

ORJİNAL MAKALE

# Suyu UV ışığı ile dezenfekte ederken hümik madde ve bakteri arasındaki etkileşimler

RE Cantwell<sup>1</sup> , R. Hofmann<sup>1</sup> ve MR Templeton<sup>2</sup><sup>1</sup> İnşaat Mühendisliği Bölümü, Toronto Üniversitesi, Toronto, ON, Kanada<sup>2</sup> İnşaat ve Çevre Mühendisliği Bölümü, Imperial College London, Londra, Birleşik Krallık

## Anahtar

Kelimeler Bacillus subtilis, dezenfeksiyon, Escherichia coli, hümik madde, partiküller, koruyucu, ultraviyole

## Yazışma Ron

Hofmann, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Toronto Üniversitesi, 35 St. George Street, Toronto, ON M5S 1A4, Kanada. E-posta: hofmann@ecf.utoronto.ca

2007/0964: 19 Haziran 2007'de alındı, revize edildi  
23 Ekim 2007 ve 3 Aralık 2007'de kabul edildi

doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03714.x

## Soyut

**Amaçlar:** Escherichia coli ve Bacillus subtilis'in ultraviyole (UV) ışıkla inaktivasyonunda akutik hümik maddenin etkisini araştırmak.

**Yöntemler ve Sonuçlar:** Tezgah ölçeğinde bir çalışma, Aldrich hümik asit (AHA) ve Suwannee Nehri doğal organik maddesinin (SR-NOM) E. coli ve B. subtilis'in yüzeyini kaplama ve düşük basınçlı UV ışığından koruma sağlama potansiyelini araştırdı. . 5 ve 14 mJ cm<sup>2</sup>'lik UV dozları, ayrıca dereceli suda dört hümik madde konsantrasyonunda (0, 10, 50 ve 120 mg/l) paralelleştirilmiş bir ışın kullanılarak uygulandı. Hem AHA hem de SR-NOM'un , 14 mJ cm<sup>2</sup> UV dozu için 50 ve 120 mg/l konsantrasyonlarında hem E. coli hem de B. subtilis için istatistiksel olarak anlamlı koruma sağladığı bulundu .

**Sonuçlar:** Hem E. coli hem de B. subtilis, hücrelerin UV ışığına duyarlılığını azaltabilen hümik madde ile kaplamaya karşı hassastır.

**Çalışmanın önemi ve etkisi:** Ortamdaki mikroorganizmalar, hümik madde ile etkileşim yoluyla, onları UV dezenfeksiyonuna temiz hücreler kullanılarak yapılan laboratuvar inaktivasyon çalışmalarına dayalı olarak tahmin edilenden daha dirençli hale getiren özellikler kazanabilir.

## Giriş

Ultraviyole (UV) inaktivasyon verileri genellikle yüksek kaliteli, hümik asit içermeyen sudaki mikroorganizmalar kullanılarak toplanır. Ancak bu, içme suyu arıtımı için ve özellikle humik malzemenin yaygın olduğu yüzey kaynaklarından gelen su arıtılırken tipik UV dezenfeksiyonunu temsil etmeyebilir. Bu çalışma, doğal ortamdaki hümik maddenin yüzey kaplama potansiyelini araştırdı.

Bakterilerin yüzlerini UV dezenfeksiyonundan korur.

Biyota, bitki örtüsü, toprak ve diğer kaynaklardan gelen doğal organik madde (NOM) tüm yüzey sularında mevcuttur. Bir araştırmada, yüzey sularındaki organik maddenin %50'si ve çözünmüş organik maddenin %90'ı hümik maddelerdi (Thurman 1985). Hümik maddeler hidrofobik (hümik asitler) ve hidrofilik (fulvik asitler) bileşenler olarak ikiye ayrılabilir (Thurman ve Malcolm 1981).

Hümik maddenin miktarı ve bileşimi, kaynak kaynaklara bağlı olarak büyük ölçüde değişir ve su içindeki biyotik ve abiyotik süreçler nedeniyle değişir.

(Kitis ve diğerleri 2001; Thurman 1985). Çoğu yüzey suyu 10 mg/l'den daha az hümik madde içerir. Hümik asit molekülleri çok işlevlidir (yani birçok farklı işlevsel gruba sahiptir) ve sulu metal katyonları (Hering ve Morel 1988; Manunza ve diğerleri 1995) ve hidrofobik organik moleküller (Fein ve diğerleri 1999) gibi çeşitli yüzeyler için afinite gösterebilir. Sonuç olarak, humiklerin mikrobiyal yüzeylerle etkileşime girebileceğinden şüphelenmek için iyi nedenler vardır.

Humik maddenin virüslerle ne ölçüde etkileşime girdiği son zamanlarda yapılan çalışmaların konusu olmuştur. Templeton ve ark. (2006), topraktan türetilen hümik asidin virüslerin yüzeyini kaplayarak onları UV dezenfeksiyonundan koruduğunu bildirmiştir. UV dezenfeksiyonu üzerindeki bu etki, virüsleri kaplayan ve 0.45 µm gözenek boyutundaki filtrelerden geçebilecek kadar ince olan hümik bir tabaka için gözlemlendi. Çalışma , T4 faj için 50 ve 150 mg/l 1 ve MS2 faj için 150 mg/l Aldrich humik asit (AHA) konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı koruma (a = 0.05) bildirmek Filtrelemenin (0.45-µm gözenek boyutu) üzerinde hiçbir etkisi olmadığı için

© 2008 Yazarlar

Dergi derlemesi © 2008 The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology 105 (2008) 25–35

inaktivasyon denemelerinde, yazarlar korumanın virüslerin yüzeylerini kaplayan humik asitten kaynaklandığını varsaydılar. Mevcut çalışma, bakteriler için benzer bir fenomenin gözlemlenip gözlemlenmediğini araştıracaktır.

Bakteriyel hücre duvarı yüzeyleri, hem hidrofilik hem de hidrofobik bölgeler sergileyen bakteri yüzeyleriyle sonuçlanan çok sayıda fonksiyonel grup (örneğin karboksil, fosfat ve fenolik) içerir (Harden ve Harris 1953). Bakteriler yaygın olarak, hücre boyama özelliklerine dayanan bir test olan Gram atamalarına göre kategorize edilir (Prescott ve ark. 1999). Bu çalışma için her iki kategoriden vekiller seçilerek, Gram gösteriminin humik kaplama ve müteakip koruma üzerindeki etkisi değerlendirilebilir.

Bu çalışma için iki vekil seçildi: Gram negatif olan *Escherichia coli* ve Gram pozitif olan *Bacillus subtilis* (*B. sub. tilis*).

Bu çalışma, Templeton ve diğerlerinin önceki çalışmalarını genişletti. (2006) çeşitli şekillerde. İlk olarak, topraktan türetilen humiklerin, gözlemlendiği gibi bakterileri kaplayıp kaplamayacağını araştırdı. virüsler. İkincisi, Templeton ve diğerleri tarafından kullanılan topraktan türetilen humiklerin kullanılmasına ek olarak, bu çalışma bir nehirden çıkarılan humik maddeyi de dikkate almıştır. Sudaki humik madde, içme suyu için kullanılan tam ölçekli bir UV reaktöründen geçebilen humik maddeleri daha iyi temsil eder. tedavi.

Bu çalışma aynı zamanda pH'ın humik madde tarafından sağlanan gözlenen koruma üzerindeki etkisini de değerlendirdi. Bir numunenin pH'ı, hem humik maddenin hem de bakteri yüzeylerinin yüzey kimyasını değiştirebilir (Harden ve Harris 1953; Fein ve diğerleri 1999). Bu, bakteri ve humik madde arasındaki yakınlığı etkileyebilir.

Bu çalışmanın amaçları (i) AHA veya Suwannee River NOM ilavesiyle herhangi bir yüzey kaplamasını ve bunun sonucunda *E. coli* ve *B. subtilis*'in düşük basınçlı UV ışığından korunmasını belirlemek; (ii) pH'ın (5, 7 ve 9) *E. coli*'nin UV ışığından AHA ve SR NOM koruması üzerindeki etkisini belirlemek; ve (iii) mikroskop kullanarak humik madde ile sudaki bakteri yüzeyleri arasındaki etkileşimi niteliksel olarak araştırmak.

