11’de ise YW mermeri üzerinde *B.t.kurstaki* suşunun oluşturduğu biyofilm de sporlu formlarla birlikte kalsifikasyonun yüzeyi kapladığı görülmektedir. SEM mikrograflarından da görüldüğü gibi 25. günden itibaren mermer yüzeyindeki bakteriyel biyofilmin sporlu formlara dönüşerek kalsifikasyonu artırdığı dikkati çekmektedir. Mermer yüzeyinden yapılan bakteriyel sayımlarda 15. ve 25. günlerde bakteri miktarı en yüksek seviyeye ulaşmıştır. 25. ve 43. günde Şekil 6.10 ve 6.11 kıyaslandığında 25. günde yoğun kalsifikasyon görülmüş olup, 43. günde ise bakteri sayısının yüzeydeki biyofilimde azaldığı görülmektedir. Bununla birlikte 43.günde canlı bakteri sayım sonuçlarının da düşük sayıda olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca EDX analiz sonuçlarına göre de test ortamında 1. gün 18,38 olan kütlece % C miktarı 25. gün 32,62, 43. gün ise 24,17 olmuştur.

YW mermeri üzerinde *E. coli* bakterisinde benzer değişikliklere sahip olmakla beraber kontrol (Şekil 6.6 - Şekil 6.8) ve *B.t. kurstaki* (Şekil 6.9 - Şekil 6.11) ile kıyaslandığında kalsifikasyonun daha fazla olduğu dikkati çekmektedir (Şekil 6.12 - Şekil 6.14).

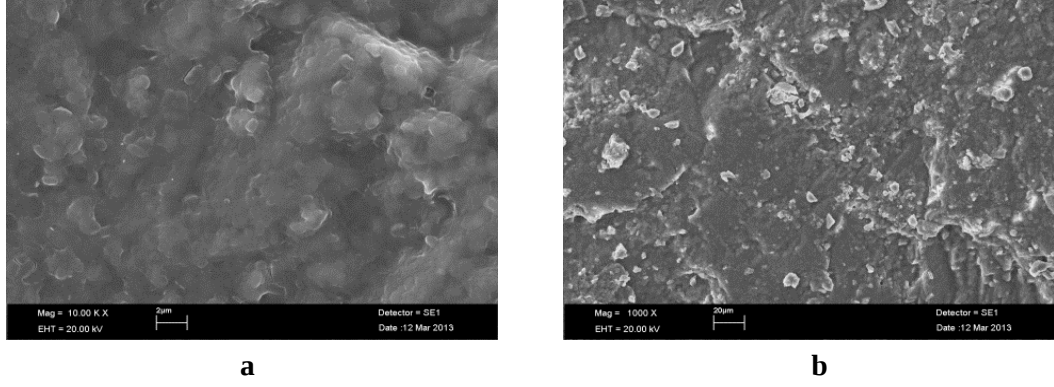


a

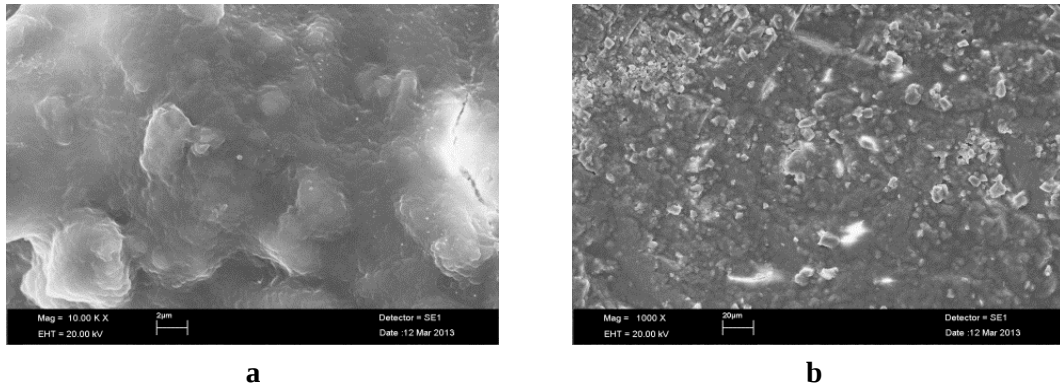
b



Şekil 6.12. YW üzerindeki *E. coli* etkilerinin 1. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



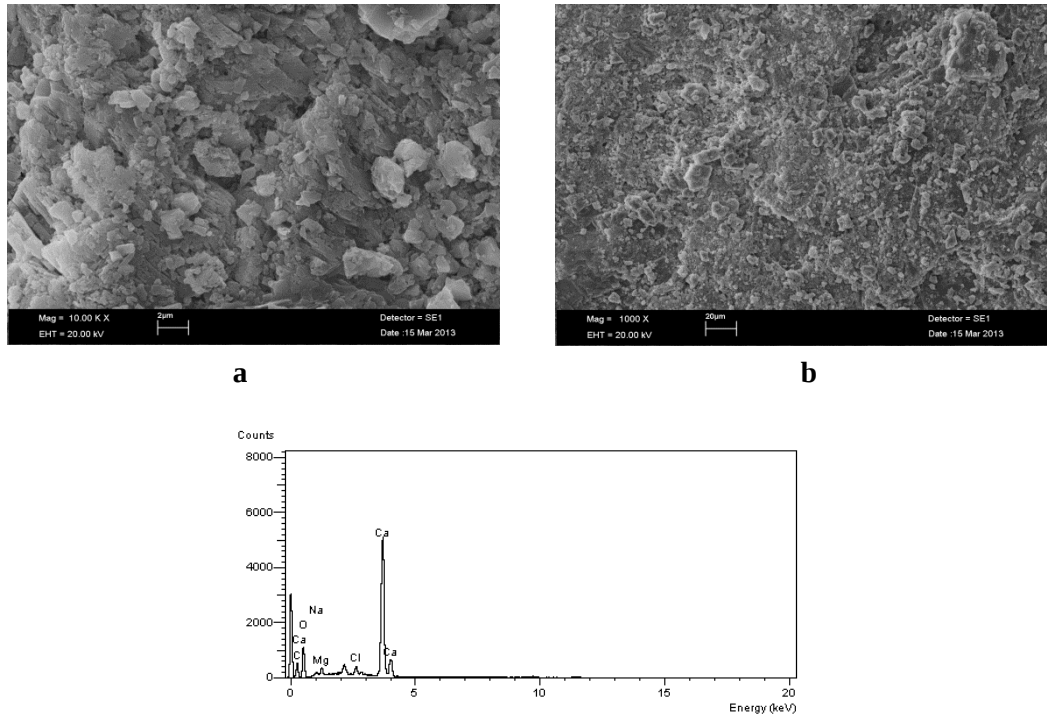
Şekil 6.13. YW üzerindeki *E. coli* etkilerinin 25. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



