

150664

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZİK ANABİLİM DALI)

**LN300C SEALED NITROGEN/DYE LAZERİN *E. Coli* ATCC
25922 KÜLTÜRÜNE UYGULANMASI VE CANLI KALAN
HÜCRELERİN TESPİTİ**

Serhat KOCAKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

150664

DİYARBAKIR
TEMMUZ - 2004

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DIYARBAKIR

Serhat KOCAKAYA tarafından yapılan bu çalışma , jürimiz tarafından Fizik
Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Prof. Dr. Mahmut Aydınol *Mahmut Aydınol*
Üye : Yrd. Doç. Dr. Selahattin GÖNEN *Selahattin GÖNEN*
Üye : Yrd. Doç. Dr. Figen BİNBAŞI *F. Figen BİNBAŞI*
Üye :

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

08/09/2004

M. Çetin Aytekin

Prof. Dr. M. Çetin AYTEKİN

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ



TEŐEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca beni yönlendiren ve değerli yardımlarını esirgemeyen Hocam Prof.Dr. Mahmut AYDINOL'a teőekkür ederim. Ayrıca yardımlarını esirgemeyen Fizik Bölümü Hocalarıma da teőekkür ederim.

Özel teőekkür: Çalıőmalarım boyunca bana yardımları ve fikirleri ile destek olan, Yrd. Doç. Dr. Murat KIZIL, Dr. Hilmi İÇİ, Aydın USALP, Nagihan ŐAHİN, Mehmet AYDIN ve aileme gönülden teőekkür ederim.

AMAÇ

Lazer günümüzde yaşamımızın içine kadar girmiş büyük bir buluş olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada UV ışın yayan LN300C sealed nitrogen/dye lazeri tanıtıldı ve canlı hücreler üzerindeki etkileri bir uygulama ile incelendi. Deneyin amacı UV ışınlara maruz kalacak olan *E. Coli* ATCC 25922 kodu ile adlandırılan bakteri kolonilerinin üreme grafiklerinin, uyguladığımız dozlarda, nasıl bir değişim gösterdiğini incelemektir.



ÖZET

Bu çalışmada UV ışın yayan LN300C sealed nitrogen/dye lazerin yapısı ve özellikleri hakkında bilgi verildi ve bu cihazın mikroorganizmalar üzerindeki etkileri bir uygulama ile incelendi.

Deneyin amacı; UV ışınlara maruz kalacak olan *E. Coli* ATCC 25922 kodu ile adlandırılan bakteri kolonilerinin üreme grafiklerinin, uyguladığımız dozlarda, nasıl bir değişim gösterdiğini incelemektir. Deney süreci bittikten sonra bakteri kültürlerinin bulunduğu katı besi yerleri fotoğraflanarak sonuçlar kaydedildi.



SUMMARY

In this study, data about the properties and construction of the LN300C sealed nitrogen/dye laser which spreads UV rays is given and its effects on microorganisms are investigated by study.

Aimed of the study is to investigate the difference of reproduction curves of the *E. Coli* ATCC 25922 bacteria who were exposed to different doses of UV rays. At the end of the study the cultures on solid mediums were photographed and the results were saved.



İÇİNDEKİLER

AMAÇ.....	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	iii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. IŞINLAMANIN MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİSİ	1
1.1.1. Genel Bilgiler.....	1
1.1.2. UV Radyasyonu	1
1.1.3. İyonize Radyasyon (Işınlama).....	1
1.1.4. D ₁₀ Değerinin Hesaplanması.....	4
1.1.5. Çevresel Faktörlerin Etkisi.....	5
1.1.6. Radyasyon Dozu.....	6
1.1.7. Ultraviyole Işığı	6
1.1.8. Gıda Işınlamada Doz Grupları.....	7
1.2. Zararlı Işıklar	7
2. TEORİ	9
2.1. LAZER SİSTEMLERİ	9
2.1.1. Atom ve Moleküllerde Elektronik Işıma Türleri	9
2.1.2. Lazer Işınları	12
2.1.2.1. Lazer Nedir.....	16
2.1.2.2 Lazerin Çalışma Prensibi.....	17
2.1.2.3 Osilasyon.....	19
2.1.2.4. Q-Anahtarlanması.....	19
2.1.2.5. Mode Kilitlenmesi.....	19
2.1.3. Lazerin İlkesi	20
2.1.3.1. Ortam.....	20
2.1.3.2. İki Ayna.....	20
2.1.4. Diğerlerine Benzemeyen Bir Işık	21
2.1.5. Temel İlkeler	21
2.1.6. Lazer Işınının Özellikleri.....	24
2.2. PARAZİTLER	26
2.2.1. Bakterilerde Canlı Hücre Sayımı	29
2.2.1.1. Genel Bilgiler.....	29
2.2.1.2. Standart Kültürel Analiz Yöntemleri.....	30
2.2.3. Bakteri Kültürüne UV Işık Uygulanması	31
2.2.3.1. Kültürün Yoğunluğu.....	32
2.2.3.2. Sıvı Vasatın Doğal Yapısı.....	32
2.2.3.3. Hücrelerin Fizyolojik Koşulları	32
2.2.4. <i>E. coli</i> Hücrelerine UV Işını Uyg. ve Canlı Kalan Hüc. Tespiti.....	33
2.2.4.1. Genel Bilgiler.....	33
2.2.4.2. Aranması / Sayılması.....	34
3- MATERYAL, METOD VE BULGULAR.....	35
3.1. LN300C SEALED NİTROGEN/DYE LAZERİN BAŞLICA KISIMLARI VE ÖZEL.....	35
3.1.1. Sistem Özellikleri	35
3.1.2. Nitrojen Lazerleri	37
3.1.3. Ana Bileşenler	37
3.1.4. Kullanıcı İçin Kontroller	38
3.2.DENEYİN YAPILIŞI	39
3.2.1. Kullanılan Materyal Ve Araçlar.....	39
3.2.2. İzlenen Yol	39
4. SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	46
TABLolar LİSTESİ.....	48
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	49
ÖZ GEÇMİŞ	

1. GİRİŞ

1.1. IŞINLAMANIN MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİSİ

1.1.1. Genel Bilgiler

Gıda endüstrisinde radyasyon, UV radyasyonu ve iyonize radyasyon olmak üzere yaygın olarak iki şekilde kullanılmaktadır.

1.1.2. UV Radyasyonu

Mikrobiyolojik açıdan en etkili UV radyasyonu dalgaboyu 240-280 nm arasındadır. En yüksek mikrobisit etkisi 253.7 nm olup, germisit olarak adlandırılmaktadır.

Gram negatif bakteriler UV ile kolaylıkla öldürülebilirken endosporlar, küfler ve virüsler ise UV 'ye karşı daha dirençlidir. Çeşitli mikroorganizmaların UV dirençliliği pigment oluşumuna bağlıdır. Pigment oluşturan kök şeklindeki koloniler UV radyasyonuna renksiz kolonilerden daha dirençlidir. Siyah koloni oluşturan küfler oldukça yüksek dirençlilik göstermektedir.¹

Düşük penetrasyon (madde içine yayılma) gücü ve belli bir noktadan sonra uygulama zorluğu UV radyasyonun gıda korumada kullanılmasını zorlaştırmaktadır.

UV radyasyonu işletme havasının dezenfeksiyonu amacıyla; süt, bira, meyve suyu gibi gıdaların aseptik dolumunda; sosis ve peynirlerin olgunlaştırma odalarında; suyun dezenfeksiyonunda klor yerine; dilimlenmiş ekmeklerin paketlenmesinde; hidrojen peroksit ile paketlenme materyallerinin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır.

1.1.3. İyonize Radyasyon (Işınlama)

Işınlama ise gıdaların soğuk pastörizasyonu olarak da adlandırılır ve diğer yöntemlere göre yeni bir gıda muhafaza yöntemidir. Işınlama bugün tuzlama, kurutma, fumigasyon, ısıtma işlem uygulaması, dondurma vb. gibi geleneksel gıda koruma yöntemleri içinde değerlendirilmektedir. Işınlama, halk sağlığı açısından değerlendirildiğinde, gıdalardaki hastalık oluşturan unsurları yaklaşık

% 100 düzeyinde yok ettiği için güvenli bir koruma yöntemi olarak değerlendirilmektedir.

Gıda ışınlamada Gama ışınları, X-ışınları ve elektron hızlandırıcılarında oluşan ışınlar yaygın olarak kullanılmakta^{1a} olup diğer radyasyon tipleri ise (α , β vb.) gıda ışınlamada kullanılmamaktadır.

Gıdalarda iyonize radyasyonun etkili bir şekilde uygulanmasının temeli, hücre bölünmesi sırasında DNA (deoksi-ribonükleik asit) sentezini etkili bir şekilde engellemesine dayanmaktadır. Işınlama ile mikroorganizmaların ölümü, DNA'nın zarar görmesinin bir sonucudur. Işınlama DNA'da purin, pirimidin ve deoksiriboz şekerine kimyasal olarak zarar verirken, fizikokimyasal zararlanmalar ile de fosfodiester bağlarında tek veya çift iplikçik kırılmalarına neden olur. Işınlamanın oluşturduğu çift iplikçik kırılmaları, tek iplikçik kırılmalarının %5-10'u kadardır. Birçok mikroorganizma tek iplikçik kırılmalarını onarabilmektedir. *E.coli* gibi ışınlamaya hassas mikroorganizmalar çift iplikçik kırılmasını onaramamaktadır. *Deinococcus radiodurans*'ın dirençliliği ise çift iplikçik kırılmalarını onarmasından kaynaklanmaktadır.

Işınlamanın hücre üzerinde direkt ve indirekt olmak üzere iki etki şekli söz konusudur. Direk etkide^{1b-1c}, ışınlama ile hücrenin kritik bileşenleri (DNA) arasındaki etkileşim önemlidir. DNA, iyonize radyasyonun en kritik hedefini oluşturmaktadır. İndirekt etkiyi^{1d} ise, hücredeki diğer moleküllerden özellikle de sudan oluşan radyolitik ürünler olan serbest radikallerin etkisi oluşturmaktadır. Sudan oluşan radikaller arasında H^* , OH^- ve $e^-_{(suda)}$ yer almaktadır. Bu üç radikalden (iyonlardan) en önemlisi OH^- iyonlarıdır ve DNA' nın çevresinde bir su tabakası oluşturarak DNA hasarının % 90' nın dan sorumludur. Öte yandan hidrate olmuş (yeterince su ile kaplanan) elektron çok kısa bir süre içinde yavaşça parçalanarak H^* ve OH^- radikallerini oluşturur. Bu sebeplerden dolayı canlı hücrelerde indirekt radyasyon zararı baskındır.

Ayrıca, hücre membranı üzerinde radyasyonun etkisi bulunmaktadır. Işınlamada meydana gelen serbest radikaller çiftleşmemiş elektronlara

sahip olup hücre membranındaki protein ve lipitler gibi bileşenlerle etkileşimde bulunmaktadırlar. Işınlama ile hasar görmüş hücrelerde sitoplazmik membranın zarar görmesi ve seçici geçirgenliğini yitirmesi sonucu hücre içi bileşenlerin, özellikle RNA (ribonükleik asit)' nın, hücre dışına çıkarak kaybı söz konusu olmaktadır. Radyasyon ile değişimler hücresel düzeyde olup, mikroorganizmalara göre değişiklik göstermektedir

UV uygulandıktan sonra meydana gelen mutant ve atasal kültürlerin oluşturduğu yüzde asitlik, H₂S ve H₂O₂ , saptanmıştır. Ayrıca mutant ve atasal kültürlerin test bakterileri *Staphylococcus aureus koagulaz* (+) ve (-), *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* üzerinde ters etkileri de tespit edilmiştir. Bazı mutant suşlarının daha fazla asit ürettikleri ve bazı test bakterileri üzerinde daha fazla ters etki gösterdikleri gözlenmiştir.^{1e}

Işınlamaya karşı direnç ve hassasiyet: mikroorganizmanın boyutu, fiziksel ve kimyasal yapısı ve radyasyon hasarlarını onarabilme yeteneği ile ilişkilidir. Genelde, bazı gıdalarda yaygın olarak bulunan gram negatif bakteriler ve özellikle enterik (bir bölgeye has) türleri içeren patojenler (*Salmonella* ve *Shigella* gibi), Gram pozitif bakterilerin vejetatif formlarına göre ışınlamaya karşı daha duyarlıdır.

Bacillus ve *Clostridium* cinslerinin sporları ise vejetatif formlarına göre daha dirençlidir. Bakterilerin vejetatif formları ile spor formları karşılaştırıldığında spor formlarının radyasyona daha dirençli olduğu görülmektedir. Bunun başlıca nedenleri ise, sporların su konsantrasyonlarının düşük olması, sporun koruyucu etkisi sebebiyle spordaki DNA'nın radyasyona daha dirençli olması, sporun yapısındaki bazı kimyasal maddelerin (S-S'ce zengin dipikolinik asit) radyasyona direnç sağlamasıdır. Germinasyon (etkileşim süreci) süresince su içeriği artarak sporlu bakterilerin, radyasyon dirençliliği kaybolur.

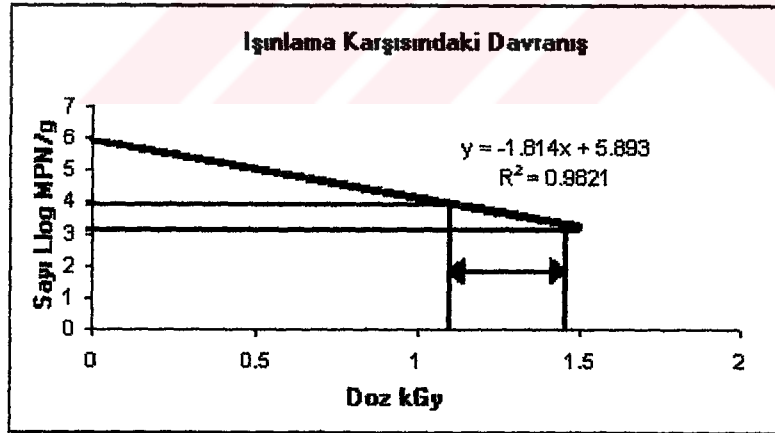
Birçok küfün radyasyona karşı direnci bakterilerin vejetatif formlarına benzemekte olup sadece melanize hifleri(silindir şeklindeki iplikçikler) olan küflerin dirençliliği bakteriyel sporlar ile karşılaştırılabilir.

