

Grander® Teknolojisi kullanılarak Sudaki Ağır Metal Bilgisinin Pozitif Değişiminin
İspatlanmasına ilişkin Biyolojik Metot
Fosforesan/özışınır Bakteri Testi

Johann Grander şunu ifade etmiştir: “Grander® Teknolojisi doğal enerji ile çalışmaktadır. Bu özellikten dolayı, artık negatif bir etkisi olmaması için negatif bilginin kutupluluğunu tersine çevirebilmektedir. Negatif bilgiyi nötrlemek doğanın kendisinden gelen enerji ve bilgi kullanımıyla mümkündür.” Bu çalışma Johann Grander’in ifadesine mikrobiyolojik bir kanıt sunmaya çalışmaktadır.

Grander® Teknolojisi ile kirliliğin pozitif değişimini açıklamak için biyolojik test modelleri ararken, genel olarak erişilebilir olan veya prosedürleri standardize edilmiş araştırma metotları üzerine yoğunlaştım. Uygun ekipmanların bulunduğu her laboratuarda aynısı yapılabilecek bir metodu bulmak önemliydi. Bu test raporu daha geniş bir araştırmanın bir parçasıdır. Test metotlarımın ayrıntıları benden her zaman alınabilir.

Amerikan araştırmacı A.A. Bulich Fosforesan bakterilerin yüksek düzeyde duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Zehirli maddelerin varlığında bile, fosforesan yoğunluk düşmektedir. 1979 yılında, bu bakterilerin kirlenmiş suyun zehirliliğini belirlemek amacıyla da kullanılabileceği aklına gelmiştir. Bakterilerin biyoluminesansının ölçümünde başarmıştır.

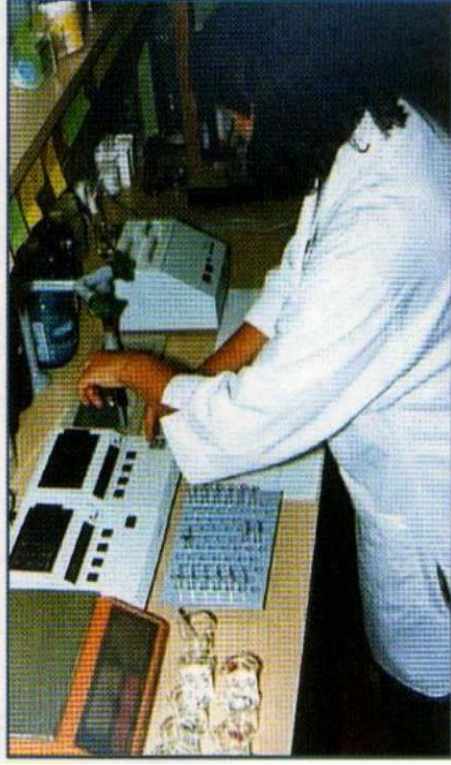
Tek bir paragrafta özetlenirse, ölçümünün prensibi çok “aydınlatıcıdır”: durumu iyi olduğunda, fosforesan bakterisinin tam yoğunlukta yayılmaktadır. Fakat, en küçük miktarda bile zehirli malzemelerin var olduğunda, daha düşük yoğunlukta parlamaktadır. Fosforesan çıktıdaki farklılık ölçülebilir.

Fosforesan Bakteri Testi – Standardize edilmiş bir Prosedür

Bu arada, fosforesan bakteri testi kendisini öyle bir ölçüde ispatlamıştır ki, 1991 yılında prosedür standardize edilmiştir. DIN 38412, Bölüm 34’e göre, fosforesan bakterileri kullanarak atık suyu test etmek mümkün değildir. Bu normun atık sudaki kirleticiler için geliştirilmiş olmasına rağmen, içme suyu ve atıklardan gelen drenaj suyu da dahil tüm diğer su türleri için geçerlidir.