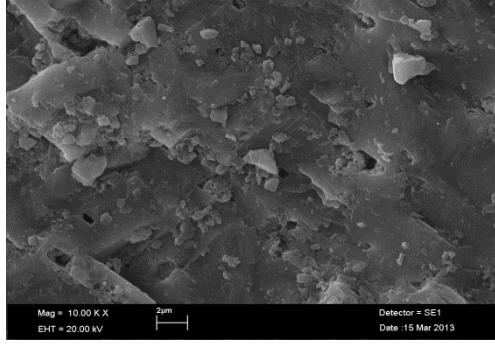
Şekil 6.14. YW üzerindeki *E. coli* etkilerinin 43. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)

SEM mikrograflarından da görüldüğü gibi (Şekil 6.12 - Şekil 6.14) *E. coli*, mermer yüzeyinde 25. günde belirgin olarak görülmesine karşın 43. günde hücre morfolojisinin belirgin görüntüsü taşlaşma nedeniyle kaybolmuştur. Bakteriyel sayım sonuçlarında 43. günde canlı bakteri sayısında azalmanın nedeni olarak yoğun kalsifikasyon görülmekte olup, SEM mikrograflarında bakterinin yüzeye tümüyle yapıştığı ve taşlaştığı sonucuna varılmıştır (Şekil 6.12 - Şekil 6.14). Ayrıca *E. coli* için YW mermerinde EDX analiz sonuçlarında kontrol ortamla kıyaslandığında kütlece % 17,19 olan karbon oranı (Çizelge 6.1), test ortamının 1. gününde % 24,11; 25.günde % 35,67; 43. günde % 50,10 olmuştur.

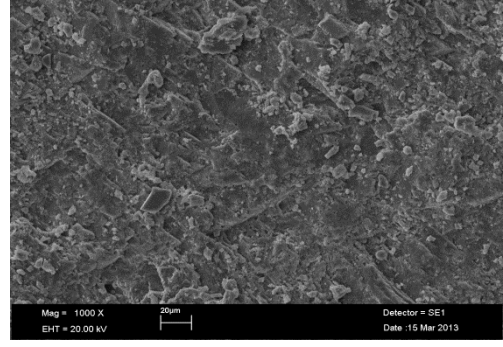
AS mermerinin kontrollerinde 43. güne kadar bir değişikliğin olmadığı görülmekte olup (Şekil 6.15 - Şekil 6.17), test ortamıyla kıyaslandığında kalsifikasyonla birlikte yüzeyde bakterilerin yoğunluğunda artış görülmektedir (Şekil 6.18 - Şekil 6.20).



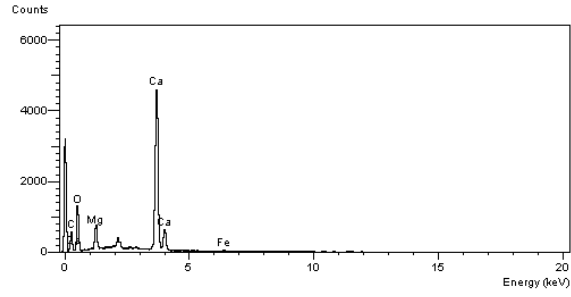
Şekil 6.15. Kontrol ortamındaki AS'nin 1. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



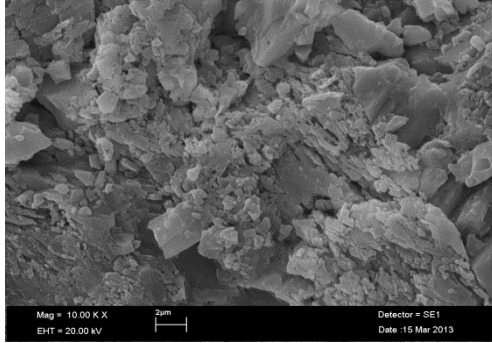
a



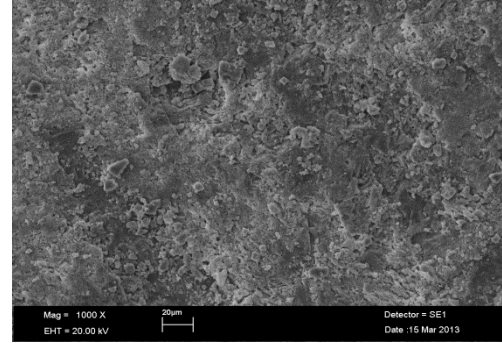
b



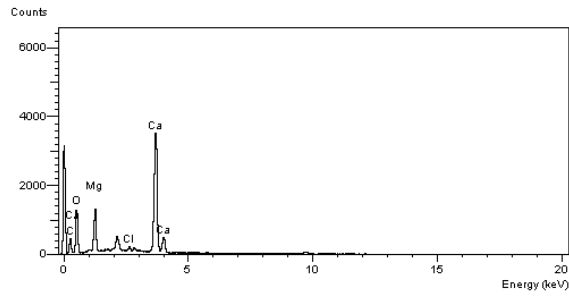
Şekil 6.16. Kontrol ortamındaki AS'nin 25. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