Mayaların ışınlamaya karşı dirençliliği, dirençli bakteriler kadardır. Virüsler ise radyasyona karşı oldukça dirençlidir. Virüslerin direncinin, özellikle dehidrasyon dereceleri, ışınlama sırasındaki sıcaklık, buldukları ortamdaki organik materyallerin konsantrasyonu gibi bir kaç faktöre bağlı olduğu tespit edilmiştir.¹

1.1.4. D₁₀ Değerinin Hesaplanması

D₁₀, mikroorganizma sayısında bir desimal azalmayı sağlayan değer olarak tanımlanmaktadır. Sıcaklık direncine benzer olarak, mikrobiyel popülasyondaki radyasyon direnci desimal indirgenme ile açıklanabilir. Doz ve canlı mikroorganizma arasındaki ilişki grafiksel olarak ifade edildiğinde D₁₀ doğrunun eğiminin tersidir (1 / Eğim).

Şekil 1.1.'de D₁₀ değerinin nasıl bulunacağı gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Uygulanan doz ve canlı mikroorganizma arasındaki ilişki

Ayrıca D₁₀ değeri ; $D_{10} = \text{Radyasyon Dozu} / \log N_0 - \log N$ formülü ile hesaplanabilmektedir.

N₀ ; Başlangıç mikroorganizma sayısı

N ; Belirli dozda ışınlama sonucunda canlı kalan mikroorganizma sayısı

1.1.5. Çevresel Faktörlerin Etkisi

Birçok çevresel faktörler mikroorganizmaların radyasyon dirençliliğini etkilemektedir. Fosfat tampon ortamında ışınlanan hücreler gıda içinde ışınlananlara oranla ışınlamaya karşı çok daha fazla hassastır.

Genelde ortamın kompleksliği arttıkça, ortamdaki sudan oluşan serbest radikaller için ortamdaki diğer bileşenlerin yarışması artmakta, ışınlama ile oluşan moleküller aktive olmakta ve bu durum mikroorganizmalar için koruyucu etki oluşturmaktadır. Kompleks yapıya sahip gıdalardaki bakteriyel hücrelerin radyasyona dirençliliğini veya duyarlılığını tahmin etmek mümkün değildir.

Gıdanın nem içeriğindeki azalma (su aktivitesindeki azalma) mikroorganizmaları ışınlamanın öldürücü etkisinden korumaktadır. Aynı koşullar ısı işlem için de geçerlidir. Kuru şartlarda ışınlamada sudan oluşan serbest radikallerin oluşumu daha azdır ve indirekt etki ile oluşan DNA hasarı azalmaktadır.

Işınlanacak ürünün bulunduğu sıcaklık derecesi mikroorganizmaların radyasyona karşı direnç ve hassasiyetini etkilemektedir. Vejetatif hücreler için yükseltilmiş sıcaklık uygulaması (genellikle 45 °C' nin üzeri), sinerjistik olarak radyasyonun letal (öldürücü) etkisini artırmaktadır. Bu durum tamamıyla DNA tamir mekanizması ile ilişkilidir ve gelişme sıcaklığının üzerindeki değerlerde inaktive olmaktadır.

Dondurma işlemi vejetatif hücrelerin radyasyona dirençliliğinde çarpıcı bir artışa neden olmaktadır. Mikroorganizmaların radyasyon dirençliliği dondurulmuş ortamlarda, oda sıcaklığına göre 2 veya 3 kat artmaktadır. Bu artışa ortam donduğu zaman serbest radikallerin hareketsiz olması ve serbest difüzyonun engellenmesi neden olmaktadır. Böylece dondurulmuş durumda, OH⁻ iyonları ile DNA indirekt hasarı önlenmekte ve daha fazla doz uygulaması gerekmektedir. Sıcaklık ile dirençlilikte değişme, su aktivitesi yüksek gıdalarda indirekt etkinin önemini göstermektedir.

Mikrobiyel hücreler üzerinde iyonize radyasyonun öldürücü etkisi oksijen varlığında artmaktadır. Nemli şartlarda ve oksijen yokluğunda genellikle radyasyona dirençlilik 2-4 kat artarken, kuru şartlarda ve oksijen varlığında 8-17 kat artmaktadır.¹

1.1.6. Radyasyon Dozu

Radyasyon dozu, gıda tarafından soğurulan radyasyon enerjisi miktarıdır.

Her farklı tür gıda için uygun dozun verilmesi çok önemlidir. Gıdaya verilmesi gereken uygun dozun üzerinde doz verilmesi, ürüne zarar vererek, ürün kalitesini bozmaktadır.

Soğurulan doz birimi için kullanılan özel isim Gray dir. Gray (Gy) iyonize radyasyonun maddenin birim kütlesinin soğurduğu enerji miktarı anlamına gelir.

1 Gy, kilogram başına 1 Joule' lük enerji²

Tablo 1. Çeşitli organizmaları öldürmek için gerekli yaklaşık radyasyon dozları

Organizmalar	Doz (kGy)
Yüksek hayvanlar	0.005-0.1
Böcekler	0.01-0.1
Spor oluşturmeyan bakteriler	05-10
Bakteri sporları	10-50
Virüsler	10-200

1.1.7. Ultraviyole Işığı

Ultraviyole ışığına kısa dalga boylu ışık veya UV-C ışığı denmektedir. 200 nm (nanometre) ile 280 nm arası dalgaboyu UV-C bandına girmektedir fakat dezenfeksiyon için gerekli olan ışığın dalga boyu 253.4 nm (0.0002534 mm) dir. Günümüzde 253.4 nm dalga boylu

ultraviyole ışık veren UV-C lambaları üretilmektedir. Bu lambalar kullanılacakları ortamlara göre değişik şekillerde çoğaltılıp sterilizatör (mikropları yok eden cihaz) olarak kullanılmaktadır. Ultraviyole, Ülkemizde ve gelişmiş ülkelerde yaygın olarak su ve hava ortamlarındaki mikropların yok edilmesi için kullanılmaktadır.

1.1.8. UV Işığına Maruz Kalmış Bakteri

Uygun dozajda ve uygun sürede mikropların UV-C ışığına maruz bırakılması onların DNA yapılarının kırılarak yok olmalarını sağlamaktadır.

Gıda ışınlamada doz grupları

- Düşük – radurizasyon ($\leq 1\text{kGy}$),
 - Orta – radisidasyon ($\leq 10\text{kGy}$),
 - Yüksek – radappertizasyon ($>10\text{kGy}$),
- olarak sınıflandırılmaktadır.²

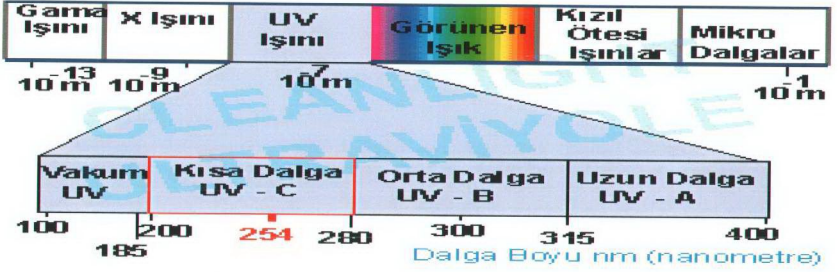
1.2. Zararlı Işıklar

Güneşten gelen ışınların (radyasyon) çoğunun canlılar üzerinde çok ciddi ve tehlikeli etkileri vardır. İyonize radyasyonun DNA ile etkileşmesi sonucu hücre ölümleri, mutasyon ve kanser olayları meydana gelir.^{2a-2c} Güneşin dünyaya ulaştırdığı zararlı ışığın çoğu UV-B dir ve "Orta dalga UV" olarak adlandırılırlar.

Canlılar üzerinde zararı daha büyük olan ise UV-C ışığıdır. Güneşten gelen bu tür zararlı ışınları ozon tabakası filtre etmektedir.

Ultraviyole cihazları temel olarak, bu zararlı ışığın, dezenfeksiyon (zararlı bakterilerin yok edilmesi) işlemi için kullanılmasını sağlarlar. İlk olarak, ışıkla dezenfeksiyon işlemi 1910 yılında Fransa'da Backer tarafından gerçekleştirilmiştir.²

Şekil 1.2.'de de görüldüğü gibi; dalga boyu 200 nm den daha küçük olan ışınımlara "Vakum UV" denir. Alt bölümlerine de: 200 nm ile 280 nm dalga boyu arasına UV-C , 280 nm ile 315 nm dalga boyu arasına UV-B, 315 nm ile 400 nm dalga boyu arasında kalan ışığa UV-A denilmektedir. Bu ışınımlar bu gün çeşitli alanlarda kullanılmaktadır.



Şekil 1.2. Işın spektrumlarının dalga boyları

Şekil 1.2.' de bu ışınımların dalga boyları verilmiştir.

2. TEORİ

2.1. LAZER SİSTEMLERİ

2.1.1. Atom ve Moleküllerde Elektronik Işıma Türleri

Elektromanyetik ışıınımı ile uyarılmaya çalışılan bir atomik sistem bu dış uyarıya çok kutuplu ışıınmalarla tepki gösterir. Bu kısımda, çok kutuplu ışıınmalardan daha çok sadece elektrik dipol ışıınmanın (birinci dereceden yaklaşımın) oluşum mekanizmaları yani rezonans, floresans, fosforesans ışıınmalar ile raman ışıınmaları (olayı) ve ışıınmasız geçişler açıklanacaktır.

Bir atom ya da molekülden yapılabilecek en olası ışıınma rezonans ışıınmasıdır. Rezonans ışıınmasında bir ilk (i) ve bir son (s) seviyeler arasındaki geçişte soğurulan foton 10^{-8} sn. gibi bir zaman sonra aynen salınır ve atom ya da molekül ilk enerji seviyesine tekrar döner. Rezonans geçişlerinde salınan ışıığın frekansı ile soğurulan ışıığın frekansı aynı olup

$$\nu_{is} = \nu_{si} = \frac{E_i - E_s}{h} \quad (2.1)$$

ile belirlidir. Yani optik spektrumlar ve karakteristik X-ışıınları rezonans geçişlerine örnekler oluştururlar. Bu tür ışıınmalar saçılma teorisinde rayleigh saçılmaları olarak bilinir. Rayleigh saçılmaları (yani rezonans geçişleri) şek.2-1a da gösterilmiştir.

Floresans ışıınmada rezonans ışıınması gibi bir elektrik dipol geçiş sonucu oluşur. Ancak bunda uyarılan atom yada molekül yine pariteyi koruyarak fakat basamaklı olarak ilk seviyeye döner. Parite korunumundan dolayı geçişler ancak Tekli seviye \leftrightarrow Tekli seviye yada üçlü seviye \leftrightarrow üçlü seviye arasında olabilir. Floresans ışıınmada daima $\nu_s > \nu_i$ olur. Bu tür ışıınmaya cıva buharlı floresans lambalar iyi örnek oluştururlar. Floresans ışıınmanın oluşum mekanizması şek.2-1b de gösterilmiştir.

Fosforesans ışımaya ise floresans ışımının geciktirilmiş durumudur. Yani uyarılmadan sonra atom yada molekül bir ara metastabil seviyeye geçer. Orada 10^{-8} sn den çok daha uzun süre (dakika, saat mertebesinde) kalabilir ve oradan tekrar aşağıdaki ilk seviyeye geçer. Fosforesans ışımalarında uyarıcı foton ile saçılan fotonlar arasındaki ilişki

$$\nu_i = \nu_{s1} + \nu_{s2} \quad (2-2)$$

olarak yazılabilir. Böylece tek foton soğuran atom, biri gecikmeli olan iki foton salar. Fosforesans ışımının floresans ışımadan önemli bir farkı triplet(üçlü) ↔ singlet(tekli) seviyeler arasında oluşmasıdır. Fosforesans ışımadan osiloskop, T.V ekranlarında ve evlerdeki elektrik düğmelerinin karanlıkta görülmesini sağlamak için yararlanılır. Fosforesans ışımının oluşum mekanizması şek.2-1c de gösterilmiştir.

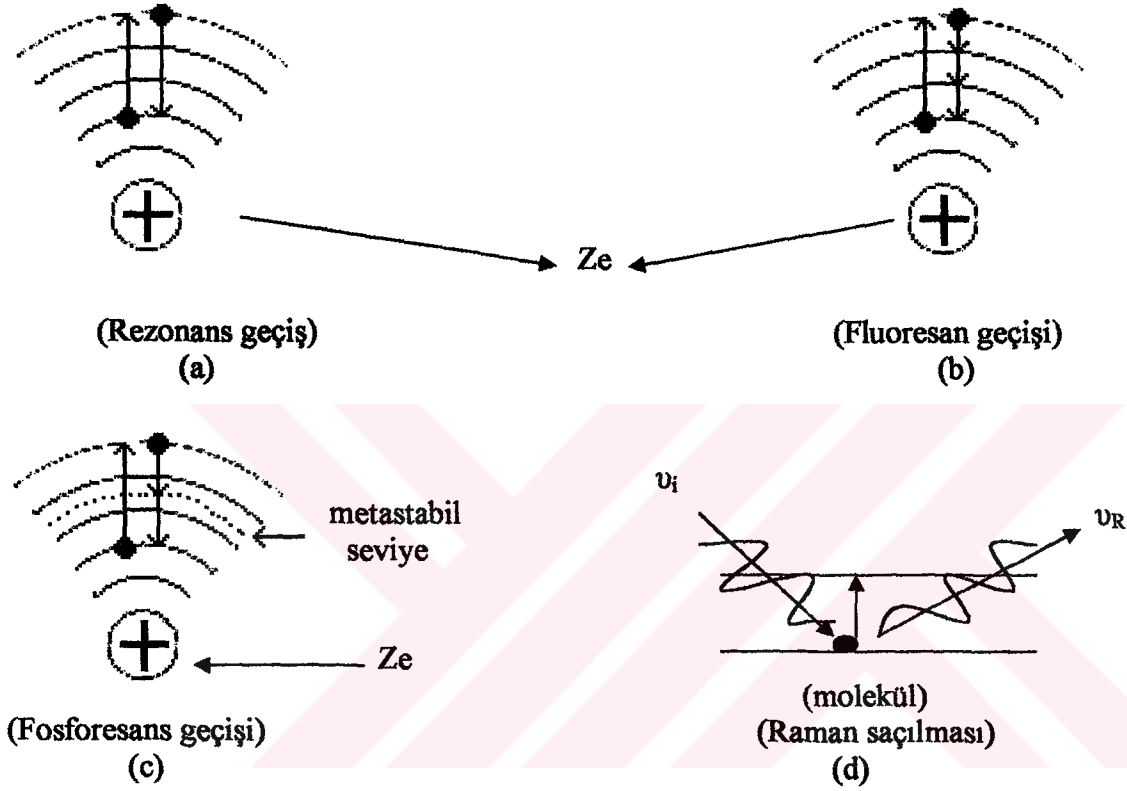
Buraya kadar söz edilen ışımaya türlerinin hepsi çizgi spektrumu şeklinde gözlenirler. Yani ışımaların atomun enerji seviyeleri arasındaki farkla $\Delta E = h\nu$ şeklinde kesin ilişkileri vardır.