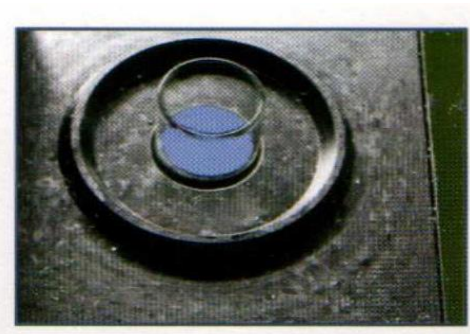
Malzeme ve Metot

Test için kullanılan fosforesan bakteriler Dr. Lange firmasından alınmıştır (bunlar burada LUMISmini olarak adlandırılmaktadır). Bunlar 18 santigrat derecede saklandı. Aynı anda temin edilen etkinleşme/etkinleştirme sıvısı ile, bakteriler yalnızca 15 dakika içinde test için hazırlanabilir. Bu yeniden canlandırılmış/etkinleştirilmiş fosforesan bakteriler ile birlikte, testler laboratuarda hazırlanan bakteri askıları üzerinde de yapılabilir.



Fosforosan bakteri testleri için laboratuvar istasyonu. Ön planda, iki LUMISmini ısıölçer ve arkalarında da askıyı sabit bir ısıda tutmak için bir thermoblok bulunmaktadır. Ölçümler atılabilir cam kaseler içinde 15 santigrat derece ve 21 santigrat derece alınmaktadır.

Luminesans ölçümleri LUMISmini Type LPG 298 olarak adlandırılan Dr. Lange firmasından alınan ölçüm cihazı kullanılarak yapılmaktadır. Bu cihaz ile iki tür ölçüm kaydedilebilmektedir: gerçek fosforesan çıktısı veya önceden seçilmiş standart bir değere ilişkin fosforesan çıktısındaki varyasyon (artış veya azalma). Tek bir ölçüm yaklaşık olarak 10 saniye sürmektedir. Her bir deneyde, yüzde 2 sodyum klor içeren yeniden canlandırılmamış doğal içme suyu içeren standart bir örnek test edilmektedir.



Fosforesan bakteri askısının fosforesan çıktısının (biyoluminesans) ölçülebileceği LUMISmeter'ın detayı. Enstrüman fosforesan çıktısındaki azalmayı standart bir değere kıyasla yüzde olarak kaydetmektedir.

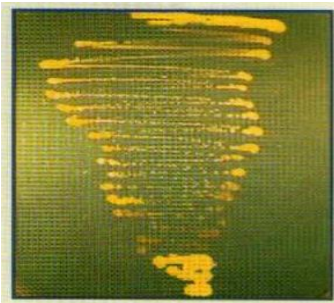
Biyoluminesans

“Feneri” ile birlikte erkek ateşböceklerini cezp etmek için ılımlı Mayıs akşamlarında alacakaranlıkta yola çıkan dişi ateşböceklerini herkes bilir. Bazı türlerde, dişi ateşböcekleri uçamamaktadır. Bu nedenle, ot saplarının tepesine tırmanır ve kendilerine has yeşilimsi sarı ışıklarını dışarı gönderirler. Bunu yapmasının amacı, kendi ışığı ile cevap verebilecek uçabilen bir erkek eşi cezp edebilmektir.

Photobacterium phosphoreum ve *Vibrio fischeri* diye adlandırılan suda yaşayan fosforesan bakteri türleri, 490 nanometre dalga uzunluğunda mavimsi floresan ışığı yaydıkları denizde bulunurlar. Bu Biyoluminesans (bir organizma tarafından ışık emisyonu) bakteri hücrelerinin metabolik (değişken) şartlarına doğrudan bağlıdır. Emisyonlarla özellikle iyi durumdayken güçlüdür.



Bir mikroskop altındaki fosforesan bakterinin resmi hücre çekirdeğinin dışında Luminesans olduğunu göstermektedir. Biyoluminesansın gücü bakterinin pozitif metabolik durumunun bir ölçümüdür. Zehirli maddeler fosforesan çıktısını düşürür.



Karanlıkta, bakterilerin fosforesansı (bioluminesans) özellikle çıplak gözle açık bir şekilde gözlenebilir. Uygun miktarda tuzun eklenmesi ile, fosforesan bakteriler laboratuvar kapları üzerinde kültür edilebilir. Bu ise, zehirli maddelere yüksek düzeyde duyarlılık gösteren taze bakteri askılarının üretilmesine izin verir.