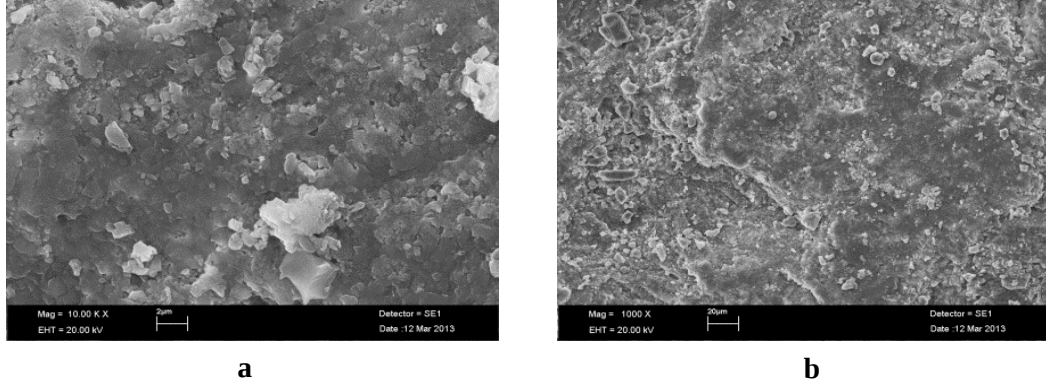
a



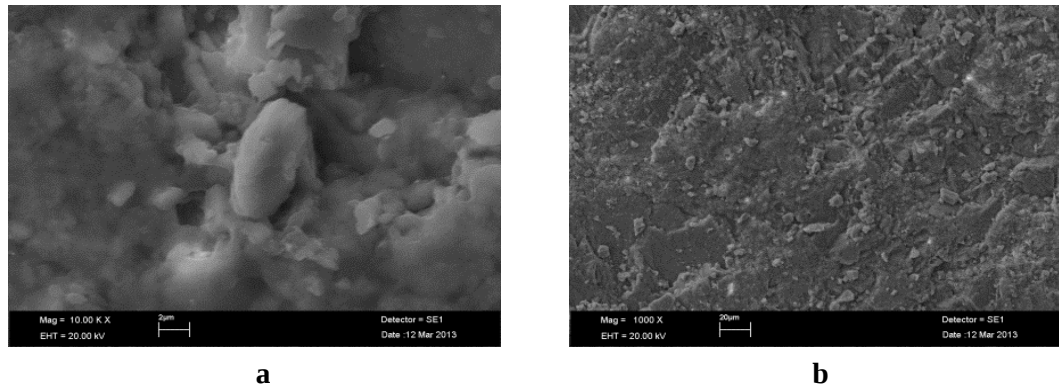
b



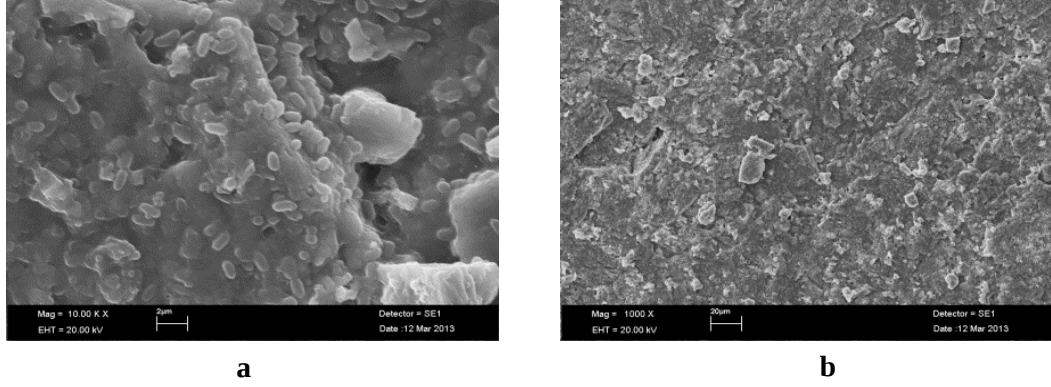
Şekil 6.17. Kontrol ortamındaki AS'nin 43. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



Şekil 6.18. AS üzerindeki *B.t. kurstaki* etkilerinin 1. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)

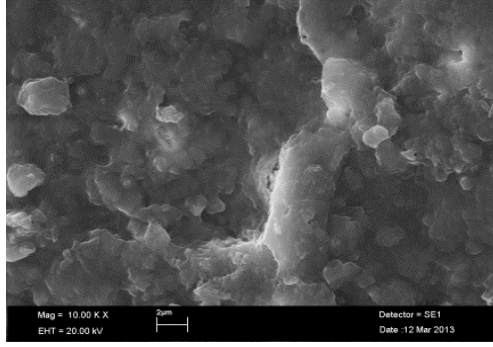


Şekil 6.19. AS üzerindeki *B.t. kurstaki* etkilerinin 25. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)

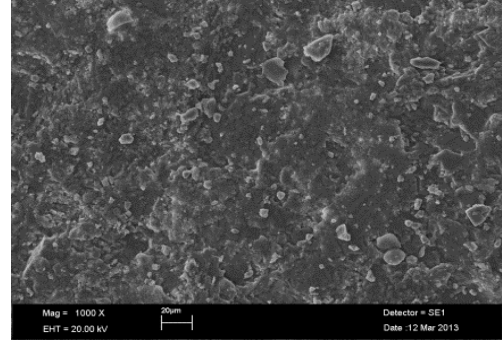


Şekil 6.20. AS üzerindeki *B.t. kurstaki* etkilerinin 43. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)

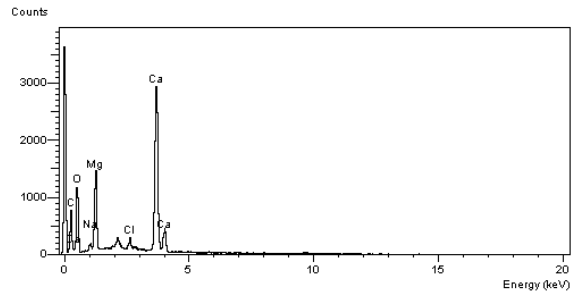
B.t. kurstaki için, SEM mikrograflarından da görüldüğü gibi 43. gündeki bakteri yoğunluğu diğer günlere göre daha fazladır (Şekil 6.18 - Şekil 6.20). EDX analiz sonuçlarına göre (Çizelge 6.1) 1. gün kütlece % C miktarı % 20,17 iken; 25. gün % 25,66; 43. günde ise % 31,55 olmuştur.