## Malzemeler ve yöntemler

### DeneySEL durumlar

Bu çalışmada, humik madde tipi ve konsantrasyonu ile pH'ın, sudaki humik madde ve bakterilerin etkileşimlerine ilişkin temel soruları yanıtlamak üzere kontrol edilebilmesi için sentetik su matrisleri dikkate alınmıştır. Numune pH'ı, borik asit (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), sitrik asit (H<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O) ve trisodyum fosfat (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O) (EMD Chemicals Inc., Gibbstown, NJ, ABD) oranlarıyla hazırlanan tampon çözeltilerle 5, 7 veya 9 olarak kontrol edildi. 5, 7 ve 9 numune pH'ı için,

borik asit, sitrik asit ve tersiyer sodyum fosfatın nihai konsantrasyonları 13, 3 ve 7 mmol l)1 (pH 5), 10, 2-5 ve 5 mmol l)1 (pH 7) ve 7, 2 ve 3 mmol l) idi. 1 (pH 9). Tampon konsantrasyonları, 150 mg l)1 AHA eklendikten sonra numune pH'ını 0-1 U dahilinde tamponlayabilen minimum kimyasal konsantrasyonlara dayalı olarak belirlendi.

Numune pH'ı, bir VWR pH metre Model 8015 (VWR, Mississauga, ON, ABD) kullanılarak ölçülmüştür.

Numune karıştırma 200 ml'lik Nalgene şişelerinde gerçekleştirildi. Tampon çözeltiye humik madde ve bakteri ilave edildikten sonra 100 ml numuneler 15 saniye 8 hız ayarında vortekslenerek (Vortex Genie 2, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, ABD) karıştırıldı. *E. coli* ve *B. subtilis* ile düşük basınçlı UV ışığı (5 ve 14 mJ cm<sup>-2</sup>) ile UV inaktivasyon denemeleri tamamlandı. Her dezenfeksiyon denemesi 5 kez tekrarlandı (n = 5). Tüm deneyler 20°C'de yapıldı.

### humik madde

Bu deneyler için iki tür humik madde dikkate alınmıştır. AHA, sodyum tuzu (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, ABD) ve Suwannee Nehri'nden ters osmoz ile izole edilen suda yaşayan NOM (Uluslararası Humik Maddeler Derneği (kat no. 1R101N, Golden, CO, ABD). AHA, su kaynaklarından değil, doğrudan topraktan türetildiği için ideal humik vekil değildir (Malcolm ve MacCarthy 1986; Latorre ve diğerleri 2006). Bu nedenle SR NOM, doğal sucul humik maddeyi temsil etmek için de kullanılmıştır. 10 g l)1'lik stok çözeltiler, tam olarak tartılmış miktarlarda kurutulmuş AHA ve SR NOM'un Milli-Q su içinde çözülmesiyle hazırlandı. Bu solüsyonlar karanlıkta 4°C'de saklandı ve 28 günde bir taze olarak hazırlandı.

Deneyler, 0, 10, 50 ve 120 mg l)1 (AHA veya SR NOM) humik konsantrasyonları ile gerçekleştirilmiştir. AHA malzemesi kütlece %65 karbondu, dolayısıyla AHA için karbon eşdeğeri konsantrasyonları 0, 6Æ5, 32Æ5 ve 78 mg l) 1C idi ve SR NOM kütlece %51 karbondu, dolayısıyla SR NOM için karbon eşdeğeri konsantrasyonları 0 idi, 5Æ1, 25Æ5 ve 61Æ2 mg l)1 C. İçme suyu artıtımı için tipik kaynak suları genellikle 10 mg l)1'den daha düşük organik karbon konsantrasyonlarına sahipken, bu çalışmada kullanılan konsantrasyonlar, herhangi bir humik kaplama etkisini büyütme amacıyla seçilmiştir. temel ilkeye güvenle uyulmasını sağlamak için var olabilir. Ayrıca, bu tür konsantrasyonlar, gri su (TOC: 35-160 mg l)1 ) ve atık su (DOC: 20-40 mg l)1 ; TOK: 50-1000 mg l)1 ) (Kavanaugh

1978; Cairns ve ark. 1993; Ramón ve ark. 2004; Winward ve ark. 2007).

#### UV Koşullu Işın Pozlamaları

Bir mikroorganizmanın UV ışığına tepkisi, tipik olarak bir paralelleştirilmiş ışın UV cihazının yardımıyla belirlenir. Bir UV lambası tarafından yayılan UV enerjisi, yatay bir maruz kalma yüzeyine yönlendirilir. UV kaynağı, pozlama yüzeyine ulaşan UV ışığının yüzeye ortogonal olması için UV ışığını kolimasyon görevi gören silindirik bir tüp ile pozlama yüzeyinden ayrılır.

Numuneler kolimatöre yerleştirilir, iyice karıştırılır ve önceden belirlenmiş süreler boyunca UV ışığına maruz bırakılır.

İki düşük basınçlı cıva lambası ( $k = 253\text{nm}$ ) (model 9328-L24, Photoscience/Advanced UV Inc., Torrance, CA, ABD), UV radyasyonunun kaynağıydı. Lambalar, bir balast sisteminden geçen standart bir 120 V priz kullanılarak çalıştırıldı ve 4 inçlik programlı 80 PVC borudan yapılmış bir yönlendirme aparatına yerleştirildi. Cihaz, Suntec Environmental (Concord, ON, ABD) tarafından yapılmıştır. Bolton ve Linden (2003) tarafından açıklanan paralelleştirilmiş ışın deneyleri için standart UV doz ölçümü ve hesaplama yöntemleri izlendi. UV maruziyetleri, düz yataklı bir kolimatöre yerleştirilmiş 8-5 cm'lik bir Petri kabında 1-cm'lik bir mikro karıştırma çubuğu kullanılarak girdaplar oluşturmadan iyice karıştırılmış, düşük (sıvı derinliği = 0-34 cm) örneklerle tamamlandı. Maruz kalma yüzeyi boyunca UV yoğunluğunun dağılımı (yani 0.5 cm'ye 0.5 cm'lik bir izgara boyunca), bir SUD240 sensörü (International Light, Newburyport, MA, ABD) ile donatılmış bir IL1700 radyometre kullanılarak ölçüldü ve ortalama UV dozuna dahil edildi. Bolton ve Linden (2003) tarafından ayrıntılı olarak açıklandığı gibi hesaplama. Olay UV yoğunluğu yakl. Ekspozür yüzeyinde 0.19 mW cm<sup>2</sup> .

UV absorbans verileri ( $k = 254\text{nm}$ ) bir spektrofotometre (model CE3055, Cecil Instruments, Cambridge, İngiltere) ile toplanmıştır. UV soğurma ölçümleri, saçılan ışığı hesaba katmak için sabit 11 açılı merkeze monte entegre küre aksesuarı (Labsphere, North Sutton, NH, ABD) kullanılarak belirlendi (Christensen ve Linden 2003; Mamane ve Linden 2006). Alet, Milli-Q su kullanılarak her bir ölçüm setinden önce sıfırlandı.

Yönlendirilmiş ışın aparatında UV'ye maruz kalma süresinin belirlenmesi için Bolton ve Linden (2003)'te sunulan UV dozu hesaplama yöntemi izlendi. Bu yöntem, doz hesaplamasında numune UV absorbansını dikkate aldığından, daha yüksek UV absorbansına sahip numuneler için daha uzun maruz kalma süreleri ile sonuçlanmıştır. Örneğin, 14 mJ cm<sup>2</sup>'lik bir UV dozu için, humik madde içermeyen tipik örnekler için maruz kalma süresi

120 mg l)1 AHA'lı numuneler için kesin süre yaklaşık 180 s idi. Bu nedenle, UV dezenfeksiyon performansındaki herhangi bir müteakip düşüş, UV soğuran humik madde ve hedef bakteriler arasındaki yüzey seviyesi etkileşimleri gibi, bu UV dozu hesaplamasında dikkate alınmayan zamana bağlı faktörlere bağlanabilir. Bununla birlikte, bu tür faktörlerin önemsiz olacağına inanılmaktadır.

Escherichia coli ve B. subtilis örnekleri 5 ve 14 mJ cm<sup>2</sup> UV dozlarına maruz bırakıldı. Bu UV dozları, yakl. E. coli'nin 1- ve 5-log inaktivasyonu ve B. subtilis'in 1- ve 4-log inaktivasyonu. Dozlar, humik içermeyen numunelerde Templeton ve ark. (2006), humik kaplamanın etkisinin, MS2 ve T4 fajlarının 2 günlük etkisizleştirilmesine kıyasla 4 günlük etkisizleştirme için daha belirgin olduğunu buldu. UV inaktivasyon deneyleri, her bir bakteri (E. coli ve B. subtilis) ve humik madde (AHA ve SR NOM) kombinasyonu için 5 kez (n = 5) tekrarlanmıştır.