Bu olay moleküler spektroskopide sıkça geçer ve Raman olayı olarak bilinir.³ Bu olayda uyaran ve saçılan ışınların frekanslarının molekülün kuantum seviyelerinin öz-frekansları ile bir bağlantısı yoktur. Molekülün ışınlandığı keyfi bir frekans, molekülü bir ilk ve son seviye arasında uyarmakla birlikte artan enerjide ν_R (Raman frekansı) ile saçılır.

$$\nu_{is} = \nu_{si} = \frac{E_i - E_s}{h} + \nu_R \quad (2-3)$$

Bu şekilde çok değişik frekansla Raman fotonları oluşacağından saçılma spektrumu band şeklindedir.

Sonuç olarak bütün bu ışımalar türleri birer şekilde gösterilebilir. Şekil.2-1a, b, c, d maddeden ışık salınmasının mekanizmalarını göstermektedir. Bu ışımalar türlerinin atomik spektroskopide çok sık geçmesi sebebi ile, burada oluşumları özgün bir şekilde açıklama gereksinimini duyulmuştur.



Şekil 2.1. (a), (b), (c), (d) Maddeden salınabilen ışık türlerinin oluşum mekanizmaları

Konuyu tamamlamak bakımından ışımasız geçişlerden de kısaca söz edilebilir. Bilindiği gibi elektrik dipol geçişlerin yasak olduğu durumlar vardır. Elektrik dipole yasak olan bir geçişe manyetik dipolle veya elektrik kuadropolle vb. ulaşılabilir. Bunlara yüksek merteben ışımalar denir. Bunlarda da bir tür foton(ışıma) oluşur. Hiçbir ışımalar olmaksızın, yasaklanmış bir geçiş çarpışma yolu ile de oluşturulabilir. Bunlara da çarpışma uyarmalı ışımasız geçişler denir. Atom yada molekül, enerjisini çarpışma yaptığı yüzeye veya oradan söktüğü elektrona aktarır ve geçiş olduğu halde herhangi bir tür foton salınımı olmaz. Işımasız geçişler genellikle metastabil seviyeler için söz konusudur.

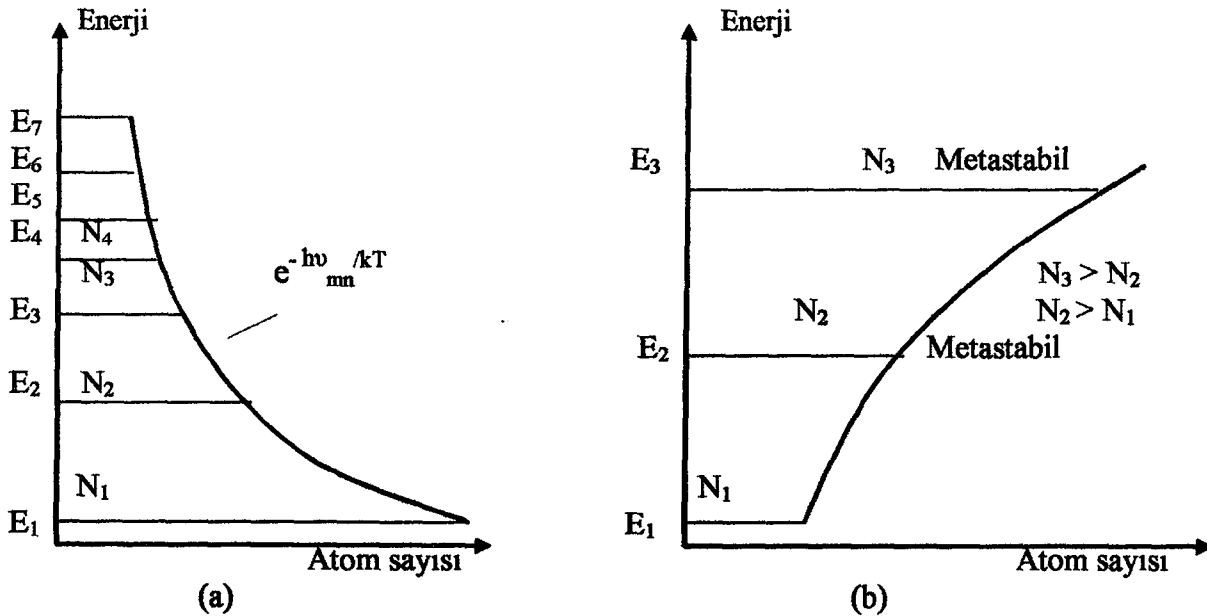
2.1.2. Lazer Işınları

Lazer, İngilizce laser tanımını veren sözcüklerin (Light amplification by stimulated emission of radiation) baş harflerinden oluşmuştur. Bu ifade “uyarmalı ışınım salınması ile ışık yükseltilmesi” anlamına gelir. Aynı işlem ilk önce mikrodalga ile yapılmış ve oluşan çok güçlü mikrodalgaya “Mikrowave amplification by stimulated emission of radiation” kelimelerinin baş harfleri alınarak Maser denilmiştir.

Doğada fiziğin temel ilkelerinden biri de “kararlı dengelerin minimum enerjide oluşma ilkesi” dir. Bu ilkeye göre her cisim en küçük enerji düzeyinde kalma eğilimi gösterir. Aynı atomdan oluşan bir gaz karışımı göz önüne alınsın. Gaz ortamdaki atomların istatistiksel olarak enerji dağılımına bakıldığında, en aşağı enerji düzeyindeki atomların sayısının üst düzeydeki atomların sayılarından büyük olduğu görülür. İstatistik dağılım sonuçlarına göre $N_1 > N_2 > N_3, \dots$ vb. elde edilir. Bu dağılımın, Şekil 2-2(a) da görülen ve $m > n$ olan kuantum seviyeleri için

$$N_m = N_n e^{-(E_m - E_n)/kT} = N_n e^{-h\nu_{mn}/kT} \quad (2-4)$$

Şeklinde ifade edilen Boltzman kanununa uyduğu görülür.



Şekil 2-2 (a) Normal Boltzmann dağılımı (b) Nüfus terslenimi

Dışarıdan uygun bir frekansla bu ortam uyarılarak normal dağılım düzeni bozulabilir. Üst düzeylerden herhangi birindeki atom sayısı alt seviyelerdekinden daha büyük yapılabilir. Bu işleme nüfus terslenimi denir ve şekil 2-2(b)de görülmektedir. Nüfus terslenimi; optik, elektrik ve injeksiyon yollarından biri ile yapılabilir. Uyarılan atomların belli bir seviyede yığılmasını sağlamak için o seviyenin metastabil olması yani ömrünün 10^{-8} saniyeden büyük olması zorunludur.

Enerji değerleri, E_1 ve E_2 atom sayıları da N_1 ve N_2 olan iki seviyeyi göz önüne alalım. Kendiliğinden geçiş olasılığı A_{21} olmak üzere bir saniyede 2. seviyeden 1. seviyeye kendiliğinden geçişlerin toplam sayısı, yani

$$\text{Kendiliğinden salınan foton sayısı} = A_{21}N_2$$

ile verilir. Ortamdaki foton yoğunluğu $\rho(\nu)$ ve uyarmalı geçiş olasılıkları da B_{21} ve B_{12} olmak üzere birim zamanda uyarmayla soğurulan ve salınan geçişlerin toplam sayıları, sırayla,

$$\text{uyarmayla soğurulan foton sayısı} = N_1 B_{12} \rho(\nu) \quad (2-4b)$$

$$\text{uyarmayla salınan foton sayısı} = N_2 B_{21} \rho(\nu) \quad (2-4c)$$

olur. Isısal denge kurulduğunda,

$$N_1 B_{12} \rho(\nu) = N_2 B_{21} \rho(\nu) + A_{21}N_2 \quad (2-5)$$

elde edilir. Denklem (2.5)ten foton yoğunluğu bulunursa,

$$\rho(\nu) = \frac{A_{21}N_2}{N_1B_{12} - N_2B_{21}} = \frac{A_{21}}{N_1B_{12}/N_2 - B_{21}} \quad (2-6)$$

olur. Bu denklemde; ısısal denge kurulduğundan, uyarılmış geçiş olasılıklarınının eşit olduğu $B_{12} = B_{21} = B$ değeri ile, Boltzman

dağılımının denkleminde (2.4)'te verilen ifadesinde $m=2$, $n=1$ ve $\nu_{21} = \nu$ olmak üzere $E_2 - E_1 = h\nu$ alınarak o ifade Denklem (2.6)da kullanılırsa

$$\rho(\nu) = \frac{A_{21}}{B(e^{h\nu/kT} - 1)} \quad (2-7)$$

elde edilir. Bu denklem de Planck'ın siyah cisim ışınım formülünün SI birim sistemindeki ifadesi ile karşılaştırıldığında

$$\frac{A_{21}}{B} = \frac{8\pi h\nu^3}{c^3} \quad (2-8)$$

olduğu görülür ve foton yoğunluğu

$$\rho(\nu) = \frac{8\pi h\nu^3}{c^3(e^{h\nu/kT} - 1)} \quad (2-9)$$

olur. Isısal dengenin kurulduğu durumda, kendiliğinden salınan fotonların, uyarımla salınan fotonlara oranı için

$$R = \frac{A_{21} N_2}{B N_1 \rho(\nu)} = e^{-h\nu/kT} \quad (2-10)$$

elde edilir. Görünür bölgede, uyarımla salınan foton sayısı çok küçük olduğundan LAZER olayı oluşmaz ve doğal olarak da görülemez. Lazer olayını gözleyebilmek için öncelikle bir nüfus terslenimi yapmak gerekir.

Nüfus terslenme olayını gerçekleştirmek için en az üç seviye olması gerekir. Bu durumda gerçekleştirilen lazer olayına da üç-seviyeli lazer denir. Dört-seviyeli çalışan lazerler de vardır.^{4,5,7}

Üç seviyeden ortadaki seviyenin metastabil olması gerekir. ν_{31} pompalama frekansı ile taban durumdan üçüncü seviyeye atomlar uyarılır. E_3 seviyesinde E_2 seviyesine geçen atomlar metastabil olan E_2

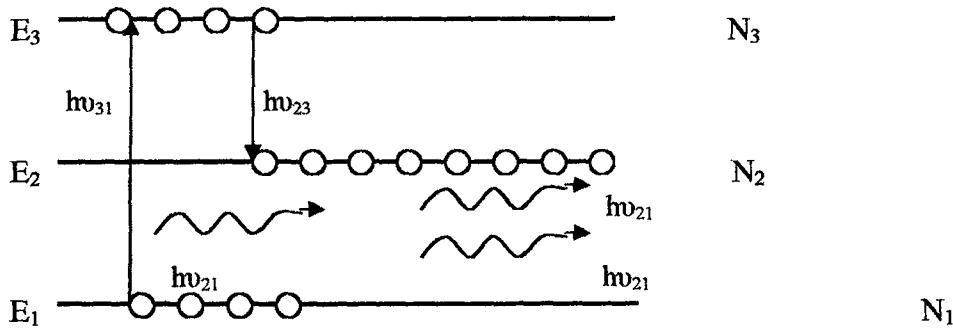
seviyesinde yığılırlar. Bu durumda $N_2 > N_1$ olabilir. Bu olaya nüfus terslenimi denir.³ Nüfus terslenimi oluşmuşsa E_2 seviyesindeki çok sayıda uyarılmış atomlar sebebiyle yakından geçen aynı enerjili ($h\nu_{21}$) fotonla bu atomların taban durumuna dönme olasılığı artar. Her gelen bir foton için birisi kendisi olmak üzere 2 tane uyumlu foton salınır. Böylece yıllarca gözlenemeyen lazer olayı gerçekleştirilmiş olmaktadır. E_2 seviyesindeki uyarılmış atomların sayısı, pompalama frekansı ve süresi ile denetlenebildiğinden oluşan lazer ışınımının şiddeti de kontrol edilebilir. $N_2 > N_1$ yapılırsa, normal olarak

$$N_2 = N_1 e^{-h\nu/kT} \quad (2-11a)$$

olan Boltzman yasası, nüfus terslenimi sonunda

$$N_2 = N_1 e^{h\nu/kT} \quad (2-11b)$$

olmalıdır. Denk.(2-11a)'da h , ν , k pozitif sayılar olduğundan üstel fonksiyonun üstü ancak T sıcaklığının negatif olmasıyla pozitif olur. Bu nedenle nüfus terslenme olayının, negatif sıcaklık etkisi sonunda oluştuğu şeklinde yorumlanır. (Şekil 2.3)



Şekil 2.3. Nüfus terslenimi

Lazer'in oluşum tekniğinden kaynaklanan ve normal ışıkta bulunmayan özellikleri şöyle sıralanabilir:

- a) Denetlenebilen şiddet,
- b) Doğru boyunca yayılma,
- c) Monokromatik olma,
- d) Zaman ve yerel olarak koherant(uyumlu) olma.

Lazer ışını elde etmek için kullanılan aktif maddeler

- 1) Katı
- 2) Sıvı
- 3) Gaz
- 4) Yarı-iletken

olmak üzere dört grupta toplanır. Amaca uygun olarak madde seçimi yapılır.³

2.1.2.1. Lazer Nedir

Tek renkli, oldukça düz, yoğun ve aynı fazlı paralel dalgalar halinde genliği yüksek güçlü bir ışık demeti üreten alet.

1960 senesinde ABD’de Theodore H. Maiman tarafından keşfedilmiştir. Normal ışık, dalga boyları muhtelif, rengarenk, yani farklı faz ve frekansa sahip dalgalardan meydana gelir. Lazer ışığı ise: yüksek genlikli, aynı fazda, birbirine paralel, tek renkli, hemen hemen aynı frekanslı dalgalardan ibarettir. Optik frekans bölgesi yaklaşık olarak 1.10^{12} - 3.10^{15} Hz. arasında yer alır. Bu bölge, kırmızı ötesi ışınları, görülebilen ışınları ve elektromanyetik spektrumun morötesi ışınlarını kapsar. Buna karşılık mikro dalga frekans bölgesi yaklaşık olarak 3.10^8 hertzden 3.10^{11} Hz’e kadar uzanır. Yani, lazer çok yüksek frekanslarda çalışır.

Lazerin önemi uygulamasının yaygın olmasında ve onun daha da genişlemesinin beklenmesinde yatmaktadır. Özellikle uygulamanın genişliği, ışınların frekansların hassas bir şekilde kontrolünden, yayılan ışının yayılma düzeninden veya ışınların olağanüstü yoğunluğundan kaynaklanmaktadır. Lazer tekniği sayesinde, holografide, spektroskopide çok önemli gelişmeler ortaya çıkmıştır. Bunlar yoluyla lazer diğer bilimsel ve teknolojik alanlarda da etkisini göstermektedir.