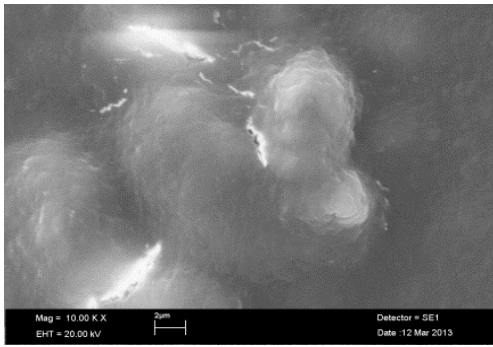
a



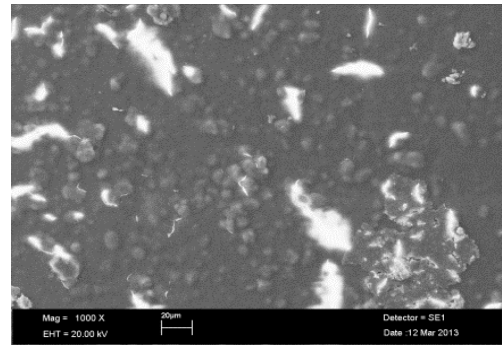
b



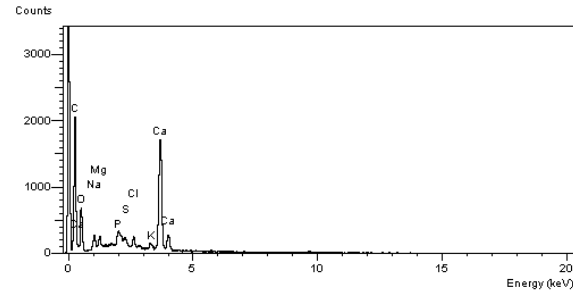
Şekil 6.21. AS üzerindeki *E. coli* etkilerinin 1. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



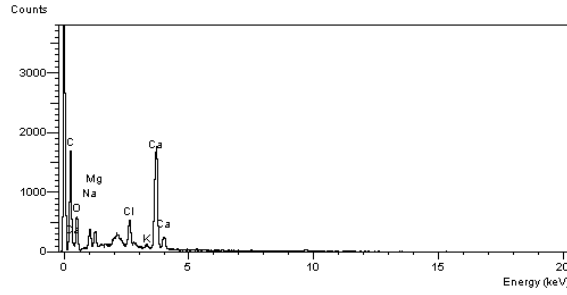
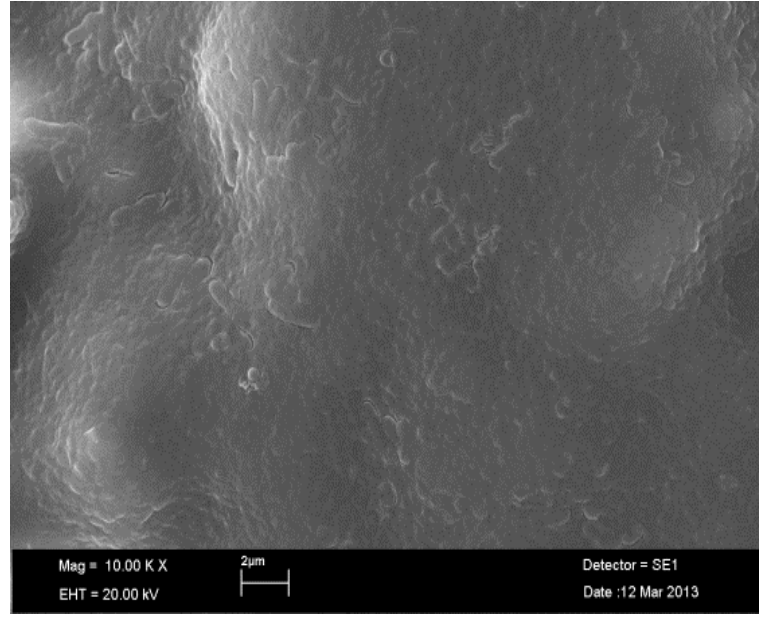
a



b



Şekil 6.22. AS üzerindeki *E. coli* etkilerinin 25. gün yüzey SEM mikrografları ve EDX spektrumu (a: 10000x, b: 1000x)



Şekil 6.23. AS üzerindeki *E. coli* etkilerinin 43. gün yüzey SEM mikrografi ve EDX spektrumu (10000x)

AS mermeri üzerinde SEM mikrograflarından da görüldüğü gibi *E. coli* sayısında belirgin bir artış görülmektedir. Ayrıca bakteriyel sayıdaki artışla birlikte *E. coli*'nin yüzeyde pürüzleri yok edecek kadar kalsifikasyona neden olduğu görülmektedir (Şekil 6.21 - Şekil 6.23). Bakteriyel sayımlarda 7. günde en yüksek seviyeye ulaşmış ileren günlerde yok denecek kadar az miktarda sayılabilen bakterinin aslında yüzeyde taşlaşma nedeniyle eküvyonla alınamadığını düşündürmektedir. EDX analiz sonuçlarında kontrol ortamda kütlece % C miktarı yaklaşık % 16 iken, test ortamlarında 1. gün % 28,11; 25. günde % 56,96; 43. günde ise % 57,17 olmuştur.

B.t. kurstaki suşu için EDX analizlerine bakıldığında, YW mermerindeki 1. gün kütlege % karbon miktarı 18,38 iken, 43. günde 24,17 olmuş, AS mermerinde 1. gün kütlege % karbon miktarı 20,17 iken, 43. günde 31,55 olmuştur (Çizelge 6.1).