#### Bağlı ve bağılı olmayan humikleri ayırt etmek için filtrasyon deneyleri

Humik maddenin E. coli'nin yüzeylerine yapışacağını doğrulamak için bir deney tasarlandı. Test, humik madde ve E. coli içeren su numunelerinin 0.45 µm gözenek boyutunda bir nitroselüloz filtre (Fisher Scientific, Pittsburg, PA, ABD) kullanılarak filtrelenmesini içeriyordu. Deneyin ayrıntıları Sonuçlar bölümünde sunulmuştur. Bir kontrol adımı olarak, her bir filtre, numune filtrasyonundan önce 50 ml Milli-Q su ile durulanarak, membrandan süzülme hiçbir UV soğurucu materyalin durulanmadığından emin olundu.

#### Mikrobiyal yöntemler

E. coli (ATCC 15597) ve B. subtilis (ATCC 6633) kültürleri American Type Culture Collection'dan (Manassas, VA, ABD) satın alınmıştır. Stok kültürler, Standart Yöntem 9224-B'ye (APHA 2005) göre %10 steril gliserol ile -7°C'de donduruldu. Escherichia coli kültürü, bir aşılama özesine sahip bir plakadan E. coli ile 10 ml triptik soya suyu aşılayarak ve kültürü 37 ± 0.5°C'de 16 saat süreyle inkübe ederek Standart Yöntem 9224-C'deki (APHA 2005) protokolü takip etti. 16 saatlik kültürün 2±0 ml'lik bir alikotunu, 1 l'lik bir Pyrex kap içindeki 500 ml'lik triptik soya suyuna aseptik olarak aktarıldı ve 37 ± 0°C'de 4 saat süreyle inkübe edildi. B. subtilis, büyüme ortamı olarak besleyici besiyeri (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, ABD) kullanılması dışında benzer şekilde kültürlendi ve saklandı, 16 saatlik kültür için 20 ml brot ve 250 ml besi yeri olarak kullanıldı. stok büyümesi ve B. subtilis'in sallanmasına izin verildi.

İnkübasyonun tüm aşamalarında bir yörünge döndürücü kullanarak 200 devir dk-1 . Nihai B. subtilis kültürü 7 saat boyunca  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de büyütüldü.

Deney gününde donmuş hücre kültürü (E. coli veya B. subtilis) çözüldü ve aseptik olarak steril santrifüj tüplerine aktarıldı ve 14 480 g'de santrifüjlendi (Sorvall RC 5C Plus, Kendro Laboratuvar Ürünleri, Newtown, CT, ABD)  $4^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika (E. coli) veya 20 dakika (B. subtilis) için. Bu işlem, her seferinde süpernatant çıkarılarak tekrarlandı ve pelet, 6 hız ayarında vorteksleme (Vortex Genie 2, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, ABD) ile 10-5 ml steril Milli-Q su içinde yeniden süspansiyon edildi. Son santrifüj adımından sonra, kültürler  $10 \pm 5$  ml steril Milli-Q su içinde yeniden süspansiyon edildi ve o gün deneyler için kullanıldı. Elde edilen E. coli ve B. subtilis stok konsantrasyonları sırasıyla 108 -109 CFU ml<sup>1</sup> ve 107 CFU ml<sup>1</sup> olmuştur .

Dondurma/çözme işleminin sonuçlar üzerinde önemsiz bir etkiye sahip olduğundan emin olmak için bir kontrol testi yapılmıştır. Kontrol testinde, AHA içermeyen ve 50 mg l)1 AHA içeren hem taze hem de çözülmüş E. coli , 10 mJ cm<sup>2</sup> UV ışığına maruz bırakıldı . Taze ve çözülmüş E. coli'nin her biri yakl. Hümik madde olmadan 3-log inaktivasyon ve yakl. 50 mg l)1 AHA ile 2 günlük inaktivasyon , taze ve çözülmüş kültürler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok. Bu nedenle kontrol testi, hümik kaplama etkisinin donma/çözülmeden bağımsız olduğunu öne sürdü.

E. coli ve B. subtilis için numune sayımı, triptik soya agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, ABD) ve besin maddesi plakaları ile Standart Yöntem 9215-C'ye (APHA 2005) göre yayılmış plaka tekniği ile yapıldı. agar (Sigma-Aldrich Inc., St Louis, MO, ABD) sırasıyla. Plakalar, numaralandırmadan önce 20 ila 24 saat boyunca  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de inkübe edildi. 107 CFU ml<sup>1</sup> E. coli veya 106 CFU ml<sup>1</sup> B. subtilis konsantrasyonları UV inaktivasyonu ve filtrasyon deneyleri için kullanıldı. B. subtilis hem bir endospor hem de vejetatif bir hücre olarak var olabilir. B. subtilis Gram pozitif bakterileri temsil etmek için kullanıldığından, bu deneyler için gerekli olan vejetatif hücredir. Endospor hücreden çok daha fazla UV dirençli olduğundan, B. subtilis stoğunda spor bulunmadığından emin olmak için bir kalite kontrol adımı izlendi. Deneylerin her gününde, stok kültürün B. subtilis endosporlarından arı olduğu, Verhille ve diğ. (2003), numuneyi kaplamadan önce 15 dakika  $70^\circ\text{C}$ 'ye ısıtarak.

#### Mikroskopi Görüntüleme

E. coli ve hümik maddenin görüntüleri, bir Hitachi H7000 transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak toplanmıştır. (Hitachi High-Technologies Canada Inc., Rexdale, ON,

AMERİKA BİRLEŞİK DEVLETLERİ). Büyütme altında hümik maddenin bakteri yüzeyi için herhangi bir afinitesinin gözlemlenebileceği bekleniyordu. Negatif boyama için doğrudan uygulama yöntemi kullanılarak örnekler incelemeye hazırlandı (Doane ve Anderson 1987). 5 ul numune (E. coli, E. coli + 120 mg l)1 AHA veya E. coli + 120 mg l)1 SR NOM) doğrudan Formvar-karbon kaplı 400 gözenekli bakır ızgara üzerine yerleştirildi. boy. Numune damlacığı, kurumadan 120 saniye ızgara üzerinde oturmayaya bırakıldı. Izgara daha sonra doğrudan numune damlacığı üzerine 10 ul sulu %2 fosforungstik asit (PTA) (pH 6-5) veya 10 ul %2 sulu uranil asetat (UA) eklenerek negatif olarak boyandı.

PTA için 30 saniye veya UA için 15 saniye sonra, leke ve numune damlacığından gelen fazla sıvı filtre kağıdı ile ızgaradan çekildi ve ızgara yüzeyinde kurumaya bırakılan ince bir lekeli numune filmi bırakıldı. Kuruduktan sonra numuneler, 75 kV hızlandırıcı voltaj ile TEM kullanılarak incelendi ve şarjlı bir çift cihaz kullanılarak görüntüler alındı.

#### Veri sunumu ve istatistiksel analiz

Hümik maddeli denemeler (yani AHA veya SR NOM) ile kontrol denemeleri (yani hümik maddesiz) için log inaktivasyon veri setleri arasında Student t-testi karşılaştırmaları ( $\alpha = 0.05$ ) yapılmıştır. Her UV dozunda her hümik koşul için en az beş tekrarlı maruz bırakma gerçekleştirildi.

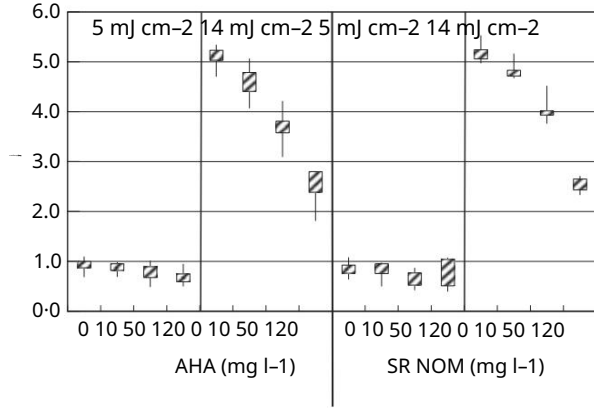
Bu çalışmada, kutunun üst ve alt kenarlarının sırasıyla veri setinin 75. ve 25. yüzdelik değerlerini temsil ettiği ve bıyıkların maksimum ve minimum değerlerine kadar uzandığı log inaktivasyon verilerini sunmak için bu çalışmada kutu ve bıyık grafikleri kullanılmıştır. veri seti. Bu, normal dağılıma uymayan veri kümeleri için uygun olmayan, yalnızca ortalama değerleri dikkate almak yerine her bir veri kümesinin tüm dağılımını gösterir.