Fosforesan Bakterilerin Özel Nitelikleri

- Bakteriler genelde ve bilhassa denizde yaşayan bakteriler bilinen en eski yaşayan varlıklardı ve fakat, kirletici maddeler açık bir şekilde duyarlıdırlar.
- Fosforesan bakteriler genellikle duyarlı ve hızlı bir şekilde tepki gösterirler. Bu da yalnızca 30 dakika sonra yapılmış bir ölçümünün çoğu zaman belirli bir sonuca ulaştırdığı manasına gelmektedir.
- Tek bir fosforesan bakteri testinde yaklaşık olarak bir milyon bakteri kullanılmaktadır. Bu da, testin bir milyon hücrenin davranışını incelediği manasına gelmektedir.
- Fosforesan bakteri testi kalite kontrol metotları kullanılarak standardize edilebilir. Bu da, belirli ve kıyaslanabilir – ve daha da önemlisi tekrarlanabilir – sonuçların elde edilmesi manasına gelmektedir.

Test Metodu

Test dizilerinde, kirlenmemiş, yeniden canlandırılmamış içme suyu ağır metallere kirlenmektedir. Bu fosforesan bakteriler denizde yaşayan varlıklar olduğundan dolayı, test edilen suya yüzde 2 sodyum eklemek gerekmektedir. Bu su örneği daha sonra iki eşit parçaya bölündü. Parçanın biri, Grander® Enerji Çubuğu 10 saniye boyunca içine daldırarak yeniden canlandırılmıştır; ikinci parça ise yeniden canlandırılmamış halde kalır. Böylece, her iki su örneğinin kompozisyonu tamamen aynıdır. Grander® Enerji Çubuğu (Energy Rod) ile yeniden canlandırma (Grander® Bilgi suyu ile doldurulur) suya ne bir şey ekler ne de ondan herhangi bir şeyi çıkarır. Her iki su örnekleri daha sonra fosforesan bakteri testlerine tabi tutulur. Test için kullanılan bakteri askısı aynı miktarda dağıtılır ve her iki test serisindeki konsantrasyon ve fosforesan çıktı aynı sıcaklıkta ve aynı süreden sonra ölçülür. Bu test serileri için temel konsepttir.

.0625 ve 1 mg/l arasında Kurşun Konsantrasyonları olan Suyun Fosforesan Bakteri Testi

- mg/l analitik olarak saptanabilir seviyenin aşağısında kurşun içerikli yeniden canlandırılmamış içme suyu laboratuarda kurşun su (kurşun nitrat) ile karıştırıldı, ve aşağıdaki konsantrasyonlar sağlandı: 0.0625 mg/l, 0.125 mg/l, 0.25 mg/l, 0.5 mg/l ve 1.0 mg/l.

İçme suyundaki izin verilen en yüksek konsantrasyon şuan 0.05 mg/l'de durur. Böylece, burada test edilen su örnekleri ilk örnek hariç olmak üzere, içilemez olarak nitelendirilmiş olur.

Sonuçlar

Ordinat üzerindeki negatif değerler fosforesan çıktısının engellenmesini ifade etmektedir, pozitif değerler fosforesan çıktısındaki bir artışı – Grander® yeniden canlandırmasının bir sonucu- temsil etmekte ve ifade etmektedir. Fosforesan çıktısındaki bu artışlar içme suyunun litre başına 0.25 mg kurşunun altındaki konsantrasyonlarda meydana gelir. Besbelli, fosforesan çıktısından sorumlu biyolojik süreç üzerinde tezgensel bir etkidir.

Grafik, 30 dakikalık bir sürenin ardından yeniden canlandırılmamış su üzerindeki etkiyi işaret etmekte ve göstermektedir. İçme suyunun litre başına 0.0625 mg kurşun konsantresi fosforesan çıktısı açısından önemli bir azalma yaşamamaktadır. Litre başına 0.125 mg kurşun olan bir konsantrasyonda, düşüş yüzde 6'dır. Halbuki, litre başına 0.25 mg kurşun konsantrasyonda düşüş yüzde 10'dur. Litre başına 0.5 mg kurşun konsantrasyonda düşüş % 33'dür ve litre başına 1.0 mg kurşun konsantrasyonda, düşüş % 52'dir.