Literatürde, *Lysinibacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas putida* türlerine ait bakteri suşlarının kalsiyum karbonat biyopresipitasyonu çalışmasında; kalsiyum karbonat şeklinde presipitasyon üzerinde en aktif olan bakteri *Lysinibacillus sphaericus*, en az etkili olan ise *Bacillus subtilis* olduğu tespit edilmiştir (Shirakawa vd., 2011). Çeşitli çalışmalarda, bakterilerin biyokalsifikasyon etkinliği üzerinde metabolik olarak CO₂ üretiminin kalsiyum karbonat presipitasyonuna izin verdiği şeklinde ifade edilmiştir. Kalsiyumun biyopresipitasyonu üzerinde mikroorganizmanın geliştiği besiyeri içeriği ve koşullarının etkili olduğu yapılan çalışmalarla da gösterilmiştir (Lee, 2003; Yoshida vd., 2010; Shirakawa vd., 2011; Cameotra ve Dakal, 2012; Rodriguez-Navarro vd., 2012).

Bu çalışmada da, mermer içeriğindeki yüksek kalsiyum oksit nedeniyle her iki bakteri çeşidinin metabolizmaları neticesinde kalsiyum karbonat presipitasyonuna (taşlaşma) neden olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 6.1. Mermerlerin EDX analiz sonuçları

	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> T03A001						<i>Escherichia coli</i> ATCC26					
	Aegean Silver (AS)			Yatağan White (YW)			Aegean Silver (AS)			Yatağan White (YW)		
% Element	1. gün	25. gün	43. gün	1. gün	25. gün	43. gün	1. gün	25. gün	43. gün	1. gün	25. gün	43. gün
C	20,17	25,66	31,55	18,38	32,62	24,17	28,11	56,96	57,17	24,11	35,67	50,10
O	59,98	56,34	48,49	60,98	51,82	58,99	52,53	33,26	31,06	56,44	48,18	39,08
Na	0,54	0,58	2,77	0,45	0,96	0,38	0,84	1,28	2,09	0,58	1,07	1,30
Ca	17,29	13,65	11,99	20,19	14,20	16,46	11,02	6,28	6,68	18,87	14,66	8,71
Mg	1,71	3,52	3,32	-	0,15	-	6,88	0,63	1,30	-	-	-
Cl	0,30	0,24	1,76	-	0,25	-	0,62	0,57	1,53	-	0,41	0,34
P	-	-	-	-	-	-	-	0,56	-	-	-	0,26
S	-	-	-	-	-	-	-	0,17	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	0,30	0,17	-	-	0,22
Si	-	-	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Kontrol Ortamı					
	Aegean Silver (AS)			Yatağan White (YW)		
% Element	1. gün	25. gün	43. gün	1. gün	25. gün	43. gün
C	16,84	16,55	16,90	17,19	16,27	16,22
O	60,95	63,43	62,11	63,01	63,69	61,77
Na	0,90	-	-	-	-	-
Ca	19,05	16,56	14,04	19,80	20,05	22,01
Mg	1,31	3,35	6,57	-	-	-
Cl	0,95	-	0,38	-	-	-
Fe	-	0,11	-	--	-	-

6.4 Mermerlerin Çevresindeki Sulu Ortamdaki Madde Miktarının Belirlenmesi

Mermerlerin çevresindeki sulu ortamdaki madde miktarının belirlenmesi için santrifüj edilerek kül fırınında yakılan peletler elde edilen sonuçlara göre (Çizelge 6.2); içerisinde bakteriyel aktivite sonucunda oluşan organik maddeler ve zamanla çözünen mermerlerin partikülleri olduğu için pelet ağırlıkları yakıldıktan sonra geriye kalan ağırlığından yüksek çıkmıştır. Kül fırınında organik maddenin yanmasıyla, geriye mermer partikülleri kalmış ve pelet ağırlığına oranla neredeyse iki kat düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlar da, mermerlerin bakteriyel aktivite ile bir miktar çözüldüğünü ya da diğer bir deyişle aşındığını doğrulamaktadır.

Çizelge 6.2. Mermer test ortamlarındaki sulu çözeltide kalan çökeltiler

Mermer test ortamı	Elde edilen peletin toplam ağırlığı (g)	Peletin yakıldıktan sonra geriye kalan ağırlığı (g)
<i>Btk</i> + AS	0,0062	0,0036
<i>Btk</i> + YW	0,0139	0,0096
<i>E. coli</i> + AS	0,0134	0,0065
<i>E. coli</i> + YW	0,0201	0,0109

Btk +AS: *B.t.kurstaki* ve AS mermerinin bulunduğu çözelti

Btk + YW: *B.t.kurstaki* ve YW mermerinin bulunduğu çözelti

E. coli + AS: *E. coli* ve AS mermerinin bulunduğu çözelti

E. coli + YW: *E. coli* ve YW mermerinin bulunduğu çözelti

BÖLÜM VII

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Escherichia coli ATCC26 ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* T03A001 suşlarının Muğla yöresine ait özellikleri birbirinden farklı iki mermer çeşidi (AS ve YW) üzerindeki canlı kalım süreleri 1.saat, 1. 3. 7. 15. 25. 35. ve 43. günlerin sonunda kontrol ortamları (% 0,9 g NaCl (izotonik)) ile karşılaştırmalı olarak belirlenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

7.1 Sonuçlar

1- Her iki bakteri suşunda mermerler yüzeyine kolayca yerleşerek kolonize olduğu ve biyofilmden dolayı mermerler yüzeyinde oluşan renk değişiminin çıplak gözle bile farkedilebildiği tespit edilmiştir.