#### Sonuçlar

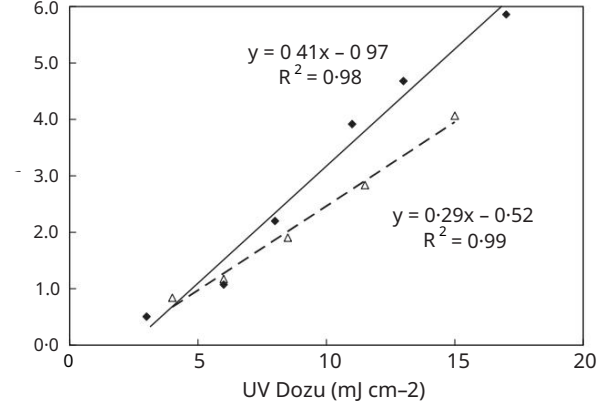
##### UV inaktivasyon sonuçları

AHA ve SR NOM'un bakteri inaktivasyonuna etkisi (E. coli ve B. subtilis) iki UV dozunda (5 ve 14 mJ cm<sup>-2</sup>) , sırasıyla E. coli ve B. subtilis için Şekil 1 ve 2'de rapor edilmiştir. Hümik madde eklenmemiş E. coli için yakl. 5 ve 14 mJ cm<sup>-2</sup>'lik düşük basınçlı UV dozları için 1- ve 5-log inaktivasyon gözlemlendi .

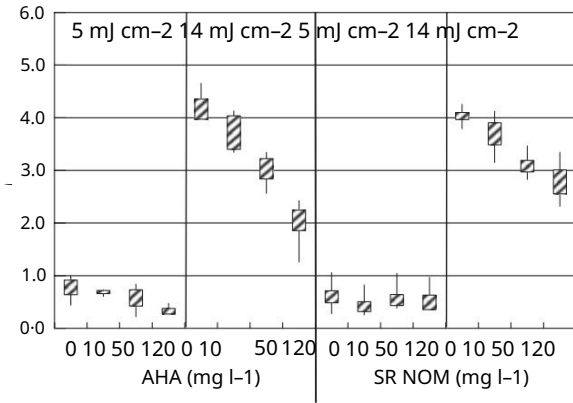
Bu sonuçlar, literatürde bildirilen E. coli'nin UV ışığına karşı UV duyarlılığı ile tutarlıdır (Hijnen ve ark. 2006). ATCC 15597 E. coli ve ATCC 6633 B. subtilis'in (vejetatif hücreler) UV inaktivasyon kinetikleri



Şekil 1 Aldrich humik asit veya Suwannee Nehri doğal organik maddesinin pH 7'de (n = 5) varlığında düşük basınçlı ultraviyole ile Escherichia coli log inaktivasyonu.



Şekil 3 Düşük basınçlı UV ışığı (pH = 7) ile Escherichia coli (r, ATCC 15597) ve Bacillus subtilis (n, ATCC 6633) bitkisel hücreleri için ultraviyole (UV) doz-yanıt eğrisi.



Şekil 2 Bacillus subtilis (vejetatif hücreler), pH 7'de (n = 5) Aldrich humik asit veya Suwannee Nehri doğal organik maddesi varlığında düşük basınçlı ultraviyole ile inaktivasyonu kaydedir.

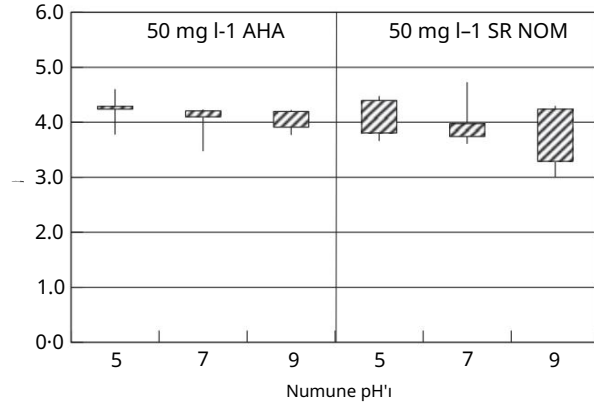
Literatürde bulunmayan kinetik, Şekil 3'te regresyon verileriyle birlikte sunulmaktadır.

14 mJ cm<sup>2</sup>'lik sabit bir UV dozu için elde edilen hem E. coli hem de B. subtilis'in log inaktivasyonu, hem AHA hem de SR NOM eklenmesiyle azaldı. Student'in %95 CI (α = 0.05) kullanan ortalamaların t-testi karşılaştırmasına dayanarak, humik asit içermeyen numuneler arasında 14 mJ cm<sup>2</sup>'lik bir UV dozu için E. coli'nin log inaktivasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. ilave (0 mg l<sup>-1</sup>) ve hem 50 hem de 120 mg l<sup>-1</sup> AHA veya SR NOM. Şekil 1'de gösterilen sonuçlar, humik içerikle artan UV etkinliğindeki azalmanın büyüklüğünü göstermektedir, bu da koruma seviyesinin konsantrasyona bağlı olduğunu göstermektedir. AHA varlığında log inaktivasyonundaki bir azalma, Templeton ve diğerleri tarafından sunulan verilerle tutarlıdır. (2006) MS2 ve T4 fajlarının etkisizleştirilmesi için.

İstatistiksel olarak önemli olmasının yanı sıra, humik maddenin E. coli ve B. subtilis'in inaktivasyonu üzerindeki etkisinin büyüklüğü dramattır. 14 mJ cm<sup>2</sup>'ye maruz bırakılan E. coli içeren numuneler için, 20 mg l<sup>-1</sup> AHA veya SR NOM içerdiğinde yalnızca 2.5-log inaktivasyon elde edildi. Bu, humik madde yokluğunda aynı UV dozu için elde edilen E. coli'nin 5 log inaktivasyonu ile karşılaştırıldığında, log inaktivasyonda %50'lik bir azalmayı temsil eder. Benzer şekilde, 120 mg l<sup>-1</sup> AHA içeren ve içermeyen numunelerdeki B. subtilis inaktivasyonu karşılaştırıldığında, log inaktivasyonunda %50'lik bir azalma gözlemlendi (AHA'sız 4 log'dan 120 mg l<sup>-1</sup> AHA ile 2 log'a). Log inaktivasyonu üzerindeki etki açısından, SR NOM, AHA'ya kıyasla B. subtilis'i korumada biraz daha az etkiliydi.

Daha yüksek UV dozundaki sonuçların aksine, daha düşük UV dozu (5 mJ cm<sup>2</sup>) uygulandığında, humik maddenin ne E. coli ne de B. subtilis için inaktivasyon üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadı, ancak hafif bir eğilim Şekil 1 ve 2'de gözlenmektedir. Muhtemel bir açıklama, humik maddenin E. coli veya B. subtilis'in inaktivasyonu üzerindeki etkisinin, yalnızca yaklaşık olduğunda UV dozu için 5 mJ cm<sup>2</sup> veri seti içindeki varyasyondan daha küçük olmasıdır. 1 günlük etkisizleştirme sağlandı. Alternatif bir açıklama, bakterilerin yalnızca küçük bir kısmının (örn. <10%) humik kaplamadan etkilendiği ve bu nedenle 1-log inaktivasyonu için kayda değer bir etkinin görülmediğidir. Mikrobiyal numaralandırmada çok az değişim için kontroler için (0 mJ cm<sup>-2</sup>), Şekil 1 ve 2'de gözlenen değişkenliğin çoğunun organizmaların UV'ye maruz kalmasından kaynaklandığını gösterir.

Değişken numune pH'ı için E. coli log inaktivasyonu sonuçları Şekil 4'te sunulmuştur. pH



Şekil 4 Aldrich humik asit veya Suwan nee Nehri doğal organik maddesinin pH 5, 7 veya 9'da (n = 5) varlığında 14 mJ cm<sup>2</sup> düşük basınçlı ultraviyole dozu ile Escherichia coli log inaktivasyonu .