2.1.2.2. Lazerin çalışma prensibi

Optik bakımdan saydam, bir ucunda tam sırlı ve yansıtıcı, diğer ucunda yarı sırlı kısmen yansıtıcı iki ayna bulunan bir tüp alınır. Buna gaz, sıvı ve katı bir madde doldurulur. Dışarıdan ışık verme, elektrik akımı geçirmek suretiyle veya kimyasal bir yolla elde edilen enerji, ortamdaki atomlara ulaşır. Bunların bazıları bu enerjiyi emerler. Fazla enerji, atomları kararsız hale getirir. Kendisine bir foton çarpan, uyarılmış ve kararsız atom, fazla enerjiyi foton yayarak⁴ verir. Fotonlar, benzer şekilde diğer fotonların yayılmasını sağlar. Uçlara ulaşan fotonlar, aynalardan yansıyarak geri dönerler ve olay devam eder. Uyarı ile ortamdaki fotonlar artar. Atomların hemen hemen hepsi, foton yaymaya başlayınca kuvvetlenen ışık, yarı sırlı uçtan dışarı çıkar. Bu, lazer ışınıdır. Lazer dalgalarını, uygun adım giden aynı üniforma ve şekle sahip askerlere, normal ışığı ise rasgele karakteri bozuk bir orduya benzetmişlerdir. Normal ışıkta dalgalar, birbirini zayıflatıcı karakterde olmasına rağmen, lazerde birbirini kuvvetlendirici olurlar. Lazer ışınları yüksek frekanslı olduklarından güneş ışını özelliklerine sahiptir. Ancak lazer ışınları tek frekanslı olduğu için kayıpları azdır. Ayrıca lazer ışınları aynı fazda yapılan ışık dalgaları olduğu için şiddeti büyük olur. Bu yüzden lazer ışınlarının şiddeti güneş ışınlarının şiddetinin bir milyon katıdır.

Elektromanyetik dalga paketçisi de denen foton, güneşte termonükleer reaksiyonlar sonucu oluşan güneş ışınları elemanları olup dünyamıza kadar gelen ısı-ışık enerjisidir. Lazer ışını da foton yayılmasından ibarettir. Lazerde foton üretimini anlayabilmek için atomların değişik seviyelerinde ne gibi olaylar olduğunu bilmek gerekir. Bir atomun uyarılmış durumda bulunduğu kısa zaman aralığında üzerine belli bir dalga boyunda foton düşürülürse, atom aynı fazda foton yayar. Bu işlem peş peşe tekrarlanırsa, tamamen aynı fazda bir ışın demeti elde edilir. En düşük enerji seviyesinde bulunan bir atoma dışarıdan bir foton verilirse, atom enerji kazanarak E_1 enerji seviyesinden E_2 enerji seviyesine uyarılmış olur(Bölüm 2.1.2.). Bu atom kendi halinde bırakılırsa, uyarılmış bulunduğu E_2 enerji seviyesinden bir foton vererek tekrar E_1 enerji seviyesine döner.

Uyarılarak enerji seviyesi E_1 'den E_2 'ye yükseltilen atom enerjisini geriye foton olarak yaymaya başlarken bir foton daha çarptırılırsa atomu birbiri ile aynı özellikte iki foton terk eder. Bu şekilde atom kat kat enerji seviyelerine çıkarılırsa bu seviyelerden düşerken de katlar halinde foton oluşur. Bu işlem iki paralel ayna arasında aynı fazda olan fotonların toplanması şeklinde devam eder. Lazer ışını dalgasının dalga boyu aynalar arasındaki mesafe ile uyumludur. Aynı frekansta yani, aynı dalga boyunda yapılan foton üretimine "uyarılmış yayılma" işlemi denir. Milyonlarca atom için bu işlem yapılırsa aynı yöne doğru milyonlarca foton paralel ışınlar halinde bir noktadan yayılır. Bu ışınlar aynı fazda, aynı frekansta, aynı yönde olduklarından adeta birbirine yan yana yapışıktır. Paralel aynalar arasında şiddeti bu şekilde çığ gibi artan ışınlar, ışık frekansına eş bir frekansta, darbeler halinde oldukça parlak ışık hüzmesi olarak yayılır. Lazer ışınındaki enerjinin büyümesinin esası işte bu milyonlarca küçük enerji kaynaklarının çok dar bir demet halinde aynı yönde hem yanyana hem de ard arda birleşmesi neticesidir. Lazerin çalışması için enerji seviyesi düşen atomlarda daha fazla sayıdaki atomların uyarılacak enerji seviyelerine yükseltilmesi gerekir. Bu durum ise normal olarak atomların enerji seviyesi dağılımının tersidir. Bu sebepten lazerin çalışması için gerekli durum tersine çevrilmiş dağılım olarak isimlendirilir. Tersine çevrilmiş dağılımı ortaya çıkarmak için pompalama işlemi kullanılır. Optik pompalama ise, yüksek frekanslı yoğun ışınların yayılmasıyla yapılabilir. Yarı iletkenli lazerlerde pompalama elektrik akımı yardımı ile gerçekleştirilir ve işlem elektriksel pompalama olarak isimlendirilir. Gaz lazerlerinde ise pompalama işlemi elektron-atom veya atom-atom çarpıştırılmasıyla ortaya çıkarılır ve çarpışma pompalaması olarak bilinir. Kimyasal pompalama işleminde ise kimyasal lazerlerde kimyasal reaksiyonlarla atom ve moleküller uyarılır. Gaz-dinamik lazerlerde de pompalama ses hızı üstü gaz genişlemesi yoluyla gerçekleştirilir ve gaz genişleme pompalaması olarak isimlendirilir.

2.1.2.3. Osilasyon

Yukarıda açıklanan tersine çevrilmiş dağılım elde edildikten sonra, bu ortamdan geçen ışık rezonans durumuna getirilir. Optik osilator olarak da isimlendirilebilecek bu ortam yansıma, kırılma ve diğer kayıpları karşılayacak durumda olmalıdır. Bu amaçla lazer ortamı, uzunluğuna doğru bir parça şeklinde düzenlenir ve iki ucuna çok kuvvetli yansıtıcılar konarak ışığın bunlar arasında ileri-geri yansıması sağlanır. Bu yansıtıcılardan biri, bir ölçüde saydam yapılarak rezonans frekansına ulaşan ışının lazer ışını olarak ortamından dışarı çıkmasını sağlar.

2.1.2.4. Q-Anahtarlama

Çok kısa ve çok güçlü çıkışlar q-anahtarlama kullanılarak depo edilmiş lazer ışınlarından elde edilebilir. Bu tür teknikte yansıtıcılardan biri pompalama aralığının bir kısmında yansıtılmayacak şekilde düzenlenir. Daha sonra yansıtıcı hale getirilir. Bu düzenleme sonucu pompalama devresinin bir kısmında depo edilen enerji diğer kısmında büyük bir darbe olarak yayılır. Q-anahtarlama en kolay şekli bir aynanın çok hızlı dönmesiyle gerçekleştirilebilir. Bu ayna diğer ayna ile aynı eksene geldiği zaman da lazer yayılımı ortaya çıkar. Bu konuda uygulanabilecek diğer teknik lazer frekansına ışık absorbe eden seyreltilmiş bir çözelti ortamı kullanmaktır. Bu şekildeki absorpsiyon enerjinin depo edilmesini sağlar.

2.1.2.5. Mode Kilitlenmesi

Çözelti kullanılarak ve anahtarlama ile elde edilen lazer ışınının gücü mode kilitlenmesi ile daha da arttırılabilir. Böyle bir durumda birbirine yakın ve aralarında belirli bağıntının bulunduğu "kilitli" frekanslarda aynı zamanda titreşim meydana gelir. Böylece çok daha kısa zamanda 1.10^{14} watt'a yaklaşan bir güç elde edilir ki, bu dünyadaki bütün elektrik santrallerinin toplam üretiminden daha fazladır.

2.1.3. Lazerin İlkesi

Lazerin işleyişi, uygun şekilde uyarılmış bir ortamın atomlarının yayımladığı uyarılmış ışığa dayanır.

Herhangi bir ortamda, belirli bir elementin atomları, molekülleri veya iyonları birçok enerji düzeyi gösterir ve bu enerji düzeyleri arasında gidip gelirken, enerjileri iki düzey arasındaki farka eşit olan fotonlar yayımlar veya soğurur. Belirli bir frekansta bir foton yayımlamaya yatkın yüksek enerjili bir atom, tam olarak aynı frekansta bir ışıkla foton vermeye "teşvik edilebilir" ve yayımlanan ışık uyarıcı ışıkla bağdaşık ("senkronize") olur.

2.1.3.1. Ortam

Bununla birlikte, dengede bulunan bir ortamda alt enerji düzeyleri üst enerji düzeylerine göre daha kalabalıktır ve soğurma, uyarılmış yayıma önemli ölçüde baskındır. İşte bu yüzden ki bu olay, Einstein tarafından (1917) tanımlanmasından 1960'a kadar kullanılmadı; 1960 yılında, üst enerji düzeylerinde çoğunlukta bir atom topluluğu bulunduran denge dışı ortamları gerçekleştirmek mümkün oldu.

Kullanılan ilk ortam, içinde %0.05 oranında krom oksit bulunduran alümin kristalinden ibaret yakuttur. Bu krom iyonları yeşil ve maviyi kolaylıkla soğurur (yakutun kırmızı rengi buradan kaynaklanır) ve bu iyonlar yoğun ve parıltılı bir beyaz ışıkla aydınlatılırsa üst düzeylere geçebilir; bu düzeyden geri inerken 694.3 nanometrelik dalga boyuna sahip kırmızı bir ışık yayımlar. Bu ışıktan yeterli boyutta kullanma imkanı olursa, bu yayım uyarılabilir.

2.1.3.2. İki Ayna

Her iki tabanı paralel ve iyice parlatılmış yakuttan bir silindir yapılırsa, bu şekilde oluşmuş olan iki ayna yönü kendilerine dik olan ışığı silindir içine hapseder. Üstelik bunlar arasındaki uzaklık uygunsa, belirli bir dalga boyuna denk gelen ışık bağdaşık olur: bu "rezonans yapan çukurluğun" uçlarındaki ardışık yansımalarından sonra bütün dalgalar senkronize olur. Bunun sonunda silindirin ekseni boyunca yönlendirilmiş bir ışıkla kat edilen ortamdan bağdaşık ve

monokromatik (tek renkli) bir ışık çıkar. Nihayet, bu ışığın frekansı ortamda uyarılmış yayımın frekansına denk gelirse, uyarılmış yayım yeterince büyüdükten sonra dışarıya alınabilir(ancak kısmen sır sürülmüş uç yüzeylerden birini delerek). Böylece paralel, bağdaşık, monokromatik bir demet, kısası bir lazer demeti elde edilir.

2.1.4. Diğerlerine Benzemeyen Bir Işık

Lazer demeti, klasik kaynaklardan yayımlanan ışıklardan birçok bakımdan farklıdır. Çok monokromatik, çok paralel ve bağdaşıktır..

Lazerin yayımladığı ışığın belirli bir dalga boyu vardır ve buna ait güç kilowatt'la ölçülür. Bu kesinlik kısmen, kullanılan yayımlayıcı enerji düzeyinin darlığına ve daha çok iki aynanın oluşturduğu rezonans boşluğunun oynadığı seçici role bağlıdır. İki ayna arasındaki uzaklık yayımlanan ışığın dalga boyunu belirlediğinden, dalga boyunu hafifçe değiştirmek için bu uzaklık değiştirilebilir (sıcaklık veya magnetik alan değişikliği ile).

2.1.5. Temel İlkeler

Atomlar ve moleküller alçak ve yüksek enerji düzeylerinde bulunabilirler. Alçak enerji düzeyinde bulunanları, genellikle ısı etkisiyle uyararak daha yüksek düzeylere geçirmek olanaklıdır; yüksek düzeylere geçen atomlar ve moleküller daha alçak bir düzeye geri dönerken ışık salarlar. Adi ışık kaynaklarında, uyarılmış durumdaki çok sayıda atom ve molekül birbirlerinden bağımsız olarak ve birçok değişik dalga boyunda ışık yayarlar. Ama, bir atomun uyarılmış durumda bulunduğu kısa zaman aralığında üzerine belirli bir dalga boyunda ışık düşürülecek olursa, atom kendisini uyaran bu dalga ile aynı fazda ışınım salar. Bu ışınım, böylece, uyaran dalgaya eklenmiş ve onu güçlendirmiş olur; eğer bu olgu yeterince yoğun bir biçimde gerçekleştirilirse sonuçta çok güçlü ve tümüyle eş fazlı bir ışık demeti elde edilir "eş fazlı" terimi, demeti oluşturan dalgaların tümünün aynı frekansta olduğunu ve aynı fazda titreştiklerini ifade eder.

Uyarılmış yayım ilkesini Einstein 1917'de ortaya koymuş ama 1960'lara (Bölüm 2.1.3.1.) gelinceye değin bu ilke uygulamaya geçirilememiştir. 1953'te ABDli fizikçiler C.H. Townes ve A.L. Schawlow, bu uyarılmış yayım ilkesinden yararlanarak mikrodalga frekanslarında çalışan maseri gerçekleştirdiler³. Rus fizikçiler A. Phorov ve N. Basov da, bağımsız olarak, benzer çalışmalar yürüttüler. ABDli fizikçi T.H. Maiman tarafından 1960'da gerçekleştirilen ilk lazerde yakuttan bir çubuk kullanılıyordu; sonradan çok çeşitli lazer türleri gerçekleştirildi.