2- Mermerler yüzeyinden yapılan bakteriyel sayım sonuçlarına göre her iki mermer yüzeyinde *E. coli*'nin canlı bakteri miktarı (adet/ml) *B.t. kurstaki*' ye göre daha fazla olduğu ve en yüksek bakteri miktarının ise *E. coli*'nin YW mermeri üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

3- *E. coli* ve *B.t.kurstaki*'nin YW mermeri üzerindeki gelişimi AS mermerine göre daha fazla kütle kaybına sebep olmuştur. Özellikle AS mermerinin kimyasal içeriğine bağlı olarak Al_2O_3 ve Fe_2O_3 'ün kütlece % miktarlarının fazla olması bakteriyel gelişmeyi baskılamakla birlikte zaman içerisinde kütlece aşınmasını da azalttığı düşünülmektedir. Ayrıca *E. coli* suşunun mermerler üzerindeki gelişiminin *B.t.kurstaki* suşuna göre daha aşındırıcı olduğu da tespit edilmiştir.

4- SEM ve EDX sonuçlarına göre; *B.t.kurstaki* suşunun YW mermeri üzerinde, 25. günden itibaren sporlu formlara dönüştüğü ve vejetatif bakteriyel formlarının metabolik aktivitesi sonucunda kalsifikasyonu bir miktar artırdığı tespit edilmiştir. EDX analiz sonuçlarına göre kütlece % karbon miktarındaki artışın % 50 ye yakın olduğu tespit edilmiştir.

5- YW mermeri üzerinde *E. coli* bakterisinin kalsifikasyonunun *B.t. kurstaki* ile kıyaslandığında daha fazla olduğu tespit edilmiştir. EDX analiz sonuçlarında kütlece % karbon oranı % 100 e yakın oranda artmıştır.

6- AS mermeri üzerinde *E. coli*'nin pürüzleri yok edecek kadar kalsifikasyona neden olmuş ve EDX analiz sonuçlarında kütlece % karbon miktarındaki artış yaklaşık % 100 oranında olmuştur. Bu artış mermer yüzeyindeki bakteri varlığına rağmen canlı bakteri sayımının, taşlaşma nedeniyle yapılamadığını desteklemektedir. AS mermeri üzerinde *E. coli* bakterisinin kalsifikasyonunun *B.t.kurstaki* ile kıyaslandığında daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

7- *E. coli*'nin metabolik olarak aktivitesini sürdürmesi nedeniyle kalsifikasyona daha yoğun olarak neden olduğu buna karşın, *B.t.kurstaki*'nin vejetatif formunun belirli süre metabolik aktivite göstermesi ve olumsuz şartlarda sporlanarak metabolik aktivitesini durdurması nedeniyle kalsifikasyonu daha az gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. SEM ve EDX sonuçları bu olayı desteklemiştir.

8- Yüksek kalsiyum içeriğinden dolayı her iki mermer üzerinde yapılan çalışma neticesinde, mermerler üzerindeki taşlaşma nedeniyle bakterilerin uzun süre varlığını koruyabildiği tespit edilmiştir.

7.2 Öneriler

- Hijyen ve kullanım açısından farklı mermer türleri üzerindeki canlı kalım süreleri denenebilir.
- Sık kullanılan diğer taş türleri (granit, oniks vb.) üzerindeki canlı kalım süreleri araştırılabilir.

KAYNAKLAR

Akman, S., “Yapı Malzemelerinin Tarihsel Gelişimi”, *TMH - Türkiye Mühendislik Haberleri*, 426, 2003.

Albertano, P. and Urzi, C., “Structural Interactions among Epilithic Cyanobacteria and Heterotrophic Microorganisms in Roman Hypogea”, *Microb Ecol*, 38, 244-252, 1999.

Allsopp, D., Seal, K.J. and Gaylarde, C.C., Introduction to Biodeterioration, 2nd ed., *Cambridge University Press*, USA, 2004.

Asan, A., “Toprak Oluşumunda Biyolojik Faktörler”, *Ekoloji*, 8, 36-38, 1993.

Aycan, I.O., “Türkiye’de mermercilik ve geleceği”, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü*, Konya, s.25-26, 2007.

Azizoğlu, M. S., Çukurova Bölgesindeki Mermer Ocaklarının Pazar Durumu ve Ekonomik Açından Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, s.6-18, 2005.

Bağcı, M., Kozağaç-Kalınağıl (Muğla) Mermerlerinin Jeolojisi, Teknik Analizi ve Maden Ekonomisi Açısından Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, s.186-195, 2006.

Bauce E., Carisey N. and Dupont A., “Carry over effects of the entomopathogen *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* on *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) progeny under various stressful environmental conditions, *Agricultural and Forest Entomology*, 8, 63-76, 2006.

Cameotra, S. S. and Dakal, T. C., “Carbonatogenesis: Microbial Contribution to the Conservation of Monuments and Stone Artwork, **Conservation Science In Cultural Heritage**, 12, 2012.

Caneva, G. and Salvadori, O., Biodeterioration of stone. In deterioration and conservation of stone, Editörleri, Lorenzo Lazzarini and Richard Pieper, **Studies and Documents on the Cultural Heritage**, Paris: Unesco, 16, 182-234, 1988.

Chen, H.D. and Frankel, G., “Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis”, **FEMS Microbiology Reviews**, 29(1), 83-98, 2005.

Cifferi, O., “Microbial Degradation of Paintings”, **Applied and Environmental Microbiology**, 65(3), 879-885, 1999.

Crispim, C.A. and Gaylarde, C.C., “Cyanobacteria and biodeterioration of cultural heritage”, **Microbial Ecology**, 49, 1-9, 2005.

Cutler, N. and Viles, H., “Eucaryotik microorganisms and stone biodeterioration”, **Geomicrobiology Journal**, 27, 630-646, 2010.

Çakar, T., Likenlerin Karatepe Aslantaş Açık Hava Müzesi Bazaltik Kayaç Eserler Üzerindeki Ayrışmaya/Bozunmaya Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana, s.12, 2009.

Çelik, M.Y., “Dekoratif Doğal Yapı Taşlarının Kullanım Alanları ve Çeşitleri”, **Madencilik**, 42(1), 3-15, 2003.

Çetinkaya, G., Öztürk, A. and Çakmakçı, M.,L., “The persistence time of *Bacillus thuringiensis* spores and crystals on the leaf surfaces”, **Acta Microbiologica Polonica**, 44(1), 91-97, 1995.