(5, 7 ve 9) 50 mg l'de AHA veya SR NOM içeren numuneler için)1

#### Hümik yıkama denemeleri

Hümik kaplamanın ve UV etkinliğinde gözlemlenen azalmanın bakterilerden hümik maddeyi yıkayarak tersine çevrilip döndürülemeyeceğini belirlemek için bir başka etkisizleştirme denemesi tamamlandı. E. coli ve 120 mg l)1 AHA karıştırıldı ve 10 mJ cm<sup>2</sup> UV ışığı kullanılarak inaktivasyon belirlendi. UV'ye maruz bırakmayan paralel bir numune, 4°C'de 15 dakika süreyle 14 480 g'de santrifüjlendi. Pelet, steril Milli-Q su içinde yeniden süspansiyon edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Yıkama örneğinin alikotları daha sonra 10 mJ cm<sup>2</sup>'ye maruz bırakıldı. Her numune durumu için log inaktivasyonu Tablo 1'de rapor edilmiştir (yıkama sırasında canlı bakteri kaybı, ilk sayımların <math>10^{-1}</math> ile sınırlandırılmıştır. Bu kayıplar, sonraki log inaktivasyonu hesaplamalarında hesaba katılmıştır). Tekrarlanan (n = 5) maruz kalmalar için standart sapmalar rapor edilir. Hümik madde yokluğunda E. coli'nin 2-8-log inaktivasyonu gözlemlendi, bu daha önceki deneylerle tutarlıydı (Şekil 3). 120 mg l)1 AHA içeren numunedeki E. coli inaktivasyon seviyesi AHA içermeyen numune ile karşılaştırıldığında, 10 mJ cm<sup>2</sup> dozu için E. coli azalmasında yaklaşık 2 log azalma

Tablo 1 Yıkamanın Escherichia coli inaktivasyonu ve numune ultraviyole (UV) absorpsiyonu üzerindeki etkisi

Örnek	Günlük devre dışı bırakma ± SD	UV emilimi (santimetre) <sup>-1</sup>
E. coli (humik içermez)	2.8±0.2	0.3
E. coli + 120 mg l)1 AHA	1.1±0.2	2.7
Yıkamış E. coli	2.1±0.4	0.4

gözlemlendi (yani 2.8 log'dan 1.1 log'a). Paralel E. coli/AHA karışımını yıkadıktan sonra, etkisizleştirme seviyesi 2x1 log'a yükseldi ve kısmen orijinal 2x8 log inaktivasyona geri döndü.

Santrifüjlemeden sonra E. coli peletinin görsel incelemesinden, AHA'nın tamamının olmasa da çoğunun yıkama sırasında E. coli'den çıkarıldığı açıktı. Hümik maddenin yokluğunda, E. coli peleti opak görünür. Numunedeki AHA ile peletin ortasında koyu bir nokta belirgindi. Bu nedenle hümik maddenin çoğu santrifüjlemeyle uzaklaştırılırken, santrifüjlemeyle üçüncü bir durulamadan sonra bile kalan bir miktar AHA vardı. Yeniden süspansiyon edilen numunelerin UV absorpsiyonundan da (bakınız Tablo 1) AHA'nın neredeyse tamamının yıkama işlemiyle çıkarıldığı açıktı. E. coli'nin kendisi tipik olarak 0-3 cm<sup>2</sup> 1'lik bir UV absorpsiyonuna katkıda bulunmuştur; ancak hümik materyalin eklenmesiyle UV absorpsiyonu tipik olarak 2-7 cm<sup>2</sup>'e ulaştı. Yıkamadan sonra numune absorpsiyonu 0.4 cm<sup>2</sup>'e düştü.

Santrifüjlemenin hümik-hücre etkileşimi üzerinde ne gibi bir etkisi olduğu net olmamakla birlikte, az miktarda hümik maddenin (örn. yıkama numunesinde kalan ve numunenin UV absorpsiyonunda 0.1 cm<sup>2</sup> hafif bir artışa neden olan miktarın) olduğu açıktır.) Etkisizleştirme için etkinliği üzerinde kayda değer bir etkiye sahip olabilir; bu durumda, ortalama 0.7-log daha az inaktivasyonu temsil eder. Santrifüjleme, hümik hücre bağlanmasını değiştirerek bu değerlendirilmeyi şaşırtmadığı sürece, hümik maddenin küçük bir kısmı hücreye güçlü bir şekilde yapışmış olabilir. Bu, önceki sonuçların yalnızca en yüksek hümik madde konsantrasyonlarında (yani 50 ve 120 mg l)1 istatistiksel olarak anlamlı (α = 0.05) koruma göstermiş olmasına rağmen, hümik maddenin daha düşük konsantrasyonlarda birikmesinin mümkün olabileceği anlamına gelir. bir hücrenin yüzeyinde ve UV ışığından koruma sağlar. Bu kanıt, içme suyu arıtımı bağlamında önemlidir. Suların çoğu, bu çalışmada kullanılanlardan çok daha düşük hümik madde konsantrasyonları içeriyor olsa da, zamanla çevredeki mikroorganizmaların yüzeylerinde hümik maddeleri biriktirebileceği ve UV ışığından tahmin edilenden daha fazla koruma sağlayabilecek şekilde konsantre olabileceği varsayılmaktadır. toplu su hümik konsantrasyonuna dayalıdır.

Gelecekteki çalışmalar bu hipotezi araştırmalıdır.

#### Hümik maddenin parçacık boyutuna etkisi

UV inaktivasyon deneyleri bir pıhtılaşma adımı içermiyordu ve varsayımsal yüzey kaplama olayını parçacık girişimlerinden izole etmek için pıhtılaşma istenmiyordu. AHA veya SR NOM ilavesinin hücrelerin herhangi bir pıhtılaşmasına veya toplanmasına yol açıp açmadığını belirlemek için partikül boyutu analizi yapılmıştır. Partikül boyutu analizi, bir Multisizer 3 partikülölü kullanılarak tamamlandı

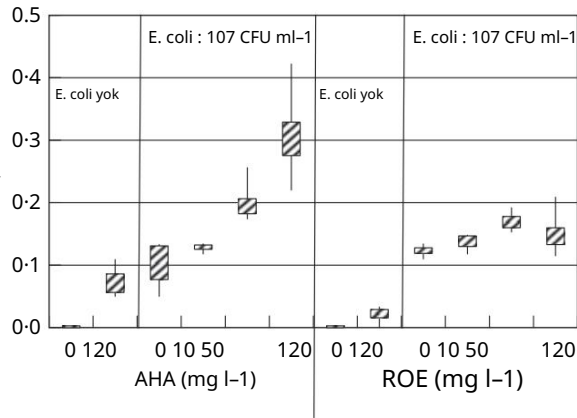
hümik madde içeren ve içermeyen numuneler için analiz cihazı (Beckman Coulter Canada, Mississauga, ON). Hümik asit içermeyen numuneler, >3 l m'den (parçacıkların sayısı göre <0-%5'i) neredeyse hiç parçacık içermez. Benzer şekilde 120 mg l)1 AHA veya SR NOM ile, hümik madde ilavesiyle E. coli agregasyonu varsa bile çok az olmuştur (parçacıkların >3 l m sayısına göre <0-%5). Bu alıştırmanın amacı, E. coli'nin dağıldığını ve AHA veya SR NOM ilavesinin E. coli hümik partikülleri veya kümeleri oluşturmadığını doğrulamaktır. Bu, UV ışığından korumanın parçacıkla ilgili korumadan veya hücre agregasyonundan kaynaklanan korumadan kaynaklanmadığını gösteren önemli bir kontrol adımıydı.

#### Filtreleme denemeleri

Hümik maddenin E. coli'nin yüzeyine yapışabileceği teorisini test etmek için ayrı bir deney yapıldı.

E. coli çözünmüş hümik madde ile karıştırıldı ve

daha sonra tüm E. coli'yi yakalayacak ancak çözünmüş hümik maddenin geçmesine izin verecek 0-45 l m'lik bir filtreden filtrelendi. Filtre üzerinde tutulan E. coli'nin UV absorbansı belirlendi (Şekil 5'te 'partikül UV absorbansı' olarak belirtilmiştir), hümik maddeye ilk kez maruz kalan filtrelenmiş E. coli'nin daha yüksek bir UV absorbansına sahip olacağı teorisi ile belirlendi. bir kontrol numunesinde hümik maddeye maruz kalmamış olan filtrelenmiş E. coli'den daha fazla, böylece hümik maddenin E. coli'nin yüzeyine yapışacağını gösterir. (Pratikte, filtrelenmiş E. coli'nin UV absorpsiyonunu ölçmenin mümkün olmadığına dikkat edin. Bunun yerine, 'filtrelenmiş E. coli' absorbansı, içeren ilk numunenin absorbansı arasındaki fark olarak hesaplandı.



Şekil 5 Esc herichia coli ve hümik asitler (Aldrich hümik asit veya Suwannee Nehri doğal organik maddesi) nedeniyle 254 nm'de ultraviyole ışığın soğurulması, pH 7'de (n = 5) 0-45 l m filtrelerde tutulduğu hesaplanmıştır.

© 2008 Yazarlar

Dergi derlemesi © 2008 The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology 105 (2008) 25-35

E. coli artı humik madde ve filtrelenmiş numunenin absorbansı).

Bu deneyin sonuçları Şekil 5'te gösterilmektedir. Sadece 120 mg l)1 AHA veya SR NOM (E. coli yok) içeren kontrol numunelerinde UV soğurulmasında yakl. Filtre boyunca 0-08-0-02 cm)1, muhtemelen koloidal hümik maddenin filtre tarafından emilmesi veya tutulması nedeniyle. Tek başına "temiz" E. coli (yani, Şekil 5'teki hümik madde konsantrasyonu 0 mg l)1), yaklaşık olarak bir UV absorbansına sahipti. 0-10 cm)1 numune filtreden geçirilirken tamamen uzaklaştırılmıştır. Bu nedenle, hümik madde bağılı olmayan hümik madde nedeniyle filtre boyunca kaybolan toplam UV absorbansının 0-12-0-18 cm)1 mertebesinde olduğu tahmin edilebilir. Bununla birlikte, E. coli 120 mg l)1 AHA ile ilk kez karıştırıldığında, filtre boyunca kaybolan absorbans ortalama 0-3 cm)1 idi, bu da hücrelere bir miktar hümik maddenin yapıştığını ve çıkarıldığını düşündürür. Buna karşılık, 50 mg l)1 AHA numunesi ve SR NOM içeren tüm numunelerde UV absorbansındaki E. coli kaybı hücrelerine bağlanarak filtre boyunca giderildiğine dair kesin bir kanıt yoktu. kontroller için gözlenen 0-2 cm)1'den büyük değildi.

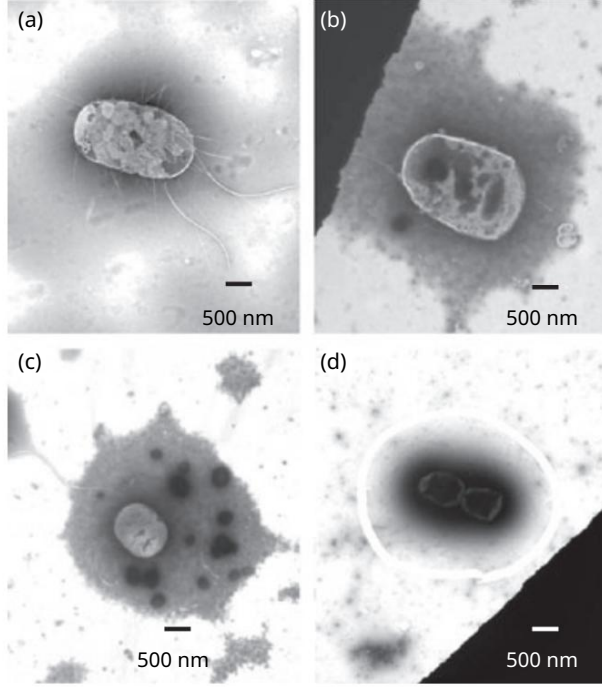
E. coli'nin mikroskopi görüntülemesi

E. coli'nin transmisyon elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 6'da sunulmaktadır. E. coli (örn. Şekil 6a), hümik madde içeren ve içermeyen numunelerdeki şekli ve tipik flagella ve pili ile kolayca tanımlandı. PTA ile boyanmış hümik madde (hem AHA hem de SR NOM), hümik madde yokluğunda E. coli için gözlenmeyen belirgin grenli kapsüller üretti (örn. Şekil 6b ve c'ye karşı a). Şekil 6b,c'de gösterildiği gibi, bu kapsüller E. coli ile etkileşime girme eğilimindedir.

#### Tartışma

Hümik maddenin UV inaktivasyonu üzerindeki etkisi

İnaktivasyon sonuçları, virüsler (MS2 ve T4) için bildirilen AHA kaplama fenomeninin (Templeton ve diğerleri 2006) bakteriler (E. coli ve B. subtilis) için de gözlemlenebileceğini göstermektedir. Ek olarak, hümik madde yüzey kaplama olayı ticari hümik asitlerle (AHA) sınırlı değildir, SR NOM için de bulunmuştur. Hem AHA hem de SR NOM'un, 14 mJ cm<sup>-2</sup> UV dozu için 50 ve 120 mg l)1 konsantrasyonlarda hem E. coli hem de B. subtilis için istatistiksel olarak anlamlı (α = 0-05) koruma sağladığı bulundu. 14 mJ cm)2'ye maruz kalan numuneler için, 120 mg l)1 hümik madde eklenmemiş numunelere kıyasla log inaktivasyonunda %50'ye varan bir azalma gözlemlendi.

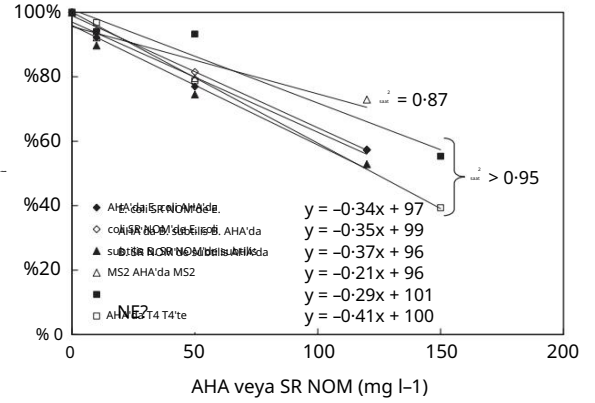


Şekil 6 Fosforitongstik asit (PTA) ile boyanmış (a) Escherichia coli bakterisinin (hümik madde içermeyen), (b) PTA ile boyanmış E. coli ve Aldrich hümik asidin (AHA) transmisyon elektron mikroskobu görüntüleri, (c) PTA ile boyanmış E. coli ve Suwannee Nehri doğal organik maddesi ve (d) ultraviyole ile boyanmış E. coli ve AHA.

#### Hümik içeriği indirgeme eşdeğer dozu ile ilişkilendirme (KIRMIZI)

Şekil 1 ve 2'de 14 mJ cm<sup>2</sup>'ye maruz kalan numuneler için inaktivasyon verilerinin görsel olarak incelenmesi, yüzey kaplamanın UV dezenfeksiyonu üzerindeki etkisinin numunedeki hümik madde konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir. Bu ilişki, 14 mJ cm<sup>2</sup>'ye maruz kalan numuneler için hümik konsantrasyon RED ile geri çekilerek KIRMIZI, UV maruziyeti sırasında ölçülen log inaktivasyonun spesifik mikroorganizma için UV doz-yanıt eğrisine girilmesiyle belirlenen UV dozu için tek bir değerdir. Şekil 1 ve 2'de sunulan etkisizleştirme veri setlerinin her biri için KIRMIZI, hem E. coli hem de B. subtilis için Şekil 3'te sunulan doz-tepki verileri kullanılarak belirlendi. Korelasyonlar, hümik madde ile RED'deki yüzde azalmaya dayanıyordu, böylece eğilimler E. coli ve B. subtilis'in UV duyarlılığından ayrılabilir. Sonuçlar Şekil 7'de sunulmaktadır. Bu çalışmadan alınan inaktivasyon verilerine ek olarak, Templeton ve ark. (2006) RED'e dönüştürüldü ve karşılaştırma için dahil edildi. Lineer korelasyon katsayıları güçlü bir lineer ilişkiyi gösterir.

<sup>2</sup>) biri hariç tümü için (SR'de B. subtilis



Şekil 7 AHA veya Suwannee Nehri doğal organik maddesinin mevcudiyetinde Escherichia coli, Bacillus subtilis, MS2 veya T4'ün indirgeme eşdeğer dozunun yüzdesi. Templeton ve ark.'dan uyarlanan MS2 ve T4 verileri. (2006). (MS2 ve T4 inaktivasyon verileri, MS2:  $y = 0.047x + 0.022$ ; T4:  $y = 0.068x$  kullanılarak RED'e dönüştürüldü; burada y, log inaktivasyon ve x, ultraviyole dozudur).

KIRMIZI ile numunedeki humik madde konsantrasyonu arasında. Regresyona dayalı olarak, AHA veya SR NOM'da 10 mg l<sup>-1</sup>'lik bir artış için, RED'de %3 ila %4 arasında bir azalma beklenir.

Bu çalışmalarda kullanılan bakteri ve virüsler farklı yüzey özelliklerine ve UV ışığına karşı hassasiyete sahiptir. Bu çalışmada kullanılan vekil bakteriler, hem Gram pozitif hem de negatif bakterileri temsil edecek şekilde seçilmiştir; Templeton ve diğerleri tarafından kullanılan viral vekiller. (2006), toprak parçacıklarına adsorpsiyona dayalı olarak ayrı kategorilerden seçilmiştir. UV duyarlılığı açısından, yaklaşık bir UV dozu için E. coli, B. subtilis, MS2 ve T4'ün 4-log inaktivasyonu elde edilir. 11, 14, 80 ve 7 mJ cm<sup>2</sup>'ye maruz olarak. Bu nedenle, Şekil 7'de gözlemlenen eğilim, hem mikrobiyal yüzey özelliklerinden hem de UV duyarlılığından kaynaklanmaktadır. KIRMIZI ve hümik içerik arasındaki ilişki, yani her 3 mg l<sup>-1</sup> hümik madde için KIRMIZI'da %1'lik bir düşüşün beklenebileceğini düşündürür, bu nedenle birçok mikroorganizma için geniş ölçüde uygulanabilir olabilir.

Hümik madde varlığında pH'ın E. coli inaktivasyonu üzerindeki etkisi

Bakteriyel yüzeyler, protonlar kazanılıp kayboldukça pH ile yük değiştiren fonksiyonel gruplar (örneğin karboksil, fosfat ve fenolik) içerir (Harden ve Harris 1953). Hümik hücre yüzey etkileşimlerinin ve dolayısıyla yüzey kaplama seviyesinin ve UV ışığından korumanın, hücrelerin yüzey özelliklerine (pH'ya bağlı olan) bağlı olabileceği varsayılmıştır. pH'ın (5, 7 ve 9) E. coli'nin düşük basınçlı UV dezenfeksiyonundan AHA ve SR NOM koruması üzerindeki etkisi bir UV için test edilmiştir.



50 mg l)1 AHA veya SR içeren numuneler kullanılarak 14 mJ cm<sup>-2</sup> dozu (yani hümkik madde içermeyen 4 log inaktivasyon) İSİM.

254 nm'de UV ışığının hümkik madde (AHA veya SR NOM) tarafından absorbandsında pH 5 ve 9 arasında numune pH'ındaki değişiklik için bir değişiklik gözlenmedi. Bu, diğer yayınlarla tutarlı bir gözlemdir (Weishaar ve ark. 2003). Bu önemlidir, çünkü pH ile hümkik maddenin UV emilimindeki bir değişiklik, pH'nın hümkik kaplama üzerindeki etkisinin değerlendirilmesini ve ardından E. coli hücrelerinin korunmasını karıştırabilirdi.

pH'in inaktivasyon seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmamasına rağmen, verilerdeki dağılım nedeniyle bu güçlü bir sonuç değildir. Özellikle, Şekil 4'teki veri setinin 75. ve 25. yüzdelik değerlerini temsil eden SR NOM verilerinin kutuları, AHA verilerine (<math>0.05\text{-log}</math>) kıyasla nispeten geniştir (1±5-log'a kadar). Bu verilerde, herhangi bir gerçek pH etkisi,

<sup>1</sup> günlük.

Fein ve ark. (1999), AHA'nın B. subtilis hücrelerine absorpsiyonunun, pH <math><5</math>'te %90'dan fazla adsorpsiyon ve pH >9'da ihmal edilebilir adsorpsiyon ile pH (2 ile 12 arasında) ile azaldığını bildirmektedir. Görünüşe göre bu fenomen, bu deneyin koşulları altında E. coli'nin UV ışığından korunmasını etkilememiştir. B. subtilis üzerinde paralel deneyler yapılmadı.

#### Humik-bakteri etkileşimleri

Hümkik bakteri etkileşimlerini incelemek için iki yaklaşım dikkate alınmıştır. İlki, hümkik bakteri ekinin varlığını niteliksel olarak değerlendirmek için bir dizi filtrasyon denemesiydi ve ikincisi, etkileşimleri mikroskopik ölçekte incelemek için transmisyon elektron mikroskobu (TEM) aracılığıyla örneklerin görüntülenmesiydi.

Filtrasyon çalışması (Şekil 5), bir kerede, E. coli'yi 120 mg l)1 AHA ile karıştırırken, hümkik maddenin hücrelere, hücrenin UV emiliminde bir artış gözlemlenerek ölçülen bir dereceye kadar bağlanabileceğini göstermiştir. 0.45 µm filtre tarafından yakalanan hücreler. SR NOM ve daha düşük AHA konsantrasyonlarının kullanıldığı diğer tüm koşullar, ölçümlerdeki arka plan değişkenliğinin üzerinde ayırt edilebilecek sonuçlar sağlamazken, 120 mg l)1 AHA ile elde edilen kanıtlar, UV dezenfeksiyonundan bu koruma mekanizmasının makul olduğunu öne sürmektedir. .

Bu koruma mekanizmasına ilişkin daha fazla kanıt toplamak için, temsili numunelerin TEM görüntüleri toplandı. Bununla birlikte, bu görüntüler sulu numunelere ait değildir ve sabitleme ve boyamanın hümkik hücre etkileşimleri üzerindeki etkisi bilinmediğinden, bu görüntülerden sulu numunelere ilişkin yalnızca çok genel çıkarımlar yapılabilir.

humik-bakteri etkileşimleri. Numunenin TEM kullanılarak taranması, neredeyse tüm E. coli'nin hümkik madde ile etkileşime girdiğini ancak hümkik maddenin tamamının E. coli'ye yakın olmadığını gösterdi. Bu sonuçlar, Formvar-karbon yüzeyi üzerinde sabitlendiğinde ve boyandığında hümkik madde ile E. coli yüzeyleri arasında bir yakınlık olduğunu göstermektedir. Bu görüntüler mutlaka sulu hümkik hücre etkileşimlerini yansıtmaz, ancak prensip olarak E. coli ile hümkik madde arasında bir yakınlığın var olduğunu öne sürerler.

TEM görüntülerini toplamak için kullanılan boya (yani PTA), hümkik madde ve hücreler arasındaki etkileşimi etkileyebileceğinden, ikinci bir boya kullanıldı. UA ile boyanmış örneklerdeki E. coli ve hümkik madde, PTA ile boyanmış görüntülerden oldukça farklı göründü. Bir fark, hümkik madde içeren PTA lekeli numunelerde (yani Şekil 6b,c) karakteristik olan, hücre çevresinde hümkik kapsülün olmamasıydı (bkz. Şekil 6d). İlk bakışta bu, UA boyası kullanıldığında hümkik hücre etkileşimi olmadığını gösterir; ancak, hümkik maddenin E. coli yüzeyi ile etkileşime girdiğine dair anekdot niteliğinde kanıtlar mevcuttur. UA ile boyanmış hümkik maddeli numunelerde, çoğu E. coli hücrelerinin çevresinde var-karbon Formunda bir yırtılma gözlemlendi (yani, Şekil 6d'de E. coli'nin etrafındaki beyaz halka). Formvar-karbon yırtılması, TEM analizinde nadir değildir ve tipik olarak ızgaranın kurutma sırasında hasar görmüş veya aşırı yüklenmiş bölgelerinde meydana gelir. Hümkik madde içermeyen UA ile boyanmış E. coli örneklerinde 2 veya 3 hücre yakın mesafede olsa bile çok az yırtılma gözlemlendi. Bu, hümkik madde içeren numuneler için, E. coli hücrelerinin her birinin hümkik madde içermeyen numunedeki E. coli'den önemli ölçüde daha fazla kütleyle sahip olduğunu, muhtemelen hümkik maddenin hücre ile etkileşime girmesine, ancak UA tarafından boyanmamasına bağlı olarak göstermektedir.

Dolayısıyla bu görüntüler hümkik madde ile E. coli yüzeyleri arasında bir yakınlık olduğunu göstermektedir. Sabitleme ve boyama işleminin görüntüleri ne ölçüde etkilediği belirsizdir. Süzme denemeleri, sulu numunelerde bu etkileşimin ya süzme sırasında ayrılmaya izin verecek kadar zayıf olduğunu ya da geleneksel spektroskopi ile ölçülmesi zor olan az miktarda hümkik madde ile sınırlı olduğunu göstermektedir. Yıkama denemesi sonuçları (Tablo 1), yalnızca 0-1 cm)1'lik bir UV absorbandsına katkıda bulunan hümkik madde için UV etkinliğinde yaklaşık 0-7-log azalma gözlemlendiğini gösterdiğinden, hümkik maddenin nispeten küçük bir fraksiyonu koruma etkili olabilir. gözlemlendi. Ayrıca, hümkik maddeyi bakterilerden temizleme çabaları kısmen başarılı olduğundan, hümkik hücre etkileşimlerinin çoğu zayıf veya tersine çevrilebilir olabilir.

Özetlemek gerekirse, bu çalışmadan aşağıdaki sonuçlar çıkarılabilir: 1 Hem AHA hem de SR NOM, hem E. coli hem de B. subtilis (gram) için istatistiksel olarak anlamlı ( $\alpha = 0.05$ ) koruma sağladı.

pozitif ve Gram-negatif bakteriler), 14 mJ cm<sup>-2</sup> UV dozu için 50 ve 120 mg l<sup>-1</sup> konsantrasyonlarda .

2 RED'deki azalma ile hümkik içerik arasında doğrusal bir korelasyon gözlemlendi (bu çalışmadan ve literatürden alınan veriler bir araya toplanıyor). Her 3 mg l<sup>-1</sup> hümkik madde için RED'de %1'lik bir azalma gözlemlendi . Bu ilişki büyük ölçüde mikroorganizma ve hümkik tipten bağımsızdı.

3 AHA veya SR NOM tarafından sunulan düşük basınçlı UV ışığından koruma seviyesi, 5 ile 9 arasındaki pH'a duyarlı değildi.

Bu, kontrollü koşullar altında hümkik maddenin UV dezenfeksiyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir kavram kanıtı çalışmasıdır. UV dezenfeksiyonu üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olduğu bulunan hümkik madde konsantrasyonu (yani 50 ve 120 mg l<sup>-1</sup> ), çoğu doğal su için tipik değildir. Hümkik içerikli sular için yüzey kaplamasının ve müteakip bakteri ve virüslerin korunmasının etkilerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. yüzey suyu için ortak konsantrasyonlar. Örneğin, yıkama denemeleri, hücrelere bağlı kalan küçük bir hümkik madde miktarı için kayda değer bir korumanın (yani 0-7 log) gözlemlendiğini gösterdiğinden, yüksek hümkik madde konsantrasyonları, kaplama ve müteakip koruma için gerekli bir koşul olmayabilir. Mikroorganizmaların 3 mg l<sup>-1</sup> ) hümkik konsantrasyonlara uzun süre maruz kalmasının çoğu yüzey sonuçlanabilme olasılığı (örn. hümkik madde konsantrasyonları ve konsantrasyonundan dolayı benzer koruma) ileride incelenmeye değerdir.

Hümkik kaplama potansiyeli ve ardından *Cryptosporidium* oostistleri ve *Giardia* kistlerinin UV ışığından korunması da araştırmayı garanti eder çünkü UV ışığı genellikle bu klora dirençli patojenleri hedeflemek için bir tedavi zincirine yerleştirilir.

Hümkik asitlerin etkili KIRMIZI'yı azaltma potansiyeli, yüksek organik içeriğe sahip UV sistemlerinde özellikle önemli olabilir. Bir örnek, yalnızca koliform bakterileri hedefleyen ve yalnızca 20 mJ cm<sup>-2</sup>'lik bir UV dozu uygulayabilen atık su uygulamalarıdır . Atık su ve gri su daha yüksek seviyelerde organik içerdiğinden, organik içeriği düşük bir yüzey suyuna kıyasla RED'deki azalma daha belirgin olabilir.

## teşekkürler

Bu araştırma, Entegre Dezenfeksiyon Stratejileri Optimizasyon Projesi aracılığıyla Kanada Su Ağı çalışması (CWN) tarafından finanse edilmiştir. Yazarlar, TEM analizindeki yardımları için Toronto Üniversitesi Tıp Fakültesinden Steven Doyle'a ve laboratuvarındaki yardımları için İçme Suyu Araştırma Grubundan (Toronto Üniversitesi) Carole Baxter'a minnetle teşekkür eder.

## Referanslar

- APHA (2005) Su ve Atık Suların İncelenmesi için Standart Yöntemler, 21. baskı. Washington, DC: Amerikan Halk Sağlığı Derneği.
- Bolton, JR ve Linden, KG (2003) Masaüstü ölçekli UV deneylerinde akı (UV dozu) belirleme yöntemlerinin standardizasyonu. *J Env Eng ASCE* 129, 209-215.
- Cairns, WL, Sakamoto, G., Comair, CB ve Gehr, R. (1993) Bir paralel ışın ve pilot tesis kullanılarak orta basınçlı lambalarla bir fiziko-kimyasal atık maddenin UV dezenfeksiyonunun değerlendirilmesi. Su Çevresi Federasyonu Özel Konferansı Tutanakları. Alexandria, VA: Su Çevresi Federasyonu.
- Christensen, J. ve Linden, KG (2003) Filtrelenmemiş içme suyunun UV dezenfeksiyonunda partiküller UV ışığını nasıl etkiler? *J Am Su İşleri Doç.* 95, 179-189.
- Doane, FW ve Anderson, N. (1987) *Elektron Mikroskopu Teşhis Virolojisi*. Cambridge, Birleşik Krallık: Cambridge University Press.
- Fein, JB, Boily, JF., Gu'çju", K. ve Kaulbach, E. (1999) Hümkik asit adsorpsiyonunun bakteri ve al-oksit mineral yüzeylerine deneysel olarak incelenmesi. *Chem Geol* 162, 33-45.
- Harden, VP ve Harris, JO (1953) İzoelektrik noktası bakteri hücreleri. *J Bacteriol* 65, 198-202.
- Hering, JG ve Morel, FMM (1988) Kalsiyum ve bakırın hümkik asit kompleksleşmesi. *Environ Sci Technol* 22, 1234-1237.
- Hijnen, WAM, Beerendonk, EF ve Medema, GJ (2006) Sudaki virüsler, bakteriler ve tek hücreli (oo)kistler için UV radyasyonunun etkisizleştirme kredisi: bir inceleme. *Su Çözünürlüğü* 40, 3-22.
- Kavanaugh, MC (1978) Trihalometan öncülerinin daha iyi uzaklaştırılması için değiştirilmiş pıhtılaşma. *J Am Su İşleri Doç.* 70, 613-620.
- Kitis, M., Kilduff, JE ve Karanfil, T. (2001) Çözünmüş organik maddenin (DOM) ters ozmoz kullanılarak yüzey sularından izolasyonu ve bunun DOM'un dezenfeksiyon yan ürünlerinin oluşumu ve türleşmesine karşı reaktivitesi üzerindeki etkisi. *Su Res* 35, 2225-2234.
- Latorre, SS (2003) Hümkik maddeler içeren klorlu suyun UV dezenfeksiyonundan düşük moleküler ağırlıklı organik bileşiklerin oluşumu. Uygulamalı Bilimler Yüksek Lisans Tezi, Toronto, ON, Kanada, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Toronto Üniversitesi.
- Malcolm, RL ve MacCarthy, P. (1986) Su ve toprak araştırmalarında ticari hümkik asitlerin kullanımının sınırlandırılması. *Environ Sci Technol* 20, 904-911.
- Mamane, H. ve Linden, KG (2006) Toplanan mikropların UV dezenfeksiyonu üzerindeki etkisi. II: akıcılık için uygun absorpsan ölçümü. *J Env Eng ASCE* 132, 607-615.
- Manunza, B., Deiana, S., Maddau, V., Gessa, C. ve Seeber, R. (2008). (1995) Metal-humat komplekslerinin stabilite sabitleri: biyomodul Gauss dağılımı ile analiz edilen titrasyon verileri. *Soil Sci Soc Am J* 59, 1570-1574.

- Prescott, LM, Harley, JP ve Klein, DA (1999) Mikrobiyoloji, 4. baskı. Toronto, ON, Kanada: McGraw Hill.
- Ramon, G., Green, M., Semiat, R. ve Dosoretz, D. (2004) Düşük mukavemetli gri su karakterizasyonu ve doğrudan membran filtrasyonu ile arıtma. Tuzdan arındırma 170, 241-250.
- Templeton, MR, Hofmann, R. ve Andrews, RC (2006) Suda hümk kaplı bakteriyofaj MS2 ve T4'ün UV inaktivasyonu. J Environ Eng Sci, 5, 537-543.
- Thurman, EM (1985) Doğal Suların Organik Jeokimyası. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers.
- Thurman, EM ve Malcolm, RL (1981) Sudaki hümk maddelerin hazırlayıcı izolasyonu. Environ Sci Technol 15, 463-466.
- Verhille, S., Hofmann, R., Chauret, C. ve Andrews, RC (2003) Klor dioksit kullanarak *Cryptosporidium* inaktivasyonunun göstergeleri olarak yerli bakteri sporları. J Su Sağlığı 1, 91-100.
- Weishaar, JL, Aiken, GR, Bergamaschi, BA, Fram, MS, Fujii, R. ve Mopper, K. (2003) Çözünmüş organik karbonun kimyasal bileşimi ve reaktivitesinin bir göstergesi olarak spesifik ultraviyole absorpsiyonunun değerlendirilmesi. Environ Sci Technol 37, 4702-4708.
- Winward, G., Avery, L., Frazer-Williams, R., Jeffrey, P. ve Jefferson, B. (2007) Yeniden kullanım için gri suyun klor dezenfeksiyonu: partiküllerin ve organiklerin etkisi. WEF Bildirileri/AWWA Dezenfeksiyon 2007 Özel Konferansı, Pitts burgh, PA: Water Environment Federation ve American Water Works Association.