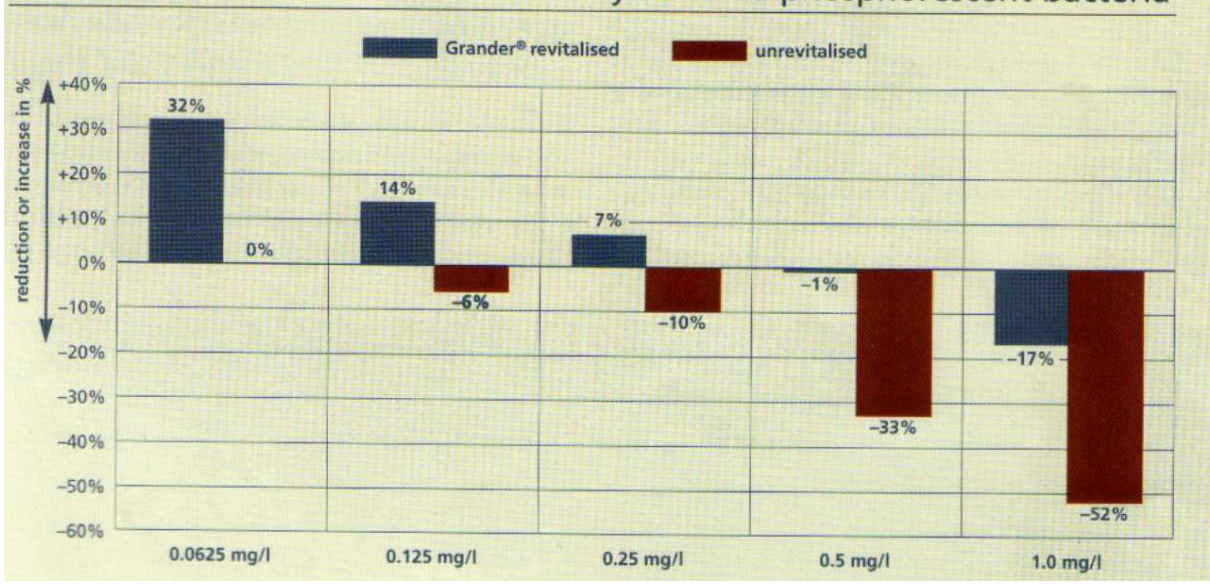
60 dakikalık bir bekleyiştikten sonra, kıyaslanabilir değerler % -3, % -5, % -19, % -43 ve % -62.

Grafik ayrıca, 30 dakikalık süreden sonra Grander® yeniden canlandırma üzerindeki etkiyi göstermektedir. İçme suyunun litre başına 0.0625 mg'lik bir konsantrasyonda % 32 oranında fosforesan çıktıda gerçek bir artış meydana gelmektedir. 0.125 mg/l konsantrasyonda ise, artış % 14 oranındadır ve 0.25 mg/l'de artış yaklaşık olarak % 7'dir. 0.5 mg/l kurşun konsantrasyonunda % -1 oranında küçük bir düşüş meydana gelmektedir. 1.0 mg/l konsantrasyonda ise düşüş % -17'dir.

60 dakika beklendikten sonra, kıyaslanabilir değerler % +10, % +1, % -5, % -15 ve % -44'dür.