Çobanoğlu, G., **Türk Liken Topluluğu Bülteni**, 1, İstanbul, 2005.

Dal, M. ve Irgas, C., “Doğal Taşlar Üzerindeki Biyolojik Organizmaların Alterasyondaki Rolü”, *Trakya Univ J Eng Sci*, 13(1), 41-55, 2012.

Dal, M., Edirne’de Dolomitik Yapı Kayaçlarının Tahrip Şekilleri ve Restorasyon Yöntemleri, Yüksek Lisans Tezi, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Edirne, s.62, 2005.

De Belie, N., “Microorganisms versus stony materials: a love-hate relationship”, *Materials and Structures*, 43, 1191-1202, 2010.

De losRios, A., Camara, B., del Cura, M.A.G., Rico, V.J., Galvan, V. and Ascaso, C., “Deteriorating effects of lichen and microbial colonization of carbonate building rocks in the Romanesque churches of Segovia (Spain)”, *Science of the Total Environment*, 407, 1123-1134, 2009.

Ertaş, N., Yıldırım, Y., Karadal, F. ve Al, S., “Hayvansal Gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7’nin Önemi”, *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 10(1), 45-52, 2013.

Gadd, G. M., “Fungal Production of Citric and Oxalic Acid: Importance in Metal Speciation, Physiology and Biogeochemical Processes”, *Advances in Microbial Physiology*, 41, 47-92, 1999.

Gaylarde, C.C. and Morton, L.H.G., “Deteriogenic biofilms on buildings and their control”, *Biofouling*, 14, 59-74, 1999.

Gaylarde, P. M. and Gaylarde, C.C., “Algae and Cyanobacteria on Painted Surfaces In Southern Brazil”, *Revista de Microbiologia*, 30, 209-213, 1999.

Gökçen, C., Tarihi Süreçlerde Atmosferik Şartların ve Hava Kirliliğinin Taş Yapılar Üzerindeki Etkileri; Köprülü Medresesi ve Kütüphanesi Örneği, Yüksek Lisans Tezi, *Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gebze, s.8-25, 2007.

Guiaimet, P., Crespo, M., Lavin, P., Ponce, B., Gaylarde, C. and Gomez de Saravia, S., “Biodeterioration of funeral sculptures in La Recoleta Cemetery, Buenos Aires, Argentina: Pre- and post-intervention studies”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 101, 337-342, 2013

Gümüşçü, M. ve Turgut, P., “Karacadağ Bazaltının Fiziko-Mekanik ve Isıl Özellikleri”, *Tr. J. Nature Sci.* 1(2), 25-29, 2012.

Gürani, Y. ve Canpolat, T., “Geçmişten Günümüze Mekan Ölçeğinde Doğal Taş Kullanımındaki Farklı Yaklaşımlar” *Doğal Yaşam Doğal Taş Sempozyumu Bildiri Kitabı*, s.25-32, İstanbul, 2012.

Hawks, C., “Historical Survey of The Sources of Contamination of Ethnographic Materials In Museum Collections”, *Collection Forum*, 16(1-2), 2-11, 2001.

Herrera, K.L. and Videla, H.A., “The Importance of Atmospheric Effects on Biodeterioration of Cultural Heritage Constructional Materials”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54, 125-134, 2004.

Hesse, A. and Neiger, R., A Colour Handbook Urinary Stones in Small Animal Medicine, *Manson Publishing*, 56-65, 2009.

Hughes, K.A. and Lawley, B., “A novel Antarctic microbial endolithic community within gypsum crusts”, *Environmental Microbiology*, 5(7), 555-565, 2003.

Bloomfield, S., Cookson, B., Falkiner, F., Griffith, C., Cleary, V., IFH (International Scientific Forum on Home Hygiene), Evde ve toplumda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Clostridium difficile* ve GSBL üreten *Escherichia coli*: Problemin tahlil edilmesi ve yayılımın önlenmesi, *Uluslararası Ev Hijyeni Bilimsel Forumu*, 2006.

Kariya, H. and Nielsen, A., “Arkeolojik Kazılarda Taş Buluntuların Konservasyonu”, *Japon Anadolu Arkeoloji Enstitüsü*, 13, 2002.

Khobragade, C.N., Rao, R.S., Borkar, P.S. and Yangade, R.S., “Microbially induced impact on physico-chemical properties of porous lime stones: A case study from Kandhar fort”, ***Current Science***, 91(10), 1318-1320, 2006.

Krieg, A. and Miltenburger, H.G., “Bioinsecticides: I. *Bacillus thuringiensis*”, ***Adv. Biotech. Proc.***, 3, 273-290, 1984.

Kumar, R. and Kumar, A.V., Biodeterioration of stone in tropical environment, ***Printed in the United States of America***, 85, 1999.

Lacey, L.A. and Undeen, A.H., “Microbial control of black flies and mosquitoes”, ***Ann. Rev. Entomol.***, 31, 265-296, 1986.

Laiz, L., Pinar, G., Lubitz, W. and Saiz-Jimenez, C., “Monitoring the colonization of monuments by bacteria: cultivation versus molecular methods”, ***Environmental Microbiology***, 5(1), 72-74, 2003.

Lee, Y. N., “Calcite Production by *Bacillus amyloliquefaciens* CMB01” ***The Journal of Microbiology***, 41(4), 345-348, 2003.

Madigan, M.T., Martinko, J. M., Stahl, D.A. and Clark, D. P., Brock Biology of Microorganisms, 13th ed, ***Pearson Education, Inc***, San Francisco, 2012.

Münnich, A. and Lübke-Becker, A., “*Escherichia coli* infections in newborn puppies-clinical and epidemiological investigations”, ***Theriogenology***, 62(3-4), 562-575, 2004.

Nataro, J.P. and Kaper, J.P., “Diarrheogenic *Escherichia coli*”, ***Clin. Microbiol. Rev***, 11(1), 142, 1998.

Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J. and Setlow, P., “Resistance of *Bacillus* Endospores to Extreme Terrestrial and Extraterrestrial Environments”, ***Microbiology and Molecular Biology Reviews***, 64(3), 548-572, 2000.