Uyarılmış yayım olayı, kendiliğinden yayım olayı gibi, uyarılmış bir E_2 enerji düzeyinden, bir E_1 alt enerji düzeyine düşen bir atomun veya molekülün bir foton yayımlanmasına karşılık gelir. Böylece oluşan ışımının ν frekansı $E_2 - E_1 = h\nu$ bağıntısıyla verilir (h Planck değişmezi). Uyarılmış yayım, bir fotonun sistem üzerine, E_2 'den E_1 'e geçişi belirten, $E_2 - E_1$ enerjisiyle gelmesinden kaynaklanır. Isıl dengede olan bir sistemde, uyarılmış parçacık sayısı önemsizdir. Bu durumda, sistem üzerine gelen $\nu = (E_2 - E_1)/h$ frekanslı bir ışımının soğurulma olasılığı, uyarılmış bir yayıma yol açma olasılığından çok daha yüksektir. Söz konusu ışımının uyarılmış bir yayıma yol açma olasılığının kayda değer olması için, E_2 enerjili parçacıkların sayısı N_2 'den, E_1 enerjili parçacıkların sayısı N_1 'den büyük olması gerekir. Bu sonuca ulaşmak için, pompalama adı verilen bir dış uyarma yardımıyla, bir nüfus terslenimi gerçekleştirilir.⁸

Uyarılmış yayım sırasında ortaya çıkan iki enerji düzeyi her zaman temel enerji düzeyi ve pompalamayla erişilen uyarılmış düzey değildir. Burada çoğu kez, söz konusu olan ara düzeylerdir

Lazer olayını başlatmak için uyarılmış yayımı olanaklı kılacak enerji düzeylerine sahip kurucu öğelerden (atomlar, moleküller, iyonlar vb.) oluşan etkin bir ortam gereklidir. Bu ortam, iki enerji düzeyi arasında nüfus terslenimi oluşturacak biçimde pompalanır. Frekansı ışınımsal geçişe karşılık gelen tek renkli bir ışık demeti etkin bir ortama gönderildiğinde buradan uyarılmış yayımla yükseltilmiş olarak ve aynı doğrultuda çıkar. Bu yükseltici ortamı,

bir ışığa üreticisine dönüştürmek için bir rezonans boşluğuna yerleştirmek gerekir. Bir lazerde bu boşluk, birbirine koşt ve yayımlanan ışığa dik iki aynadan oluşur (Pérot-Fabry boşluğu). Aynalardan en az biri, üretilen ışığın dışarı çıkabilmesini sağlamak için kısmen saydamdır. Aynalar arasındaki uzaklık birkaç santimetreden birkaç metreye kadar değişebilir.

Bir lazerin yayımladığı ışık hem uzayda hem de zamanda bağdaşıktır, çünkü fotonlar aynı dalga boyunda, aynı doğrultuda ve aralarında faz farkı olmaksızın yayımlanır. Bundan önemli pratik sonuçlar elde edilir:

1. Bağdaşık olmayan kaynakların ışıklarının tersine, lazer ışığı yönlendirilmiştir; demetin ıraksaması birkaç saniyelik bir açıyla sınırlandırılabilir. Dolayısıyla küçük bir uzay açısı içinde kimi zaman çok büyük bir enerji ya da güç elde edilebilir.

2. Bir lazer demeti odaklandığında, kullanılan optik düzeneğin odağında çok küçük boyutlu (birkaç dalga boyu kadar) bir odak lekesi, dolayısıyla da birim yüzey başına çok büyük bir enerji yoğunluğu elde edilir.

Çeşitli ayırt edici özellikleri yönünden birbirinden farklı birçok lazer türü vardır. Bunlar etkin ortama göre (katı, sıvı, gaz, yarı-iletken), pompalama biçimine göre (flaş, gazlı deşarj tüpü, akım pompalamalı, kimyasal tepkime) ya da çalışma biçimine göre (sürekli, başıboş, tetiklemeli) sınıflandırılabilir.

Optik pompalama (bir yansıtıcı ile çevrili, helis biçiminde ya da doğrusal flaş) özellikle katı lazerleri için, elektriksel pompalama (elektriksel boşalma) ise gaz lazerleri için kullanılır. Kimyasal tepkimeyle pompalama, birbirlerine etkiyen maddeler (örneğin döteryum florür molekülleri veren flor+döteryum) kullanarak uyarılmış durumda moleküller üretmeye dayanır. Kimi durumlarda, üretilen molekülün eksipleks [uyarılmış kompleksi], temel hali ayrışık olduğundan ancak uyarılmış elektron hallerinde bir bağlı hal vardır, bu da nüfus terslenimini kolaylaştırır (örneğin soy gaz halojenürleri).

Etkin ortam sürekli olarak pompalandığında, lazer yayımı kalıcı olabilir: böylece sürekli bir lazer elde edilir. Pompalama flaş yapılırsa, yayım darbelidir. Bir lazer darbesinin süresi, genellikle flaşın süresinden kısa olduğundan uyarılmış düzey ardışık olarak boşalır ve yeniden dolar, bu da flaşın çalışmasının sona ermesiyle tamamlanan birbirine yakın lazer darbelerinden oluşmuş bir dizinin elde edilmesine neden olur(başboş çalışma). Darbeli bir lazerde, çalışma eşiğine erişildiğinde lazer yayımı engellenebilirse pompalama daha yüksek bir düzeye dek sürdürülebilir. Daha sonra yayım, kısa(birkaç nanosaniye kadar) bir darbe biçiminde serbest bırakılarak tepe değeri oldukça büyük bir güç elde edilebilir. Yayımı başlatmak için döner prizma, Kerr etkisi ya da akustik-optik etki gibi değişik yöntemler kullanılır.

2.1.6. Lazer Işınının Özellikleri:

1. En büyük özelliği dağılmaz olması ve yön verilebilmesidir. Bu özelliğinden yararlanılarak mesafe ölçme ve fiber optik teknolojisi geliştirilmiştir. Dalga boyunun küçük olması dağılmayı da büyük ölçüde azaltır. Uyarılan atomlar her yön yerine belli yönlerde hareket ederler. Bu lazerin çok parlak olmasını doğurur.
2. Lazer ışını, dalga boyu tek olduğundan monokromatik özellik taşır. Frekans dağılım aralığı, frekansının bir milyonda biri civarındadır. Bu sebepten istenilen frekansta çok sayıda dalgalar lazer dalgası üzerine bindirilmek suretiyle haberleşmede iyi bir sinyal jeneratörü olarak iş görür. Aynı anda birçok bilgi bir yerden başka yere gönderebilir.
3. Lazer ışını dağılmaz olduğundan kısa darbeler halinde yayınlanabilmesi mümkündür. Lazer kendisinde bulunan yüksek enerji sayesinde kesme, kaynak ve delme endüstrisinde kullanılır. Lazer darbesinin çok kısa olmasından yüksek hız fotoğrafçılığında faydalanılır. Yönlü bir hareket olmasından ise holografi ve ölçüm biliminde yararlanır. Bütün özellikleri ile uzak mesafe ölçümlerini mümkün kılar.

4. Lazer ışını tek dalga boyuna sahip olduğu için lazer cinsine göre çeşitli renkte ışınlar elde etmek mümkündür.

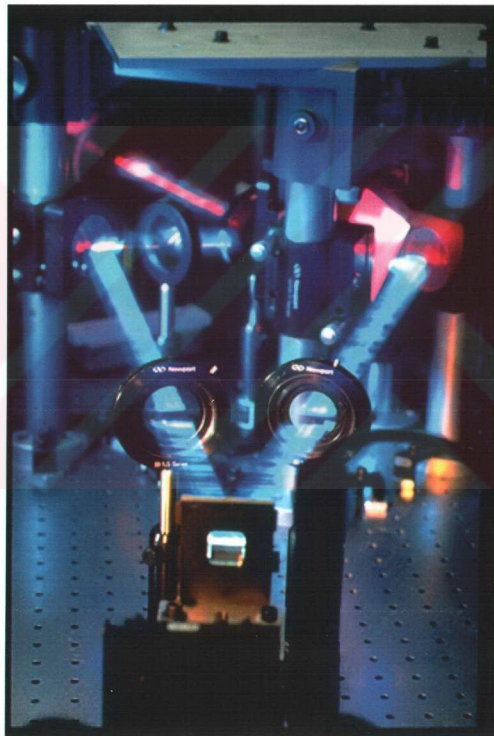
Yoğunlaştırılmış ışık ışınlarının ısıtma etkisi çok iyi bilinmektedir. Güneş ışınlarının büyüteçle bir nokta üzerinde odaklanarak bir kağıdı yakması mümkündür. Bütün ışınlar tek bir noktaya yönlendirilerek enerji yoğunluğu arttırılır ve kağıt ateşleme sıcaklığına yükselir.



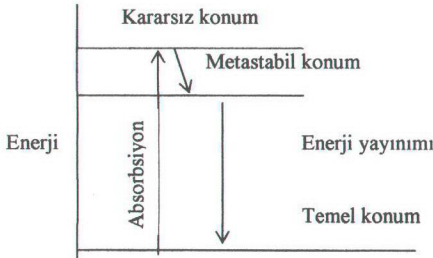
Şekil 2.4. Lazer Işını Demeti⁶

4. Lazer ışını tek dalga boyuna sahip olduğu için lazer cinsine göre çeşitli renkte ışınlar elde etmek mümkündür.

Yoğunlaştırılmış ışık ışınlarının ısıtma etkisi çok iyi bilinmektedir. Güneş ışınlarının büyüteçle bir nokta üzerinde odaklanarak bir kağıdı yakması mümkündür. Bütün ışınlar tek bir noktaya yönlendirilerek enerji yoğunluğu arttırılır ve kağıt ateşleme sıcaklığına yükselir.



Şekil 2.4. Lazer ışını demeti⁶



Şekil 2.5. Lazer'in çalışma prensibi⁹

2.2. PARAZİTLER

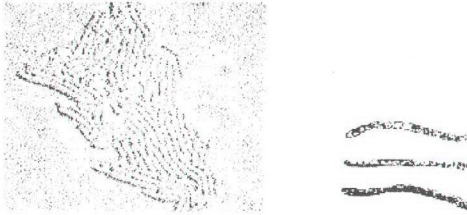
Parazitler genellikle üzerinde yaşadıkları konak canlılarının bağırsaklarında yaşarlar.

Bağırsak parazitler için vazgeçilmez bir mekandır çünkü bağırsakta besinler henüz sindirilmek üzeredir ve parazit, bağırsaklar tarafından emilmek üzere olan bu hazır besini kendisi kullanmaya başlar. Tabii bu sırada konak canlıya da zarar verirler.

En çok bilinen bir tür olan *E. coli* bakterisinin de kendi alt türleri arasına patojen özelliğe sahip bakterilerde vardır. Patojen bakteriler bir canlı içerisine girdiği zaman canlı üzerinde hastalık yapma özelliğine sahiptir. Tıp alanında özellikle ameliyathanelerde bu tip bakterilerin ameliyat esnasında açık olan yara bölgesine bulaşmaması için çok fazla sterilizasyon önlemleri alınır.

Sterilizasyon yöntemlerinin başında ise mikrop kırıcı kimyasallar gelir. Bunun dışında ısıtma, UV ışığına tutma ve buharlama gibi yöntemlerle cerrahi aletlerin temizlenmesi sağlanır.

UV yüksek enerjili bir ışık olup bakteri içerisine kadar nüfuz ederek bakterinin DNA' sını parçalar. UV ışığın dalga boyu bakteriyi kesin olarak öldürdüğünden dolayı gıda sanayisinde sıklıkla kullanılır.



Şekil 2.6. Bakteri örnekleri

Şekil 2.6. da soldaki resimde patojen özelliğe sahip bir *E.coli* kolonisi görülmüyor. Bu bakteriler kontamine olduğu canlı üzerinde ciddi rahatsızlıklara neden olurlar.

Koli basili (çomak) adı verilen diğer bir mikroorganizma türü ise kirli denizlerde ve durgun sularda yaşamaktadır. Koli basilleri belli bir sayının altında oldukları takdirde bulaştığı canlının kan hücreleri tarafından yok edilebilirler fakat sayıları arttıkça kan hücrelerine üstün gelmeye başlarlar ki nihayetinde ateşli hastalıklara neden olurlar. Bu yüzden belirli periyotlarda denize girilen yerlerde Koli basili sayımı yapılır.

Şekil 2.6. da sağdaki resimde yine bir patojen mikroorganizma olan " Bacillus " yani çomak bakterisi görülmüyor.

Bir parazitin, yaşadığı canlı üzerinde hastalık yapma gücü ve süresi türden türe değişir. Öyle ki bazı parazit mikroorganizmalar hafif bir ateş meydana getirirken, bazı parazitler canlıyı bir kaç hafta içerisinde öldürebilmektedir.

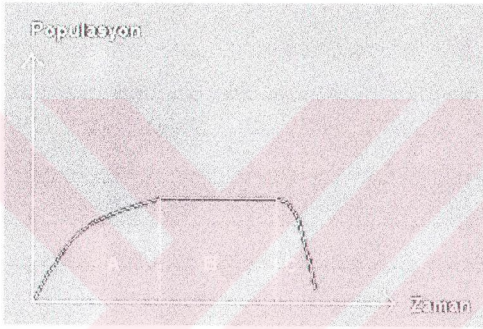
Parazitlerin yaşamını ve hastalık yapıcı özelliklerini inceleyen bilim dalı ise " Parazitoloji " dir.

İlginç olan diğer bir bulgu ise parazit mikroorganizmaların konak canlılar dışında, kendi aralarında da savaş halinde olmalarıdır. Biliyoruz ki bakteriler ve diğer mikroorganizmalar çok hızlı üreyen canlılardır. Eğer bakteriler için özel hazırlanmış bir besi kabına 100 - 200 bakteriden oluşan bir koloniyi yerleştirip uygun koşulları sağlarsanız (37°C sıcaklık), bu bakteri topluluğunun sayısı 24 saat içerisinde milyoları bulabilir.

Dünya üzerinde ise neredeyse sonsuz denilecek kadar çok sayıda mikroorganizma vardır. Her bir mikroorganizmanın bu derece hızlı ürediğini var sayarsak dünyanın bir kaç saat içerisinde boğazına kadar mikroorganizmalara batması gerekecekti.

İşte mikroorganizmaların birbirleri arasındaki yaşam mücadelesi böyle bir duruma engel teşkil eder. Bir mikroorganizma, hem kendi grubundaki mikroorganizmalarla hem de diğer başka tür mikroorganizmalarla sürekli bir kimyasal savaş içerisinde.

Bu durumu bir grafikte gösterelim.



Şekil 2.7. Bakterilerin popülasyon-zaman grafiği

Şekil 2.7.'de bir bakteri kolonisinin, gerekli besin ve uygun şartlar altındaki popülasyon - zaman grafiği görülmektedir.

Bakteriler başlangıçta az sayıda olup çok süratli bir şekilde üremeye başlarlar. (A) bölgesi bu hızlı üreme fazını göstermektedir. Bakteri popülasyonu büyüdükçe ortamdaki besin maddeleri azalmakta ve bakterilerin dışarıya verdiği toksik madde miktarında artış meydana gelmektedir. Besin maddelerinin azalması neticesinde üreme hızı belli bir limitin üzerine çıkamaz. Bu devre duraklama devridir ve (B) harfiyle gösterilmiştir. Şekilde (C) harfiyle gösterilen bölge ölüm devresidir. Bu devrede toksik madde miktarı besin maddesi miktarının çok üzerindedir. Ortamda çok fazla bulunan toksik maddeler bakteriler için zehir etkisi yapmakta ve ölümlerine neden olmaktadır. Dolayısıyla üreme hızı da ölümlere bağlı olarak süratle düşüş gösterir.

Eğer doğada böyle bir feedback mekanizması var olmasaydı şu an ortamdaki mikroorganizmalar yüzünden göz gözü görmeyecek ve yaşamdan söz edemeyecektik.

Mikroorganizmalar her ne kadar bizlerin gözünden kaçan önemsiz yaratıklar gibi gözükse de gerek yaşam biçimleri gerekse yerine getirdiği görevler bakımında doğanın dengesi için vazgeçilmez birer unsurlardır. Mikroorganizmalarda tıpkı diğer yaratıklar gibi, yaşamlarını devam ettirebilmek için hiç durmadan çalışmaktadırlar.¹⁴

2.2.1. Bakterilerde Canlı Hücre Sayımı

2.2.1.1. Genel Bilgiler

Bir bakteri kültüründeki canlı hücrelerin sayımı seyreltilmiş (dilüsyon) kültürden alınan belirli miktardaki örneğin; Nütrient agar vasatlarına ekimi ile gözlenir. Ekim yapılan örnekten belli inkübasyon süresi sonunda koloni oluşturan hücreler canlı hücreler olup, bunların sayımı ile kültürümüzdeki canlı hücrelerin sayısını belirleyebiliriz.

Burada önemli olan bir bakteri kültüründeki toplam hücre sayısı ile canlı hücre sayısı arasındaki farkı bilmektir. Bakteri kültüründeki toplam hücre sayımı elektronik koloni sayaçları, Thoma camı ile mikroskopik sayım, spektrometrik sayım vb. tekniklerle yapılabilir. Fakat bu metodlarla yapılan sayım sonucu elde edilen veri ya toplam hücre sayısının ya da hücre kütlesinin (cell mass) ortaya çıkmasını sağlar. Bu metodlarla elde edilen toplam hücre sayısı, canlı hücre sayısı demek değildir. Örneğin Thoma camı ile mikroskopta sayılan toplam bakteri hücrelerinden bir kısmı ölü olabilir. Gerçek anlamda canlı hücreler, Nütrient Agar vasatlarına yapılan ekim sonucunda gözlenen kolonilerdir. Genellikle bir bakteri kültüründeki canlı hücre sayısının toplam hücre sayısına oranı sonunda bulunan rakam, ekim verimliliği olarak adlandırılır (Plating efficiency). Genel ekim verimliliği oranı, zengin vasatlarda, Minimal vasata göre daha yüksektir.

2.2.1.2. Standart Kültürel Analiz Yöntemleri

Standart kültürel yöntemler ile *E. coli* tip 1 analizi aslında toplam fekal koliform bakteri analizinin devamıdır. Bir diğer deyiş ile *E. coli* tip 1 analizi yapılabilmesi için önce toplam koliform sonra fekal koliform analizlerinin yapılması gerekmektedir.

Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) ve dolayısı ile TSE'nin *E. coli* arama / sayma yöntemi En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemidir. Lauryl Sulfate Tryptose (LST) Broth (Merck 1.10266) besiyerinde standart toplam koliform aranması tamamlandıktan sonra gram pozitif tüplerden EC Broth (Merck 1.10765) besiyerine ekim yapılır. 45,5 °C 'de 24 saat (gerekirse 48) yapılan inkübasyon sonunda tüplerde gelişme ve gaz oluşumunun görülmesi pozitif olarak değerlendirilir ve tüplerde fekal koliform olduğuna karar verilir . Bu tüplerden Tryptone Water (Merck 1.10859) besiyerine ekim yapılır. Yine su banyosunda 45,5 °C'de 48 saat inkübasyon sonunda gelişme olan tüplere indol testi uygulanır. İndol pozitif olan tüpler *E. coli* tip 1 olarak değerlendirilir ve standart EMS tablosundan sayı hesaplanır. Analiz raporuna inkübasyon sıcaklığı yazılmak kaydı ile bu sınırlar arasında inkübasyon sıcaklığı seçilebilir.

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 'nın *E. coli* arama / sayma yöntemi bundan daha uzun ve karmaşıktır. LST Broth besiyerinde pozitif sonuç veren her tüpten yine EC Broth besiyerine geçilip, 45,5 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılırken buna paralel olarak Eosin Methylene Blue (EMB) Agar (Merck 1.01347) besiyerine sürme yapılır. 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda metalik parlak yeşil koloniler muhtemel *E. coli* olarak değerlendirilir. Her petri kutusundan 5 adet koloni izole edilir, bunlara IMViC testleri uygulanır. EC Broth uygulaması ile IMViC testleri artık IMVEC olarak adlandırılmaktadır. Her petri kutusundaki kolonilerden en az bir adedi IMViC testlerinde sırası ile + + – – sonuç verirse ve EC Broth tüpünde gelişme olursa bu petrinin ekiminin yapıldığı LST Broth tüpü *E. coli* pozitif olarak değerlendirilir, standart EMS tablosundan sayı hesaplanır.

Katı besiyeri olarak Violet Red Bile (VRB) Agar (Merck 1.01406), Eosin Methylen Blue (EMB) Agar (Merck 1.01347), Chromocult Coliform Agar (Merck 1.10426), Chromult Tryptone Bile X-glucuronide (TBX) Agar (Merck 1.16122) besiyerleri kullanılabilir. Standart VRB Agar besi yerinde 1-2 mm çaplı kırmızı koyu renkli koloniler tümüyle koliform grup bakteri üyeleri olup, *E. coli*'yi bunlar içinden ayırmak için ilave testlere gerek vardır. EMB Agar besi yerinde *E. coli* tipik metalik yeşil renkli koloniler oluşturmakla beraber, oluşan koloniler küçük olduğu için sayım zordur ve ayrıca kolonilerin ilaveten tanımlanmasına gerek duyulmaktadır. Chromocult Coliform Agar ise *E. coli*'yi diğer türlerden belirgin bir renk farklılığı ile ayırır. Chromocult TBX Agar besiyeri safra tuzları ve yüksek inkübasyon sıcaklığı ile (44 °C) refakatçi florayı inhibe eder, bu besi yerinde gelişen mavi - yeşil koloniler *E. coli* olarak sayılır.¹⁵

2.2.3. Bakteri Kültürüne UV Işık Uygulanması

Bir bakteri kültürü, öldürücü dozda UV ışığına maruz kaldığında, hücrelerin muhtemel bir canlı kalma olasılığı vardır. Şayet bu canlı kalma olasılığı (probability) 0.1 ise, o zaman kültürün %10'u canlı kalacaktır. Canlı kalan bakteri hücrelerine yine aynı oranda doz verilirse, bu hücrelerde canlı kalma olasılığı yine aynı oranda kalacaktır. Fakat doz oranı iki katına çıkarılırsa, hücrelerdeki canlı kalma olasılığı muhtemelen $0.1 \times 0.1 = 0.01$ (%1) olacaktır.

Şayet canlı hücrelerin sayısı, belli zamanlarda verilen UV ışınlarına karşı logaritmik grafik kağıdına işlenirse, bu durumda UV ışınına karşı logaritmik canlı hücre sayımı elde edilir. Uygulanan doza karşı canlı kalan hücrelerin sayısının logaritmik değeri "semi-log" logaritmik kağıdına da işlenebilir. Canlı kalan hücrelerin grafik üzerinde gözlenen eğimi, hücrenin UV ışınına hassas bölgesinin harap edilmesini (bir foton tarafından harabiyet) yansıtır. Şayet bu harabiyet, çok kolay olursa, grafik eğimi keskin olur. Harabiyet zor olursa, grafik eğimi daha geniş bir omuz yapar. Bu grafik eğimini etkileyen çeşitli faktörler vardır. Bunlardan bazıılarını şöyle sıralayabiliriz:

2.2.3.1. Kültürün Yoğunluğu

Üreyen kültür çok yoğunsa, bakteri hücrelerinin bazıları diğerleri tarafından "kalkan tipi" korunabilir. Böylece UV ışınlarının tüm hücrelere nüfus etmesi engellenebilir. Bu durumda canlı hücrelerdeki grafik eğimi geniş omuzlu (concave upwards) olacaktır.

Bakteri canlı hücre sayımı 1.10^8 ml^{-1} 'den az ise "kalkan tipi" koruma pratikte önem kazanmaz. Bu durumda bakterileri UV ışınına maruz bırakmak için logaritmik üreme dönemindeki hücreler ile çalışmak daha doğrudur.

2.2.3.2. Sıvı Vasatın Doğal Yapısı

Nütrient Broth, tampon çözeltilere nazaran daha fazla UV absorblar. Bu nedenle Nütrient Broth' lu bakteri kültürü UV ışınına maruz bırakılınca, etkili UV dozu düşürülmüş olur. Bunun yanı sıra, UV etkisine bırakılan Nütrient Broth' ta toksik organik peroksidler oluşabilir. Bu durumda da UV ışınının etkisinin daha uzun sürede gerçekleşmesi söz konusudur.

2.2.3.3. Hücrelerin Fizyolojik Koşulları

UV ışınlarının hedef bölgesi DNA'dır. Çok çekirdekli hücrelerin UV ışınına maruz kalması sonucunda bir çekirdeğin ışınlardan etkilenmediğini varsayarsak, hücrenin yaşama şansı fazla olacaktır. Oysa aynı dozdaki etki, tek çekirdekli hücreye daha fazla zarar verecektir. UV radyasyonunda en öldürücü ve mutajenik dalga boyu 253.4 nm dir. İn vitro (tüpteki) çalışmalardan öğrenildiğine göre pürinler UV ışınlarına bağlı olan kimyasal değişmelere kısmen dayanıklıdır. Fakat pirimidinlerin en az iki mekanizmayla değişikliğe uğradığı tespit edilmiştir. Bunlardan biri, hidrasyondur (hydration). Bu durumda suyun pirimidinlerdeki 5-6 çift bağlarına ilavesi söz konusudur. Fakat bu reaksiyonun biyolojik bir önemi yoktur. Diğeri ise, pirimidin dimerleşmesidir (çift bağ oluşumu). Genellikle komşu iki timin dimerleşmeye daha yatkındır. Bu ikinci durum biyolojik ve genetik açıdan önemlidir. Işıktan etkilenen hücreler "karanlıkta onarım" ve "ışıkta onarım" (fotoreaktivasyon) mekanizmalarına girişebilirler.

Işıқта onarım: UV ışığının etkisiyle DNA' da oluşan Timin dimerleri arasındaki kovalent bağ, 540 nm dalga boyundaki görünür

ışığın etkisiyle aktive olan Fotoliyaz enzimi ile direkt olarak kırılır. Bu şekilde DNA' daki hasar doğrudan giderilmiş olur. Fotoreaktivasyon mekanizması için mutlaka görünür ışığa gereksinim vardır.

Karanlıkta onarım (Excision repair): Fotoreaktivasyonun aksine bu onarım mekanizması için görünür ışığa gereksinim yoktur. DNA' da Timin dimerinin bulunduğu bölgedeki, doğru bazları da içeren yaklaşık 8-12 nükleotidlik kısım uvrABC ekzinükleaz (iki uçtan da kesen) aktivitesi ile kesilir. Kesilen oligonükleotid, HelikazII enzimi ile DNA' dan uzaklaştırılır. DNA' nın hasarlı kısmındaki bu boşluk DNA PolimerazI enzimi ile karşı iplikçik kalıp olarak kullanılarak doldurulur. Daha sonra iki serbest uç DNA Ligaz enzimi ile birleştirilir. Bu şekilde hasar onarılmış olur.

2.2.4. E. coli Hücrelerine UV (Ultraviyole) Işını Uygulaması Ve Canlı Kalan Hücrelerin Tespiti

2.2.4.1. Genel Bilgiler

Escherichia coli ilk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve önce *Bacterium coli commune* olarak, daha sonra *Escherichia coli* olarak adlandırılmıştır. Bugün üzerinde en çok çalışılan ve genetik yapısı en iyi bilinen canlı türüdür.

E. coli 'nin doğada bulunduğu tek yer sıcak kanlı hayvanlar olarak bilinen memeli ve kanatlı hayvanların bağırsak sistemleri ve dolayısı ile bunların dışkılarıdır. Dolayısı ile bir gıda maddesinde, içme ya da kullanma suyunda *E. coli*' ye rastlanması o örneğe doğrudan ya da lağım suyu aracılığı dışkı bulaştığının göstergesidir. *E. coli* tip 1 olarak tanımlanan standart *E. coli* suşları çok kolaylıkla belirlenebildiği için bir materyalde fekal kontaminasyon (dışkı bulaşıklığı) kontrolünde *E. coli* çok yaygın olarak kullanılan indeks (gösterge) bakteridir.

Başlangıçta, bağırsakların doğal florası olarak kabul edilen ve burada B vitamini sentezine katılması nedeni ile yararlı olarak nitelendirilen *E. coli* 'nin İkinci Dünya Savaşından sonra diyarejenik (diyareye neden olan) sonuçlarının ortaya konulması ile bu bakteriye

bakış değişmiştir. Bugün için gıda kaynaklı en tehlikeli patojen bakteri *E.coli* 'nin özel bir serotipi olan O157:H7 'dir.

2.2.4.2. Aranması / Sayılması

Yukarıda da belirtildiği gibi *E.coli* tip 1, üzerinde en çok çalışılan bakteri olması nedeni ile kolaylıkla belirlenebilmektedir. Gıdalarda *E.coli* belirlenmesinde standart analiz yöntemi En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemidir. Katı besiyeri ve membran filtrasyon yöntemlerine ilaveten gelişmiş ve hızlı analiz yöntemleri de kullanılmaktadır.

3. MATERYAL, METOD VE BULGULAR

3.1. LN300C SEALED PULSLU NİTROGEN/DYE LAZERİN BAŞLICA KISIMLARI VE ÖZELLİKLERİ



Şekil 3.1. LN300C Sealed pulslu nitrogen/dye lazer

3.1.1. Sistem Özellikleri

Tanımlama	LN 300C
Işık dalga boyu (nm)	337.1
Işık band genişliği (nm)	0.1
Puls genişliği (ns)	5
Enerji / Puls (μ J)	250
Çevirtim etkisi (%)	N/A
Enerji / süreklilik (%)	3
Peak gücü (kW)	50
Yineleme hızı (maximum) (Hz)	30
Maximum ortalama güç (mV)	7
Demet Boyutu(yatayxdikey) (mm)	9x4
Demet Ayrılığı(yatayxdikey)(mrad)	1.6x0.7
Puls Ateşleme	TTL
Puls Durdurma	TTL
Titreme Komutu (ns)	± 2
Giriş Voltajı	115 V 60 Hz
Boyut (in) (L x W x H)	28.5x8.5x6

Boyut (cm) (L x W x H)

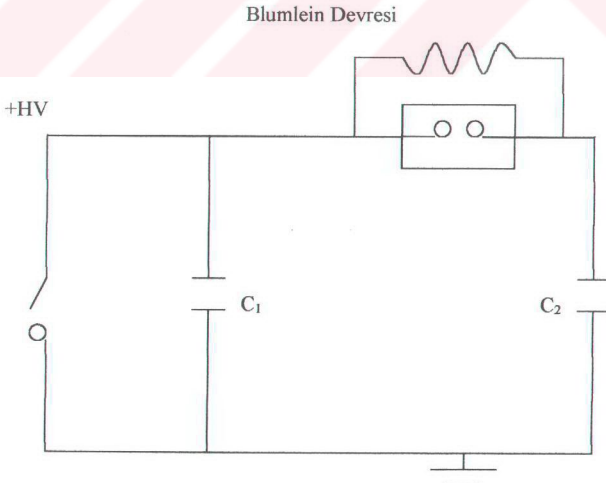
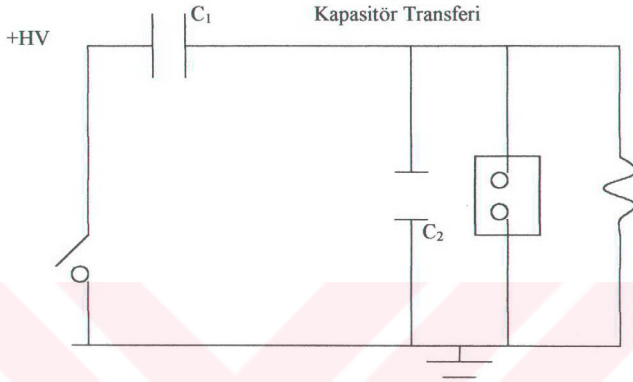
71.3x21.3x15

Ağırlık (Ibs)

20

Ağırlık (km) “

9



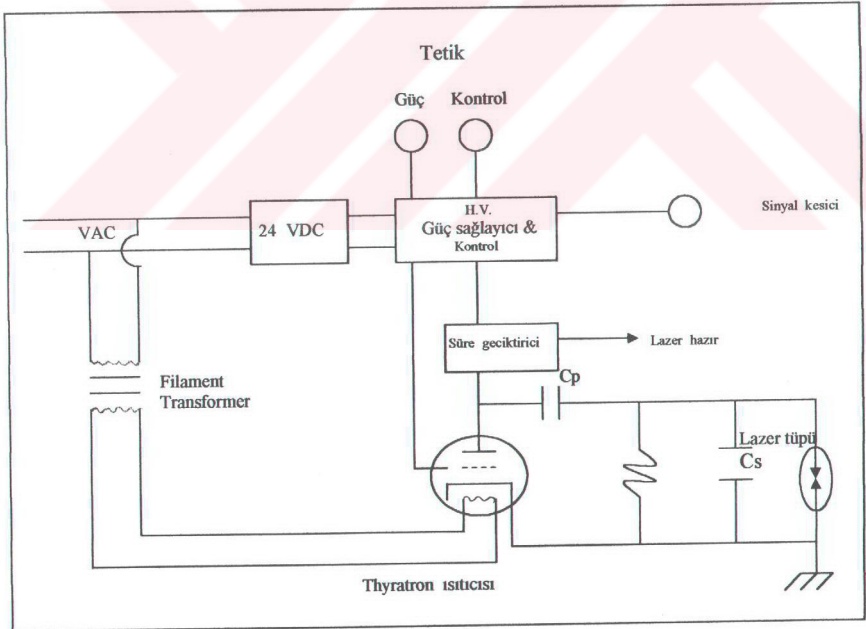
Şekil 3.2. N₂ lazer için uyarılma devreleri

3.1.2. Nitrojen Lazerleri

Nitrojen lazer 337.1 nm dalga boyu, yüksek peak güçlü ultraviyole ışınlar üretir. Nitrojen lazerlerde üç seviyeli lazerin elektronlarının metastabil seviyede çok kısa süreli kalmasına rağmen çok yüksek çıkış güçleri elde edilebilmektedir.

Mekanizma C^3U enerji seviyesindeki nüfus terslenimi B^3g' dekinde oranla daha fazla elektronun uyarılmasını sağlar. B^3g enerji seviyesinde uyarılmış moleküller metastabil olmasına rağmen, elektronlarında düşük seviyede de olsa kazanç görülür. N_2 moleküllerinin bu özelliği lazer pulslarının böyle kısa olmasına sebeptir. N_2 lazerde terslenim süresinin kısa olması için yüksek hızlı elektrik devresine ihtiyaç duyulur. (Şekil 3.2)

3.1.3. Ana Bileşenler



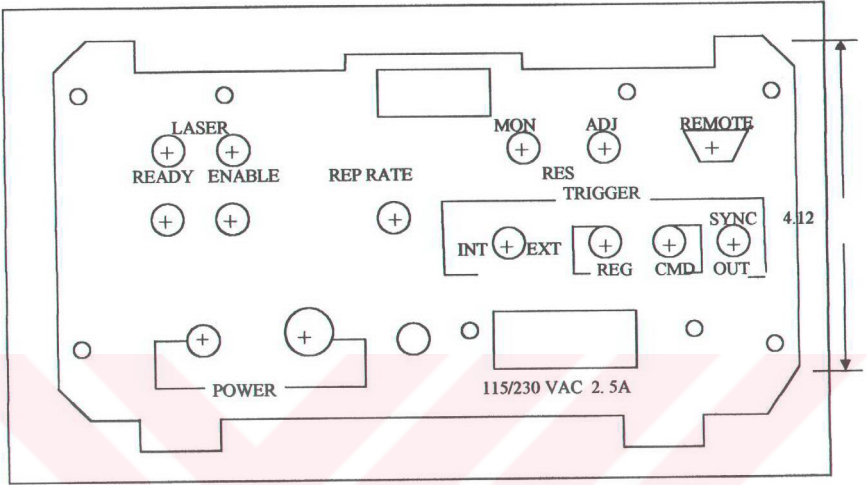
Şekil 3.3. LN300C sistem düzeneği

LN 300 C nin sistem düzeneği Şekil 3.3.' te verilmiştir. Lazerin ana bileşenleri, birÇok lazeri etkileyen yksek voltaj modlne, kontrol devre paneli, ttp ve kapasitdr ihtiva eden lazer baŐlıklı DC gpc sağlayıcılarıdır.

AC den direkt olarak gelen filament sağlayıcı thyatron ısıtıcısını etkiler. Thyatron hareketleri bu kapasitdr transfer devresi iÇin yol aŐan parŐadır ve kontrol panelinden gelen yksek voltaj sinyali ile tetiklenir.

3.1.4. Kullanıcı İÇin Kontroller

POWER (Switch)	:AC den gelen elektriği 5 dakika iÇinde aktive edip cihaza gpc verir.
POWER (LED)	:Sisteme gpc verildiğini gosteren kırmızı ışık
VAC RECEPTACLE	:120 / 240 VAC arası ŐalıŐabilen voltaj seÇici
LASER READY	:Lazerin ateŐlemeye hazır olduğu gosteren yeşil ışık
LASER ENABLE (Switch)	:AteŐlemeyi baŐlatan tetik
LASER ENABLE (LED)	:Lazerin ateŐlemeye hazır olduğunu gosteren kırmızı ışık
TRIGGER IN / EXT REP RATE	:İŞ tetik ve dış tetik kaynağını ayarlar :Saniyede atan puls sayısını 1- 30 Hz arasında ayarlar
REMOTE	:Cihazın uzaktan kumanda edilebilmesini sağlayan sistem



Şekil 3.4. Kontrol paneli

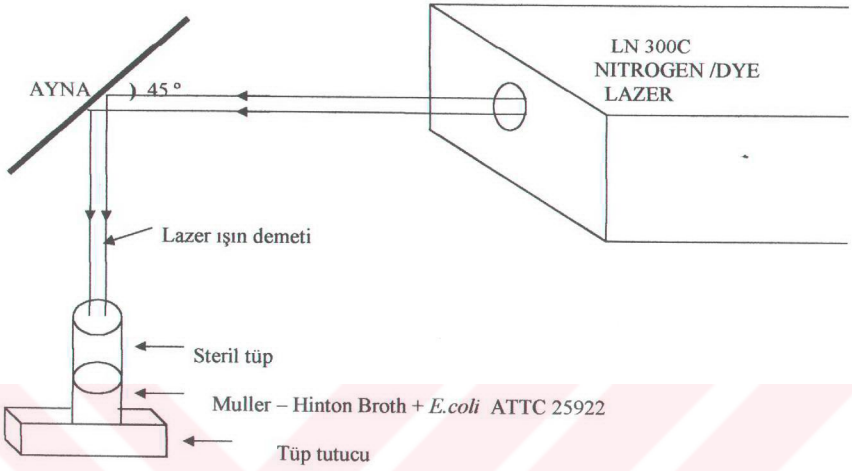
3.2.DENEYİN YAPILIŞI

3.2.1. Kullanılan Materyal Ve Araçlar

- A) *E. coli* ATCC 25922 bakterisi
- B) 20 steril seyreltme tüpü
- C) 2.5µl ile 10ml arasında değişen pipetler
- D) 75 ml' lik Muller-Hinton Broth besi yeri
- E) 20 adet Gram negatif bakteriler için hazırlanmış katı besi yeri

3.2.2. İzlenen Yol

10 tüpten oluşan 5'er ml lik Muller-Hinton Broth besi yerine *E. coli* ATCC 25922 bakterisi seyreltme metoduyla 2.5 µl' lik oranlarda damlatma suretiyle ekim yapıldı. Daha sonra tüpler 5'erli 2 gruba ayrıldıktan sonra numaralandırılarak Tablo2'de verilen dozlarda UV lazer ışınlarına maruz bırakıldı.



Şekil 3.5. Deney düzeneği

Tablo 2. Deneyde kullanılan gruplar ve uygulanan dozlar(Puls)

Petri kapları	1	2	3	4	5
1. Grup	Kontrol	50 puls	100 puls	150 puls	300 puls
2. Grup	Kontrol	50 puls	100 puls	150 puls	300 puls

Tablo 3. Deneyde kullanılan seyreltik gruplar ve uygulanan dozlar(Puls)

Petri kapları	1	2	3	4	5
3. Grup	Kontrol (Seyreltik)	50 puls (Seyreltik)	100 puls (Seyreltik)	150 puls (Seyreltik)	300 puls (Seyreltik)
4. Grup	Kontrol (Seyreltik)	50 puls (Seyreltik)	100 puls (Seyreltik)	150 puls (Seyreltik)	300 puls (Seyreltik)

1. gruba bakteri ekimi yapılır yapılmaz 50, 100, 150 ve 300 pulsluk UV lazer ışınları uygulandı (Tablo2) ve her 2 grupta 37°C' lik etüve kaldırılıp 24 saat inkübasyona (üremeye) bırakıldı.

24 saat etüvde inkübasyona bırakılan kültürler etüvden çıkartılıp Wortex' te karıştırılarak homojen hale getirildi ve 2. gruba da Tablo2'de belirtilen 50, 100, 150 ve 300 pulsluk dozlarda UV lazer uygulandı. Daha sonra ise tüplerden alınan 2.5 µl'lik bakteri kültürleri Gram negatif bakteriler için hazırlanan katı besi yerine ekilerek tekrar 37°C de 24 saat süre ile etüvde inkübasyona bırakıldı.

Bakteri popülasyonundaki üreme artışının çok fazla olabileceği ve bunun da deney sonuçlarını olumsuz etkileyebileceği ihtimali düşünülerek bakteri kültürleri 2.5 µl bakteri kültürü/20 µl Muller-Hinton Broth oranında seyreltilerek ayrıca 10 katı besi yerine daha ekim yapılip besi yerleri 37°C de 24 saat süre ile etüvde inkübasyona bırakıldı. (Tablo 3.)

Katı besi yerine ekim yapıldıktan 24 saat sonra (48. saatin sonunda) katı besi yerleri etüvden çıkartılıp fotoğrafları çekildi.

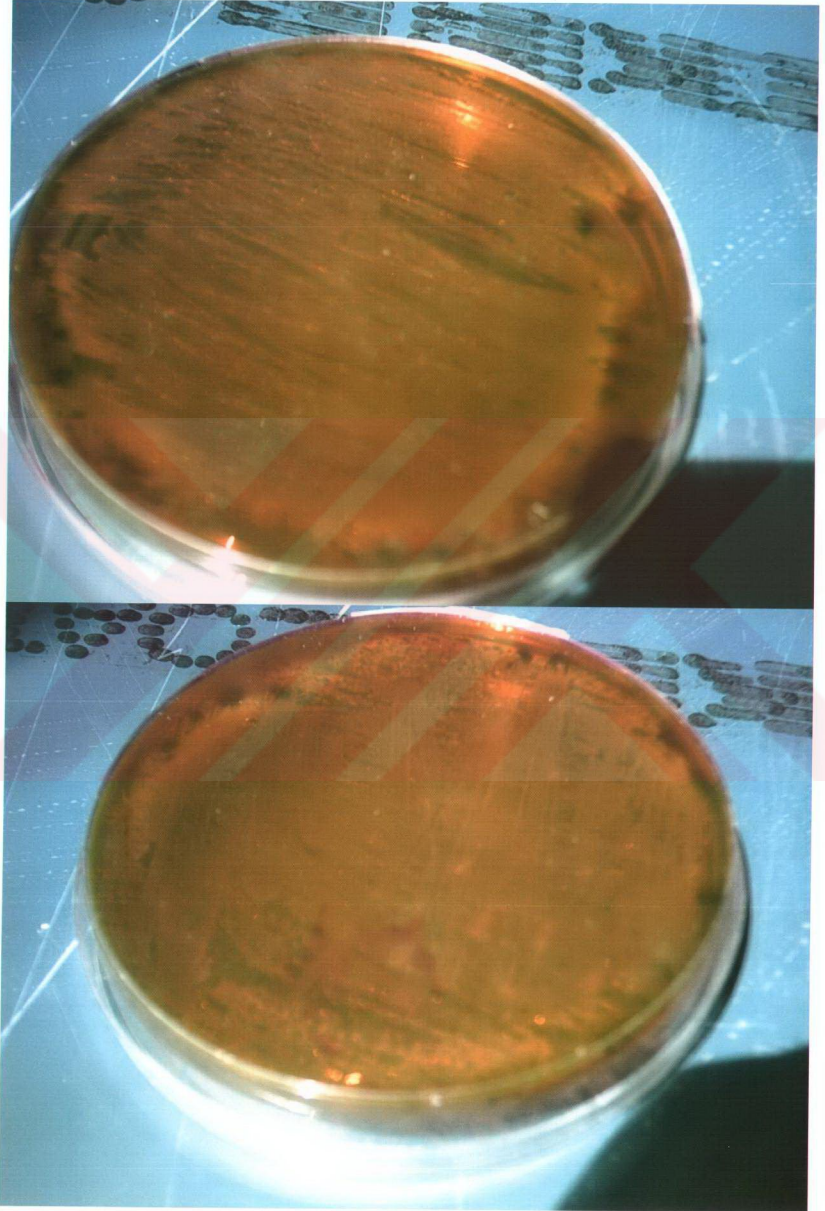
Şekil 3.5. te üstteki resim inkübasyona bırakılmadan direkt olarak 300 puls enerji verilen 2.5 µl bakteri kültürü/20 µl Muller-Hinton Broth seyreltmesi yapılan bakteri kültürünü, alttaki resim ise 24 saat etüvde inkübasyona bırakıldıktan sonra 300 puls enerji verilen 2.5 µl bakteri kültürü/20 µl Muller-Hinton Broth seyreltmesi yapılan bakteri kültürünü göstermektedir. (300 puls=300x250µJ=75mJ

Not:Fotoğraflar bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra 1000 piksel genişlik, 750 piksel yükseklik ölçülerinde kağıt üzerine aktarılmıştır. Orijinal boyutlar 800 piksel genişlik, 600 piksel yükseklik' tir.

Tablo 4. Deneyde kullanılan gruplar ve uygulanan dozlar(Enerji)*

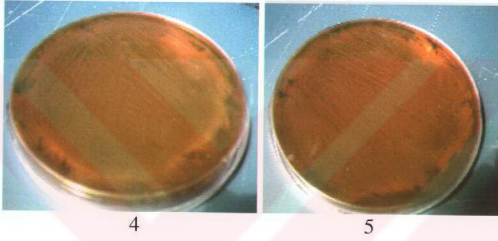
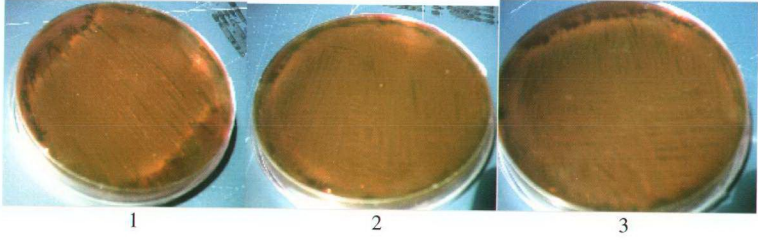
	1	2	3	4	5
1. Grup	Kontrol	12.5 mJ	25 mJ	37.5 mJ	75 mJ
2. Grup	Kontrol	12.5 mJ	25 mJ	37.5 mJ	75 mJ

* 1 Puls = 250 µJ

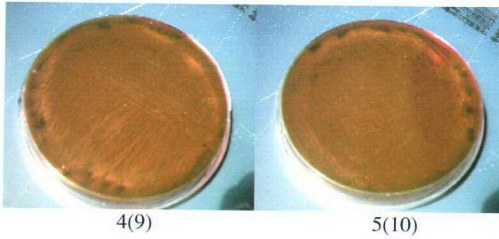
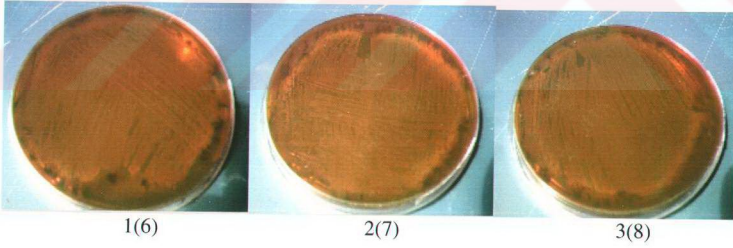


Şekil 3.6. Deney sonu bakteri popülasyonlarının karşılaştırılması

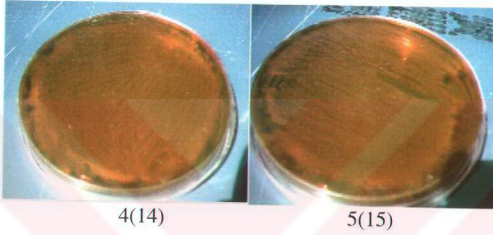
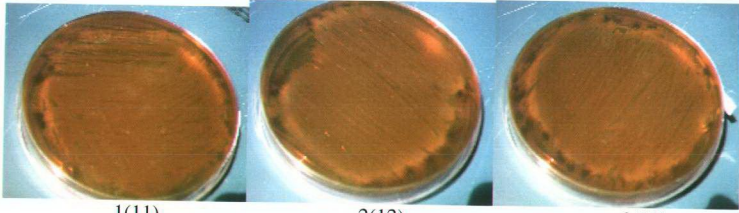
Tablo 1. deki 1. grubun petri kapları



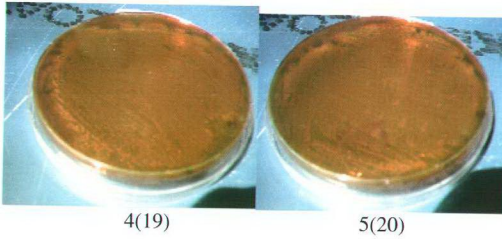
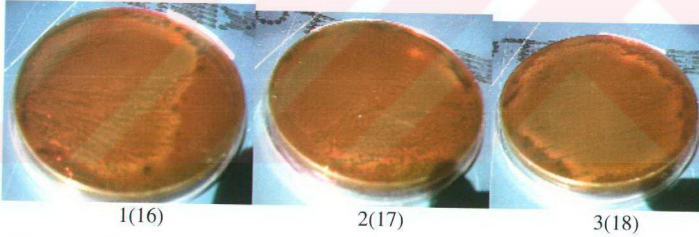
Tablo 1'de ki 2. grubun petri kabları



Tablo 2'de ki 1. grubun seyreltilmiş petri kablari



Tablo 2'de ki 2. grubun seyreltilmiş petri kablari



Not: Şekil 3.6'a gösterilen resimler 15: Tablo 2'de ki 1. grubun seyreltilmiş 5. petri kabı
20: Tablo 2'de ki 2. grubun seyreltilmiş 5. petri kabı

Şekil 3.7. Kullanılan tüm petri kaplarının bir aradaki fotoğrafları

4. SONUÇ

Bu çalışmada hedeflenen; UV ışınlarına maruz kalacak olan *E. Coli* ATCC 25922 kodu ile adlandırılan bakteri kolonilerinin üreme grafiklerinin, uyguladığımız dozlarda, nasıl bir değişim gösterdiğini incelemektir. Şekil 3.6 da deney sonucunda farklı uygulamalara maruz kalan bakteri kolonilerinin çekilmiş fotoğrafları bulunmaktadır. Beklenen sonuç UV ışınlarına maruz kalan kültürlerdeki bakteri kolonilerinin sayılıp bunun logaritmik azalan bir grafik olduğunu göstermekti. Fotoğraflardan anlaşılacağı üzere makroskopik düzeyde iki kültürdeki bakteri kolonilerinin sayısında istenilen ölçüde bir değişme gözlenmemiştir. Bunun nedeni büyük olasılıkla uygulanan dozların bakteri kolonileri üzerinde makroskopik düzeyde değişim oluşturabilecek miktarda olmamasıdır. Ayrıca deney ortamının ve koşullarının yeterince optimal düzeye ulaştırılamaması, kısa süreliğine de olsa bakteri kültürlerinin ışık ve hava ile teması, kültürlerdeki üreyen bakteri miktarının da çok fazla olması deney sonucunu etkileyen etmenler arasında yer almaktadır.

Bunların dışında şekil 3.6. daki fotoğraflar karşılaştırıldığında 20 no'lu kültürdeki bakteri kolonilerinin çapı 15 no'lu kültürdeki kolonilerin çapından belirgin bir şekilde büyüktür. 15 no'lu kültür ile 20 no'lu kültür arasındaki tek farkın; 15 nolu kültürün bakteri ekiminin hemen ardından , 20 no'lu kültürdeki bakterilerin ise 24 saat etüvde inkübasyona bırakıldıktan sonra UV lazer ışınlarına maruz bırakılmış olması bu sonucun direkt radyasyona maruz kalan bakterilerin diğer gruba oranla UV lazerden daha fazla etkilendiği sonucuna bizi götürür. Bakterilerin koloni çaplarında gözlemlenen farklılığın 2-7, 3-8, 4-9, 5-10, 12-17, 13-18, 14-19 nolu kültürler karşılaştırıldığında da aynı olması böyle bir sonuca ulaşılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1 http://www.taek.gov.tr/taek/tudnaem/isbirligi_faaliyetleri/isinlama_kursu_azerbaycan/isinlamanin%20mikroorganizmalarin%20uzerine%20etkisi.doc
- 1a Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 1b Hüttermann, J.; Voit, K.; Oloff, H.; Köhnlein, W.; Gräslund, A.; Ruprecht, A. "Specific formation of elektron gain and loss centres in X-irradiated oriented fibres of DNA at low temperatures." *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 78:135-149; 1984. in Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 1c Steenken, S. "Purine bases, nucleosides and nucleotides: Aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts." *Chem. Rev.* 89:503-520; 1980 in Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 1d von Sonntag, C. "The chemical basis of radiation biology." London: Taylor & Francis; 1987:31-36 in Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 1e Beyath Y., Akbari, M., "UV-ışınların *Lactobacillus Plantarum* ve *Pediococcus Pentosaceus* bakterileri üzerine etkisinin araştırılması "G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi (Journal of Science)", Vol.9 No:2 pp. 1300-1833 , ANKARA , Nisan 1996
- 2 <http://www.aib.org.tr/duyuru/toplantiisinlama/isinlamayasal.pdf>
- 2a Kuwabara, M. "Chemical processes induced by OH attack on nucleic acids." *Radiat. Phys. Chem.* 37:691-704; 1991. in Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 2b Téoule, R. "Radiation-induced DNA damage and its repair." *Int. J. Radiat. Biol.* 51:573-589; 1987. in Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 2c Stubbe, J. ; Kozarich, J. W. "Mechanisms of bleomycin-induced DNA degradation." *Chem. Rev.* 87:1107-1136; 1987. in Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 2d von Sonntag, C. "The chemical basis of radiation biology." London: Taylor & Francis; 1987. in Anthony P. Breen and John A. Murphy, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995

- 2e Halliwell, B. ;Aruoma, O. I. "DNA damage by oxygen-derived species." FBES Lett. 281:9-19; 1991. in Anthony P. Breen and John A. Murphy, Free Radical Biology & Medicine, Vol 18, No. 6, pp. 1033-1077, 1995
- 3 Aygün, E., Zengin, M., "Atom Ve Molekül Fiziği", Bilim Yayıncılık, ANKARA, 1998.
- 4 Gündüz, T., "Enstrümental Analiz", Ankara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları, ANKARA, 1990.
- 5 Haken,H., Wolf, H. C., "Atom ve Kuantum Fiziği Deneyler ve Teoriye Giriş", Çeviri: Dr. Okur İ., 6. Baskı, Değişim Yayınları.
- 6 Photonics and pro: An overview, Ryerson university March 2002, Dr.G.F.Lynch: President and CEO. Photonics Research Ontario Chairman,Canadian Photonics Consortium
- 7 Skoog, D. Holler, F. Dnieman, T., "Enstrümental Analiz", Çeviri Editörleri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Bilim Yayıncılık, 1. Baskı, ANKARA, 1998
- 8 Bransden, B. H., Joachain C. J., "Atom ve Molekül Fiziği", Çeviri:Köksal F., Gümüş H., 2. Baskı, Bilim Yayıncılık, Ankara, 1999.
- 9 Anık, S.,Vural,M., "1000 Soruda Kaynak teknolojisi El kitabı",3. Baskı,Birsen Yayınevi, İstanbul, 2000
- 10 LN300C SEALED NITROGEN/DYE LASER Operator's manuel, Laser Photonics, Inc. 12351 Research Parkway . Orlando, Florida, February, 1993.
- 11 Lasers and Laser Applications The Photonic Innovation 10 th SSOM Engelberg Lectures on Optics 03 - 06 March 2003 Hotel Regina Titlis, Engelberg.
- 12 "Einstein's Legacy" (Accessed on Oct. 30, 2002).
<http://home.achilles.net/~jtalbot/history/einstein.html>
- 13 "The Invention of the LASER" (Accessed on Oct. 30,2002)
<http://www.bell-labs.com/history/laser/>
- 14 <http://www.genbilim.com/parazit5.htm>
- 15 <http://www.mikrobiyoloji.org/dokgoster.asp?dosya=942122041>
- 16 Aydınol,B., "Pratik Biyokimya", D.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları,DİYARBAKIR, 1993.
- 17 <http://arbiol.com.tr/uvbilgi.htm>
- 18 http://yunus.hacettepe.edu.tr/~celal/Foy_eski.htm
- 19 <http://www.ankemdernegei.org.tr/pdf/c16s1b2.pdf>

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Çeşitli organizmaları öldürmek için gerekli yaklaşık radyasyon dozları.....	6
Tablo 2. Deneyde kullanılan gruplar ve uygulanan dozlar(Puls)	40
Tablo 3. Deneyde kullanılan seyreltik gruplar ve uygulanan dozlar(Puls) ...	40
Tablo 4. Deneyde kullanılan gruplar ve uygulanan dozlar(Enerji).....	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Uygulanan doz ve canlı mikroorganizma arasındaki ilişki.....	4
Şekil 1.2. Işın spektrumlarının dalga boyları.....	8
Şekil 2.1. (a), (b), (c), (d) Maddeden salınabilen ışık türlerinin oluşum mekanizmaları.....	11
Şekil 2.2. (a) Normal Boltzman dağılımı, (b) Nüfus terslenimi	12
Şekil 2.3. Nüfus terslenimi	15
Şekil 2.4. Lazer Işını Demeti.....	25
Şekil 2.5. Lazer'in Çalışma Prensibi.....	26
Şekil 2.6. Bakteri örnekleri.....	27
Şekil 2.7. Bakterilerin popülasyon-zaman grafiği	28
Şekil 3.1. LN300C Sealed Nitrogen/Dye Lazer.....	35
Şekil 3.2. N ₂ lazer için uyarılma devreleri.....	36
Şekil 3.3. LN300C sistem düzeneği.....	37
Şekil 3.4. Kontrol paneli.....	39
Şekil 3.5. Deney düzeneği.....	40
Şekil 3.6. Deney sonu bakteri popülasyonlarının karşılaştırılması.....	42
Şekil 3.7. Kullanılan tüm petri kaplarının bir aradaki fotoğrafları.....	44

ÖZ GEÇMİŞ

1978 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Sakarya'da tamamladıktan sonra 1996 yılında Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fizik Öğretmenliğini kazandım. 2000 yılında mezun olduğumdan beri Diyarbakır'ın Çermik ilçesine bağlı bir mezrasında sınıf öğretmenliği yapmaktayım. 2002-2003 Eğitim-Öğretim yılında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimime başladım.