İçme Suyundaki Kurşun

30 dakikalık etki süresi – taze kültür edilmiş fosforesan bakteriler

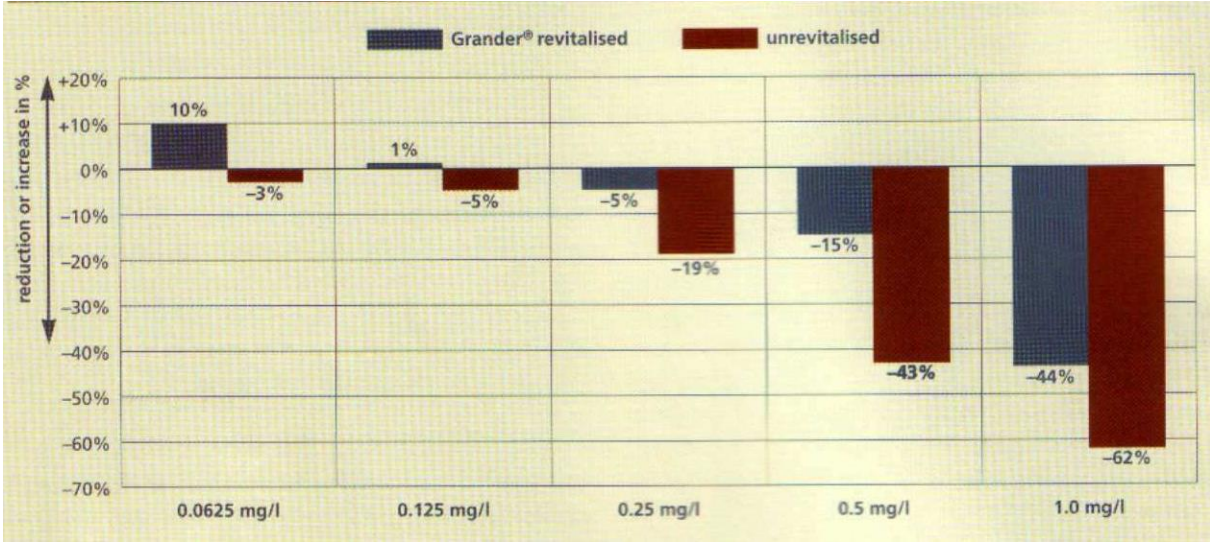


Konsantrasyonlar

Bir rakamın/sayının önündeki eksi (-) fosforesandaki düşüşü ifade etmektedir. Bir rakamın önündeki artı (+) fosforesandaki artışı işaret etmektedir.

İçme Suyundaki Kurşun

60 dakikalık etki süresi – taze kültür edilmiş fosforesan bakteriler



Konsantrasyonlar

Yeniden Canlandırılmamış Suya nazaran Önemli Farklılıklar

Test sonuçları Grander® ile yeniden canlandırılmış su ve yeniden canlandırılmamış su arasında her ikisi de benzer kurşun konsantrasyonları içerirken önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir.

30 dakika sonra ulaşılan/elde edilen değerler özellikle ilginçtir, 60 dakika sonra elde edilen değerler çok önemli düzeyde bir farklılık göstermemektedir. Ancak, bu Grander® Teknolojisinin daha az etkili olduğu anlamına gelmez, Fakat zehrin etkileri zamana bağlıdır.

Grander® teknolojisi kullanılarak yeniden canlandırılmış kurşun içeren suda, 30 dakika sonra, içme suyunun litre başına 0.5 mg'ye kadar olan kurşun konsantrasyonları pratik olarak hiçbir fosforesan düşüşü göstermemektedir. Litre başına ancak 1.0 mg değerinde, % 17'lik bir etki kaydedilmiştir. Yeniden canlandırılmamış suda ise, litre başına 0.125 mg'lik bir konsantrasyonda bir düşüş hali hazırda kaydedilmiştir ve litre başına 1.0 mg'de % -52'ye ulaşmaktadır.

0.0007 ve 0.07 mg/l arasında Cıva İçerikli Suyun Fosforesan Bakteri Testleri

.0005 mg/l'lik analitik olarak saptanamayan seviyenin altında cıva içerikli yeniden canlandırılmamış içme suyu bir cıva tuzu (cıva II sülfat) ile karıştırıldı ve şu konsantrasyonlar elde edildi: 0.0007 mg/l, 0.0035 mg/l, 0.007 mg/l, 0.035 mg/l ve 0.07 mg/l. İçme suyunda şuan izin verilen en yüksek cıva konsantrasyonu 0.001 mg/l'dir. Böylece, test edilen su örnekleri ilk örnek hariç olmak üzere içilemez durumdaydı.

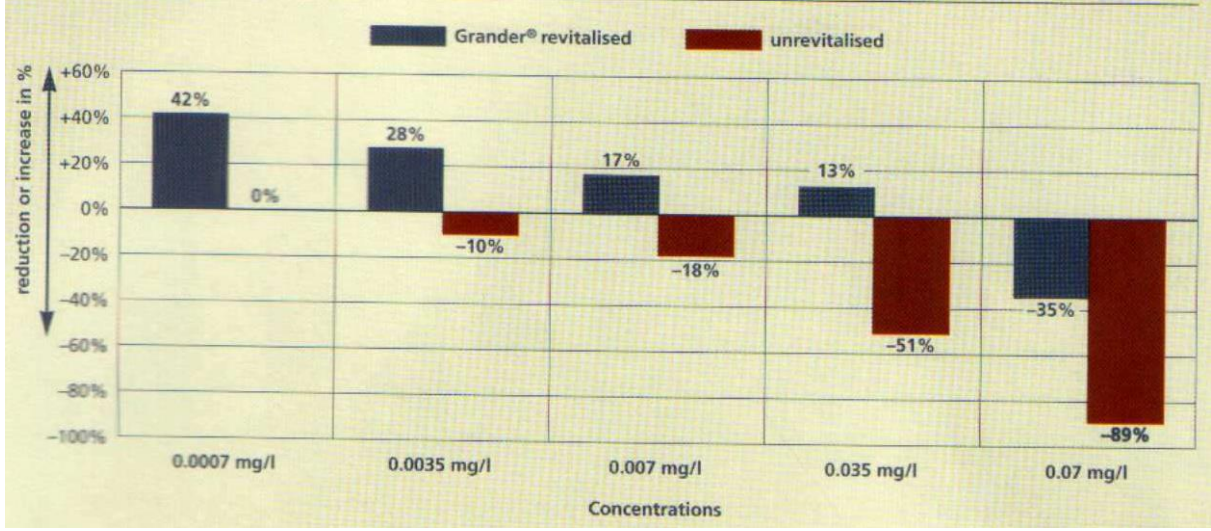
Cıva İçeren Örneklerdeki Sonuçlar

	0.0007 mg Hg/l	0.0035 mg Hg/l	0.007 Hg/l	0.035 mg Hg/l	0.07 mg Hg/l
unrevitalised	0%	-10%	-18%	-51%	-89%
Grander® revitalised	-42%	+28%	+17%	+13%	-35%

50 dakikalık etki süresi – taze kültür edilmiş fosforesan bakterileri 1 ml örnek + 0.4 ml bakteri askısı).

İçme Suyundaki Cıva

50 dakikalık etki süresi – taze kültür edilmiş fosforesan bakteriler



Sonuçlar

Grander® ile yeniden canlandırılmış su örneklerinin fosforesan çıktısında düşük kurşun ve ayrıca kadmiyum içeriklerinde artış bulunmuştur. Grafik, 50 dakikadan sonraki sonuçları göstermektedir. Kurşun ile kıyaslandığından, cıva, fosforesan bakterilere önemli düzeyde daha zehirlidir veya ters bir deyişle: fosforesan bakteriler çözeltide kurşuna nazaran cıvaya çok daha fazla duyarlıdır.

Grander® yeniden canlandırma işlemine tabi tutulmuş örnekte, .035 mg/l'lik konsantrasyonda fosforesan çıktısında bir artış görülmüştür. Ancak 0.07 mg/l ve üzeri konsantrasyonlarda, yeniden canlandırılmış örnek de de % -35 civarında fosforesan çıktısında bir düşüş meydana gelmiştir.

Cıva içerikli, yeniden canlandırılmamış suda ise, 0.00035 mg/l'de halihazırda küçük bir düşüş meydana gelmiştir. Grander® ile yeniden canlandırılmış örnek ile yeniden canlandırılmamış örnek arasındaki en büyük farklılık 0.035 mg/l'lik konsantrasyonda görülmüştür. Yeniden canlandırılmış örnekte, % +13 civarında fosforesan çıktısında bir artış görülmüştür: yeniden canlandırılmamış örnekte düşüş % +51 oranındaydı.

0.005 ve 0.25 mg/l arasındaki Kadmiyum İçerikli Suyun Fosforesan Bakteri Testi

Bir önceki testlere benzer bir şekilde, kadmiyumsuz içme suyu kadmiyum iyonları kadmiyum klor monohidrat şeklinde karıştırıldı, ve 0.005 mg/l, 0.01 mg/l, 0.05 mg/l, 0.1 mg/l ve 0.25 mg/l konsantrasyonlarına ulaşıldı. İçme suyundaki mevcut maksimum izin verilebilir kadmiyum konsantrasyonu 0.005 mg/l'dir.

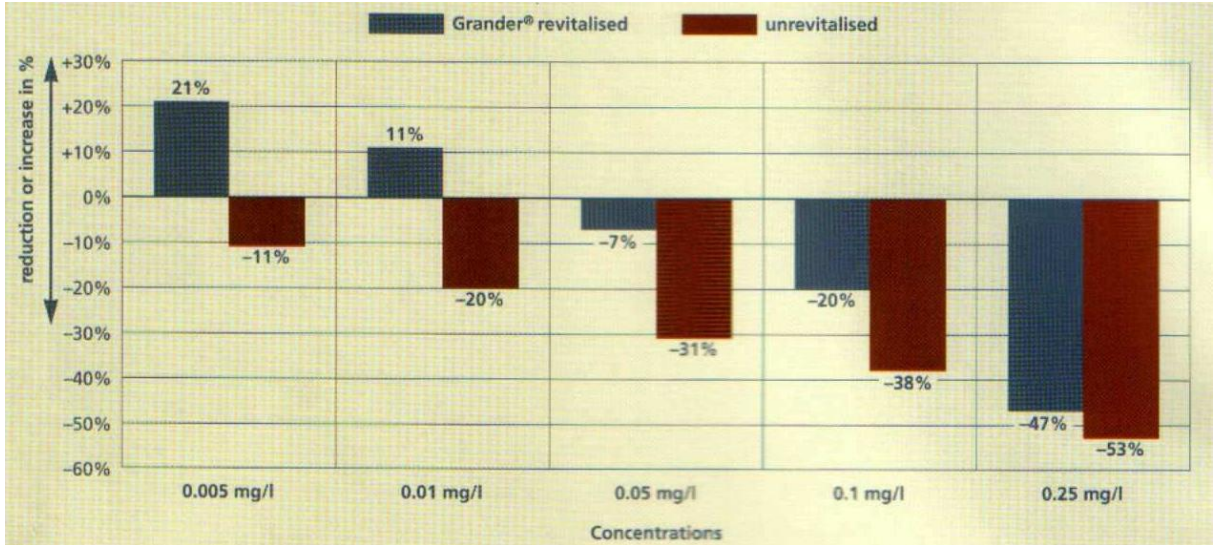
Kadmiyum İçeren Örneklerdeki Sonuçlar

	0.005 mg Cd/l	0.01 mg Cd/l	0.05 Cd/l	0.1 mg Cd/l	0.25 mg Cd/l
unrevitalised	11%	-20%	-31%	-38%	-53%
Grander® revitalised	+21%	+11%	-7%	-20%	-47%

60 dakikalık etki süresi – taze kültür edilmiş fosforesan bakteriler (1 ml örnek + 0.4 ml bakteri askısı).

İçme Suyundaki Kadmiyum

60 dakikalık etki süresi – taze kültür edilmiş fosforesan bakterileri



Sonuçlar

Fosforesan bakteriler, kurşun iyonları vakasında olduğundan daha yüksek olarak ve fakat cıva iyonlar vakası kadar yüksek olmayarak kadmiyum iyonlarına duyarlılık göstermektedir. Grander® ile yeniden canlandırılmış ve yeniden canlandırılmamış kadmiyum içeren su arasındaki en büyük fark 0.005 mg/l, 0.01 mg/l ve 0.05 mg/l konsantrasyonlarında belirgindir. Grander® ile yeniden canlandırılmış ve yeniden canlandırılmamış örnekler arasında 0.25

mg/l’de önemli bir fark ölçülmemiştir. Bu konsantrasyon Grander® yeniden canlandırılmışın fosforesan bakterilere zehirlilikte bir düşüklüğe neden olacak kadar yüksek değildir.

Analiz Metodunun İstatistikleri

Dolam deneyleri ölçülene bağlı olarak değişkenin katsayısının % 6 ile % 16 arasında değişiklik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Aynı ağır metalleri ölçmede ve tamamen aynı şartlar altında 10 ölçümde, sağma % ± 5 düzenindeydi.

Fosforesan bakteri testinde, % 20’den daha az olan düşüşlerin daha bundan sonraki tartışmaların konusu olmadığı ortaya konmuştur. Bu tür durumlarda, test aracının düşük zehirlilikte görülmüştür. Bu ayrıca, burada sunulan test sonuçlarında da göz önünde bulundurulmaktadır. Özellikle, % 20’den daha düşük farklılıklar bilhassa manalı olarak göz önünde bulundurulmamaktadır.

1987, Koller-Kreiml ve Rodinger’e göre Fosforesan Çıktısındaki Düşüş

30 dakikalık etki süresinden sonra % düşüş	Değerlendirme
% 10’un altında	Önemsiz düşüş
% 10 - % 40	Kısmen güçlü düşüş
% 40 - % 60	Güçlü düşüş
% 60 - % 90	Çok güçlü düşüş
% 90’ın üzerinde	Tam eliminasyon

Test Sonuçlarının Manası Nedir ve bunlar Nasıl Kullanılmalıdır?

İçme suyundaki “en tehlikeli” ağır metaller (kurşun, kadmiyum ve cıva) fosforesan bakteri testinde incelendi ve yeniden canlandırılmamış ve Grander® ile yeniden canlandırılmış su arasındaki farklar belirlendi. Her türlü hata kaynağının ortadan kaldırılmasının ardından, bu farklılıklar Grander® Teknolojisinin sebep olduğu pozitif bilgi değişikliğine atfedilmiştir/verilmiştir.

Hiçbir şekilde, bu ilk sonuçlar, “ağır metal kirlenmesinin” azaltılması içine bir metot olarak Grander® Teknolojisinin teşvik edilmesi ve tanıtılması için kullanılmamalıdır. Çünkü, Grander® yeniden canlandırma ekipmanı, yalnızca su içilebilir durumdayken içme suyu

alanında kullanılmaktadır, bu ekipmanı bu tür bir kullanım için bile göz önünde bulundurmak için önemli bir neden yoktur.

Fosforesan bakteri testi, bilgi değişikliklerinin belirlenmesine ilişkin ilginç bir biyolojik test modelidir. Gelecekte birçok ilave test gerekli olacaktır. Pozitif bir bilgi değişikliği belirlendiğinde, bu değişiklik yalnızca ağır metale değil, aynı zamanda içme suyunun ağır metal içeriği için de geçerli olacaktır, fakat belirli bir konsantrasyon seviyesinde tüm diğer içeriklere genel olarak uygulanabilecektir.

Örneğin, 500 mg/l'ye kadar nitrat konsantrasyonları test edildiğinde, fosforesan bakteriler daima fosforesan çıktısında bir artışla tepki göstermiştir. Nitratlar açık bir şekilde fosforesan bakteriler için besin kaynaklarıdır. Nitratlar ayrıca deniz suyunda yaygındır ve çok fazla yerde bulunabilmektedir. Böylece, bu sonuç bir sürpriz olmamalıdır.

Özet

DIN'e uygun olarak standardize edilmiş fosforesan bakteri testlerinin yardımı ile, bu yüksek düzeyde duyarlı biyolojik metot şu soruyu incelemek için ilk defa kullanılmıştır: Grander® Teknolojisinin doğrudan kullanımının bir sonucu olarak kirletici bilginin pozitif değişimi bilimsel olarak saptanabilir mi?

Kurşun, cıva ve kadmiyum ile yapay olarak kirletilmiş içme suyu örnekleri vakasında, engelleme Grander® ile yeniden canlandırılmış suda düşük konsantrasyonlarda yeniden canlandırılmamış suya nazaran önemli düzeyde azdı. Bu sonuçlara rağmen, Grander® Teknolojisi ağır metaller içeren suda toksinlerin atılması amacıyla kullanılmalıdır.

Deney, fosforesan bakterilerin bu tür incelemelerde kullanılmak için çok uygun olduğunu teyit etmiştir. Araştırma işi, bulguların doğruluğunu daha ileri düzeyde teyit etmek için içme suyunda bulunan diğer kirleticilerin büyük bir bölümünü de kapsayacak şekilde genişletilecektir.

Konuya İlişkin Okunabilecek Diğer Kaynaklar

- Bulich, A. A. Use of Luminescent Bacteria for Determining Toxicity in Aquatic Environments, in: L. L. Marking, R. A. Kimerle: *Aquatic Toxicology*, ASTM STP, American Society for Testing and Materials, vol. 667, pages 98-106, (1979)
 - Dannenberg, R.: *Water - Waste Water*, 133 no. 8, 475-480 (1994)
 - Kaiser, K. L., Palabrica, V. S., *Photobacterium Phosphoreum Toxicity Data Index*. *Water Pollution Research Journal of Canada*, 26, 361-431 (1991)
 - Koller-Kreiml, V. and Rodinger, W., Aquatische Toxizität - ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung von Substanzen in Abwässern (Emissionen) sowie zur Feststellung der toxischen Beeinträchtigung von Oberflächengewässern (Immissionen). *Wasser und Abwasser* 31 413-432 (1987)
 - Coleman R. M., Qureshi, A. A. Microtox: Reserved and Spirillum Volutans Tests for Accessing Toxicity and Environmental Samples. *B. Env. Contam. and Tox.* 35, 443-451 (1985)
 - Nohava, M. "Der Leuchtbakterientest in der Umweltkontrolle." *Untersuchungsbericht des Umweltbundesamtes UBA-1994-0909*, February 1994, page 21.
-