Northup, D.E. and Lavoie, K.H., “Geomicrobiology of Caves: A Review”, ***Geomicrobiology Journal***, 18, 199-222, 2001.

Özdoğan, E., “Taşın Çağlara Uzanan Evrensel Yolculuğu Üzerine Bir Analiz”, ***Doğal Yaşam Doğal Taş Sempozyumu***, İstanbul, s.7-11, 2012.

Özkan, H., Erzurum Çevresinde Bazı Tarihi Eserlerde Biyolojik Bozulmaya Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Tanısı, Doktora Tezi, ***Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Erzurum, s.7-25, 2009.

Pangallo, D., Simonovicova, A., Chovanova, K. and Ferianc, P., “Wooden art objects and the museum environment: identification and biodegradative characteristics of isolated microflora”, ***Letters in Applied Microbiology***, 45, 87–94, 2007.

Porter, A.G., Davidson, E.W. and Liu, J.W., “Mosquitocidal toxins of Bacilli and their genetic manipulation for effective biological control of mosquitoes”, ***Microbiol. Rev.***, 57 (4), 838-861, 1993.

Rodriguez-Navarro, C., Jroundi, F., Schiro, M., Ruiz-Agudo, E., and Gonzalez-Munozb, M. T., “Influence of Substrate Mineralogy on Bacterial Mineralization of Calcium Carbonate: Implications for Stone Conservation”, ***Appl. Environ. Microbiol.***, 78(11), 4017, 2012.

Salvadori, O., “The Control of Biodeterioration”, ***Coalition***, 6(1), 16-17, 2003.

Shirakawa, M.A., Cincotto, M. A., Atencio, D., Gaylarde, C.C. and John, V. M., “Effect of Culture Medium on Biocalcification by *Pseudomonas Putida*, *Lysinibacillus sphaericus* and *Bacillus subtilis*” ***Brazilian Journal of Microbiology***, 42, 499-507, 2011.

Sirt, E., Evaluation of Biodeterioration in Nemrut Mount Monument and Temple of Augustus By Using Various Techniques, Master of Science in Biology Department, ***Middle East Technical University***, Ankara, p.55, 2011.

Tayar, M., Anar, Ş., Soyutemiz, E., Bostan, K., Aksu, H. ve Çıbık, R., Hijyen ve Sanitasyon, Editör; Mustafa Tayar, **T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2349 Açıköğretim Fakültesi Yayını No: 1346**, 3-15, 2011.

Tiano, P., Biodegradation of Cultural Heritage: Decay Mechanisms and Control Methods, **CNR - Centro di studio sulle "Cause Deperimento e Metodi Conservazione Opere d'Arte**, Via G, Italy, 2002.

Tomaselli, L., Lamenti, G., Bosco, M. and Tiano, P., “Biodiversity of photosynthetic microorganisms dwelling on stone monuments”, **International Biodeterioration & Biodegradation**, 46, 251-258, 2000.

TS 699, Doğal yapıtaşları - İnceleme ve laboratuvar deney yöntemleri, **Türk Standartları Enstitüsü**, Ankara, 2009.

Tosun, H. ve Gönül, Ş. A., “*E. coli* O157: H7’nin Aside Tolerans Kazanması ve Asidik Gıdalarda Önemi”, **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi**, 10(1), 10-17, 2003.

Tunail, N., Mikrobiyoloji, **Pelin Ofset**, Ankara, 2009.

Tunca, M.Z., Aytemiz, L., Özaltın, O. ve Göçmen, G., “Mermer ihracatçısı işletmelerin mevcut durumlarına ilişkin bir araştırma”, **Süleyman Demirel Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Y.**, 12(3), 177-192, 2007.

Turgay, O., “Doğal Taş’ın Mekan Algısındaki Duyumsallığı - Duygusallığı”, **Doğal Yaşam Doğal Taş Sempozyumu**, İstanbul, s.34-38, 2012.

Urzi, C. and De Leo, F., “Biodeterioration of Cultural Heritage in Italy: State of Art”, **Ariadne Workshops**, Czechoslovakia, 2001.

Uyanık, T., “Doğal Taşlar”, **İGEME İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi**, 2010.

Wagenlehner, F.M.E., Pilatz, A., Naber, K.G. and Weidner, W., “Therapeutic challenges of urosepsis”, *Eur J Clin Invest*, 38(2), 45-49, 2008.

Wani, S.A., Bhat, M.A., Samanta, I., Ishaq, S.M., Ashrafi, M.A. and Buchh, A.S., “Epidemiology of diarrhoea caused by rotavirus and *Escherichia coli* in lambs in Kashmir valley, India”, *Small Ruminant Research*, 52, 145-153, 2004.

Warscheid, T. and Braams, J., “Biodeterioration of stone: a review”. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 46, 343-368, 2000.

West, A.W., Crook, N.E. and Burges, H.D., “Detection of *Bacillus thuringiensis* in soil by immuno fluorescence”, *J. Inverteb. Pathol*, 43, 150-155, 1984.

Yoshida, N., Higashimura, E. and Saeki, Y., “Catalytic Biomineralization of Fluorescent Calcite by the Thermophilic Bacterium *Geobacillus thermoglucosidasius*”, *Applied and Environmental Microbiology*, 76(21), 7322-7327, 2010.

Yumuturuğ, S., Halk Sağlığı Ders Kitabı, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 64, Ankara, 1988.

Zanardini, E., Abbruscato, N., Realini, M. and Sorlini, C., “Influence of atmospheric pollutants on the biodeterioration of stone”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45, 35-42, 2000.

ÖZ GEÇMİŞ

Hasan Hüseyin KOÇ 14.07.1988 tarihinde Konya’da doğdu. İlköğretim ve lise eğitimini Konya’da tamamladıktan sonra 2007 yılında girdiği Niğde Üniversitesi Biyoloji bölümünden 2011 yılında mezun oldu. Lisans eğitimini tamamladıktan sonra 2011 yılında Niğde Üniversitesinde yüksek lisans eğitimine devam etti ve 2014 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı.