

Araştırma Makalesi
(Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2018, 55 (4):411-419
DOI: 10.20289/zfdergi.403606

Nedim ÇETİNKAYA¹

Fide Üretim Tesislerinde Ozon Gazı ile Dezenfeksiyon Olanakları Üzerinde Araştırmalar

Investigations on Disinfection Possibilities with Ozone in Indoor of Seedling Nursery Facilities

¹Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova-İzmir

sorumlu yazar / correspondence:

Nedim ÇETİNKAYA, cetinkaya.nedim@gmail.com

Alınış (Received): 09.03.2018

Kabul tarihi (Accepted): 19.04.2018

Anahtar sözcükler:

Ozon, dezenfeksiyon, mikrobiyel yük, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada tarımsal işletmelere bitkisel materyal sağlamaya yönelik üretim yapan tesislerin kapalı ortamlarının genel dezenfeksiyonu amacıyla ozon gazının kullanım olanakları araştırılmıştır.

Materyal ve Metot: Ozon üretimi ve ölçümü için Anseros Pap Mobil 2000 Ozone Water Skid kompakt sistemi kullanılmıştır. Mikrobiyel materyali kabinlerde yüksek nem koşullarında gelişimi teşvik edilen doğal mikroflora oluşturmuştur. Metal yüzeyleri bitki patojeni bir mikroorganizma ile kontamine etmek amacıyla bir *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* izolatu kullanılmıştır. Araştırmalar yüksek nem sonucu yoğun mikrobiyolojik yüke sahip kapalı kabine 15-60 dakika ve 75-150 mg O₃/Nm³ dozlarında uygulanarak yürütülmüştür. Metal yüzeyler ise aynı dozlar daha kısa süre ile maruz bırakılmıştır.

Bulgular: Kabin atmosferindeki yoğun mikrobiyel yük 100 ve 150 mg O₃/Nm³ dozlarının 1 saat süre ile uygulanması sonucu % 100 kontrol edilmiştir. 75 ve 85 mg O₃/Nm³ gaz formunda ozon dozlarının 1 saat süre ile uygulanması sonucu kabin içi atmosferinde hava yolu ile hareket eden ve yüzeylerde bulunan fungal ve bakteriyel mikroorganizmalar üzerinde kontrole göre önemli etkiye sahip bulunduğu saptanmıştır. Artan ozon dozları ile fungal yük arasında kuvvetli negatif ilişki belirlenmiştir. Kabin içi metal yüzeylerde mevcut fungal yük gaz formunda ozon uygulaması ile kontrole göre istatistiki öneme sahip olarak azalmıştır. Otuz dakika süre ile 100 mg O₃/Nm³ dozunda ozon uygulaması ile *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mikrokonidileri tümüyle eradike olmuştur.

Sonuç: Çalışma sonucunda elde edilen veriler sonucunda ozonun fide üretim tesislerinin iç mekanlarda güvenli bir dezenfektan olarak kullanılmasının mümkün olduğu anlaşılmıştır.

Ozonun 100 mg O₃/Nm³ dozunun 1 saatlik uygulama ile steril bir atmosfer oluşturduğu ve ortamda bulunan diğer malzemenin temizliği açısından bu kombinasyonun uygulanabilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Keywords:

Ozone, disinfection, microbial load, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

ABSTRACT

Objective: In this study, the possibilities of using ozone for the general disinfection of indoor environments of plant nursery facilities which are provide material to open field and greenhouses were investigated.

Material and Methods: Anseros Pap Mobil 2000 Ozone Water Skid compact system was used for the production and measurement of ozone. Microbial material has formed the natural microflora, which is encouraged to develop under high humidity conditions in the cabinets. To contaminate metal surfaces with a plant pathogenic microorganism was a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate used. The research was carried out with the application of 15-60 minutes and 75-150 mg O₃/Nm³ doses to the closed cabinet with high microbiological load. Metal surfaces were exposed to the same doses for a shorter period.

Results: The intensive microbial load in the cabinet atmosphere was 100% controlled as a result of the application of 100 and 150 mg O₃/Nm³ doses for 1 hour. It has been determined that the ozone doses in 75 and 85 mg O₃/Nm³ with 1 hour application time have a significant effect on the fungal-bacterial microorganisms on the surfaces and move by the air in the cabin atmosphere. Strong negative correlation between increased ozone doses and fungal load was determined. The fungal and bacterial loads on the cabin metal surfaces have decreased with the significance of ozone application in the gaseous form. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* microconidia with application at a dose of 100 mg O₃/Nm³ for 30 minutes have been completely eradicated.

Conclusion: As a result of the data obtained from the study, it was understood that it is possible to use the ozone safely as a disinfectant in the interior spaces for seedling nursery facilities. It was concluded that the 100 mg O₃/Nm³ dose of ozone with 1 hour application creates a sterile atmosphere. This combination is feasible for the cleaning of the other material in the spaces.

GİRİŞ

Yoğun üretim niteliğini taşıyan sera veya örtüaltı yetiştiriciliğinde sağlıklı üretim materyali ile işe başlamak ve akabinde üretimi sorunsuz bir şekilde sürdürmek önem taşımakta, olası bir fitopatolojik sorunun giderilmesi zor veya masraflı kayıplara yol açmaktadır.

Ozon çok kuvvetli bir oksidasyon ve buna paralel olarak dezenfeksiyon yeteneğine sahip bir gazdır. Ozonun dezenfektan etkisi klorla kıyaslandığında yaklaşık 2000 kat daha fazladır ve genelde dakikalarla ölçülen bir sürede tekrar oksijene dönüşerek etkisini kaybeder, kalıntı bırakmamaktadır (Hill & Rice, 1982; Ozonecip, 2005; Pryor, 2001).

Ozon gazının etki noktası canlılarda hücre zarıdır. Yüksek oksidasyon yeteneği membranın lipid tabakasında oto-oksidasyona yol açarak onun normal selektif geçirgenlik yeteneğini ortadan kaldırmaktadır (Sandermann, 1996). Toprak kaynaklı veya hava yoluyla yayılan fungal patojenleri spesifik olmaksızın öldürmektedir (Yamamoto et al., 1990). Bakteriyel membranlar da ozon gazı tarafından ilk etkilenen organeldir, ayrıca enzimlerin yapısı bozulur ve nükleik asit metabolizması alt üst olur. Viruslarda ise ozon etkisiyle viral kapsid modifiye olur ve bazen protein parçalanabilmektedir (Anonymous, 1999).

Viral partiküllerin elimine edilmesinde, ozon konsantrasyonunun 20-25 ppm doza ulaşmasını takiben kısa süreli yüksek nem (> % 90 orantılı nem) uygulaması ile en yüksek anti-viral etkinin gerçekleştiği belirlenmiştir. Fungal etki için ise 20 dakika 35 ppm doz ve müteakiben yine yüksek nem önerilmektedir (Hudson et al., 2009). Diğer bir çalışmada, farklı yüzeylerdeki fungal ve bakteriyel yükün ozonun yüksek dozları ve poröz olmayan ortamlarda biosit etkinin yüksek nem ile arttığı bildirilmektedir (Menetrez et al., 2009).

Farklı amaçlarla bitkisel üretimde kullanılan bakım-işleme malzemesi ve ekipmanının hijyeni, özellikle hastalık etmenlerinin çevreye ve diğer bitkilere yayılmasını engellemek açısından önemlidir. Bu amaçla doğrudan bitkisel materyali sıcak su uygulamaları gibi fiziksel yollarla doğrudan dezenfekte etmek mümkündür (Akgül ve ark. 2016). Benzeri üretim ortamları olan tavuk kümesleri ve kuluçka odalarında gaz formunda ozon kullanımı ile bakteriyel gelişme önemli ölçüde engellenmiştir (Masanao, 2001). Yüzey dezenfeksiyonu amacıyla seçilmiş fungal ve bakteriyel kontaminantlara ozon uygulamasının ozon (2-150 mg) ve bu doza maruz kalma süresi ile doğrusal ilişkili olarak önemli derecelerde engellendiği saptanmıştır (Li and Wang, 2003).

İklimlendirme kontrolü olmayan depolama koşullarında 25-45 mg O₃/m³ dozlarında ozon ile günde 2 saat olmak üzere 16 gün süre muamele edilen domates meyvelerinin kalite kriterlerinde bozulma olmaksızın tazeliğini ve raf ömrünü koruduğu belirlenmiştir. Ayrıca suni olarak *Escherichia coli* inokule edilmiş domates meyvelerinin 15-30 dakika süre 0.5 ve 1.0 mg O₃/Litre dozunda ozonlu su ile yıkandığını ve 1 mg /Litre

dozunda ozon enjekte edilmiş suyun 15 dakika süre ile uygulanmasının bakteriyi başarılı bir şekilde dezenfekte ettiği belirlenmiştir (Venta et al., 2010). Ozonun gaz formunda soğukta depolanan taze hurma meyvelerinin yüzeyinde bulunan koliformların 5 ppm dozunda 60 dakika uygulanması ile tümüyle yok olduğu saptanmıştır (Habibi-Najafi and Haddad-Khodaparast, 2009).

Halk sağlığı açısından ölümcül öneme sahip birçok bakterinin plastik, pamuk, kumaş ve karton yüzeylerde ozon uygulamasına duyarlılık gösterdikleri belirlenmiştir (Sharma and Hudson, 2008). Ozon gıda endüstrisinde gıda maddelerinin yüzey dezenfeksiyonu ve sanitasyonu amacıyla birçok uygulamada kullanılmakta ve kullanılması önerilmektedir (Güzel-Seydim et al., 2004).

Tohum çimlendirme, fide aşılama odaları-kullanılan malzeme ve fide yetiştirme ortamı gibi iyi bir sanitasyona ihtiyaç duyan mekanların dezenfeksiyonu, buralarda üretilmiş bitkisel materyalin aktüel sağlığı ve gelecekteki performansı-sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma ile sanitasyon açısından kritik öneme sahip kapalı mekanları bulunan fidelik tesislerinde ozon gazının kullanıma olanakları araştırılmıştır. Ozon gaz formunda bir dezenfektan olduğu için hem hava yolu ile hareket halinde olan ve hem de yüzeylerde barınan mikrobiyel yük üzerine etkilidir. Bu özellikleri ile yüksek dezenfeksiyon yeteneğine sahip ozon gazının hangi doz ve sürelerde uygulanması gerektiği sorusuna cevap aranmıştır. Geleneksel fumigant uygulamalarında etkililik açısından dikkate alınan doz-uygulama süresi kombinasyonları da araştırılmıştır. Yüzeyleri temsilen fide tesislerinde sıklıkla kullanılan metal malzeme kullanılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Ozon altyapısı

Anseros Pap Mobil 2000 Ozone Water Skid kompakt sistemine monteli ozon jeneratörleri, ölçüm cihazları ile ozon üretimi ve ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Bitki yetiştirme ortamı olarak kullanılan kabinlere ozon gazı nakledilmesi ve ozon konsantrasyonunun uzaktan ölçümü ile ilgili bağlantılar için teflon borular kullanılmıştır.

Anseros PAP Mobil 2000 Ozone Water Skid alt yapısı ozon konsantrasyonunu otomatik olarak PID (periferel integral diferansiyel)-Regler ile stabil olarak kontrol altında tutulmuştur.

Cihazda üretilen ozon gazını materyal ve ortama uygulamak amacı ile gaz sızdırmazlık yalıtımına sahip 3.10x2.5x2m boyutlarında iki adet kabin kullanılmıştır.

Otomasyon sistemi ile regüle edilmiş olan hedef ozon dozu ölçüm cihazlarından seri bağlantı ile bilgisayar ortamına veri transferi yapan Anseros Amacs 4.0 (Software for data recording of ANSEROS Ozomat ozone analyzers Type MP, MP Hg or GM-Pro) paket programı ile kaydedilmiş, takip edilmiştir.

Fungal ve bakteriyel materyal

Araştırmanın yürütüldüğü kabinlerde mikrobiyel gelişimi teşvik ederek doğal mikroflora kullanılmıştır. Suni inokulasyon amacıyla bir adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* izolatu ile çalışılmıştır. Mikrobiyel materyali geliştirmek amacıyla PDA, King B ve SNA besiyerleri kullanılmıştır. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mikrokonidi inokulumu PD besiyerinde hazırlanmıştır. Sterilize edilmiş olan Papix çubukları ve steril Hartmann Hidrofilm yüzeylerden mikroorganizma örnekleri alınması amacıyla kullanılmıştır.

Yöntem

Ozon üretim, ölçüm/kontrol yöntemleri ve materyale uygulamalar

Gaz formunda ozon ise teflon borular aracılığı ile hedeflenen sızdırmaz kabin ve noktalara maksimum 100 litre/saat debide nakledilerek doğrudan materyale uygulanmıştır. Gazlanan ortamdan ölçüm cihazı tarafından akım debisine eşdeğer vakumla devamlı örneklenerek kesintisiz analiz edilmiş ve kaydedilmiştir.

Kabin içi atmosferine ozon gazı 100-150 mg O₃/N m³ dozları öngörülerek uygulanmış fakat mikrobiyel yük tümüyle yok olduğu için, doz geriye doğru revize edilerek 75 ve 85 mg O₃/N m³ ve 1 saat süre ile kabin atmosferine uygulanmıştır.

F. oxysporum f. sp. *lycopersici* ile suni olarak bulaştırılan metal yüzeylere kabin içinde 15 ve 30 dakika süre ile 100 mg O₃/N m³ dozunda ozon gaz formunda uygulanmıştır.

Mikrobiyel yükün oluşturulması ve dezenfeksiyon başarısının belirlenmesi

Araştırma kabinleri yüksek nem ve 20-25°C'de

seyreden sıcaklıkta tutularak yoğun mikroflora gelişimi desteklenmiştir. Kabinlerin muhtelif yerlerine ozon uygulaması öncesi mevcut atmosferik yükü belirlemek amacıyla 5'er adet PDA, King B ve SNA besiyeri içeren petri kabı yerleştirilmiş, sonra kapakları 10 dakika süre açık bırakılmıştır. Süre sonunda petri kapları kapatılarak kabinde alınmıştır. Aynı işlem ozon ile uygulama sonrası dezenfeksiyon başarısını belirlemek amacıyla tekrarlanmıştır.

Kabin içi yüzeylerin başlangıç yükünü belirlemek amacıyla daha önceden alüminyum folyo içinde sterilize edilmiş olan Papix çubuklarının pamuksu yüzeyi ile sürüntü alınarak ve yine 5'er adet petriden oluşan PDA, King B ve SNA besiyeri üzerine çizgi ekimi yapılmıştır. Bu işlem ozon verilmesini müteakiben dezenfeksiyon başarısını belirleyebilmek amacıyla yenilenmiştir.

Metal yüzeyler 10⁶ mikrokonidi/ml yoğunluğunda *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* süspansiyonu ile doğrudan, 1/10 ve 1/20 oranında steril saf suyla seyreltilip, püskürtülerek bulaştırılmıştır. Bulaşık metal yüzeylere 15 ve 30 dakika süre ile 100 mg O₃/N m³ dozunda ozon uygulaması yapılmıştır. Uygulama sonrası steril Hartmann Hidrofilm ile kontamine yüzeylerden aside PDA (fosforik asit ile pH sı 4.0'e ayarlanmış) üzerine kalıp (swap) alınarak patojenik fungal yük araştırılmıştır. Üç gün süre ile 25°C'de inkubasyona bırakılan besiyerlerinde birim alanda koloni sayılarak ozon dezenfeksiyon başarısı test edilmiştir.

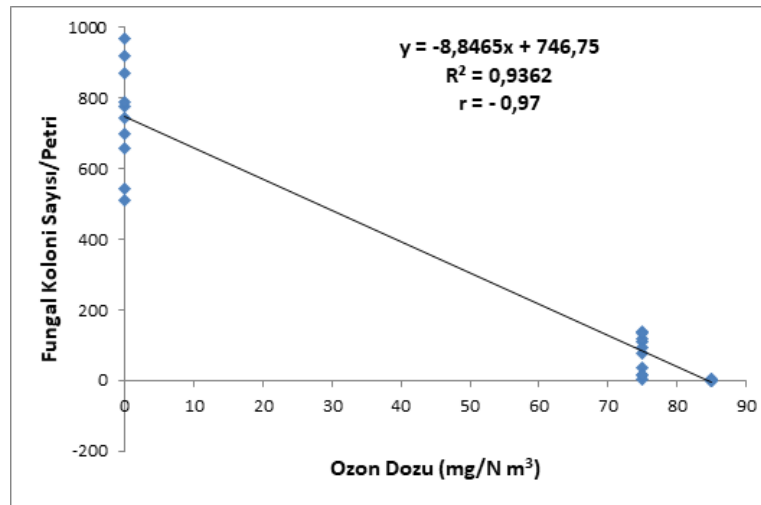
ARAŞTIRMA BULGULARI

Yoğun mikrobiyel yük oluşumu yönünde teşvik edilen kabine ozon gazının 100 ve 150 mg O₃/N m³ dozda 1 saat süre ile kabin atmosferine uygulanması sonucu özellikle

Çizelge 1. Gaz formunda ozon uygulamasının kabin atmosferindeki fungal yük üzerine etkisi

Table 1. Effect of ozone application in gas form on fungal load in cabin atmosphere

Uygulama	Koloni Sayısı Deneme I	Ortalama Koloni Sayısı	Koloni Sayısı Deneme II	Ortalama Koloni Sayısı	Genel Ortalama
Kontrol	776	864,6 a	545	631,0 a	747,8 a
	789		657		
	968		745		
	869		698		
	921		510		
75 mg O ₃ /N m ³	2	82,0 b	15	66,6 b	74,3 b
	17		37		
	117		77		
	139		110		
	135		94		
85 mg O ₃ /N m ³	5	3,4 b	0	2,0 b	2,7 b
	2		5		
	4		4		
	5		1		
	1		0		



Şekil 1. Ozonun gazının kabin içi fungal atmosferik yük üzerine etkisine yönelik korelasyon grafiği

Figure 1. Correlation graph for the effect of ozone gas on cabin fungal atmospheric load

hava yolu ile yayılan mikroorganizmal yük üzerindeki etkisi belirlenmiştir.

Uygulaması öncesi kabin mikrobiyel yükünün % 71.4 *Penicillium* spp., % 10 *Aspergillus* spp. ve % 4.2 *Alternaria* spp. kolonilerinden oluştuğu belirlenmiştir. Bakteriyel gelişim izlenmemiş, substrat SNA üzerinde ise yukarıda belirtilen oranlarda aynı fungus türlerinden gelişen koloni varlığı saptanmıştır. 100 ve 150 mg O₃/N m³ dozlarında ozon uygulaması ile kabin içi mikrobiyel yük % 100 başarı ile kontrol edilmiştir.

Elde edilen ilk veriler sonrasında yürütülen diğer

denemelerde mikrobiyel yükü tümünden engelleyen ozon dozunun alt dilimleri test edilmiştir.

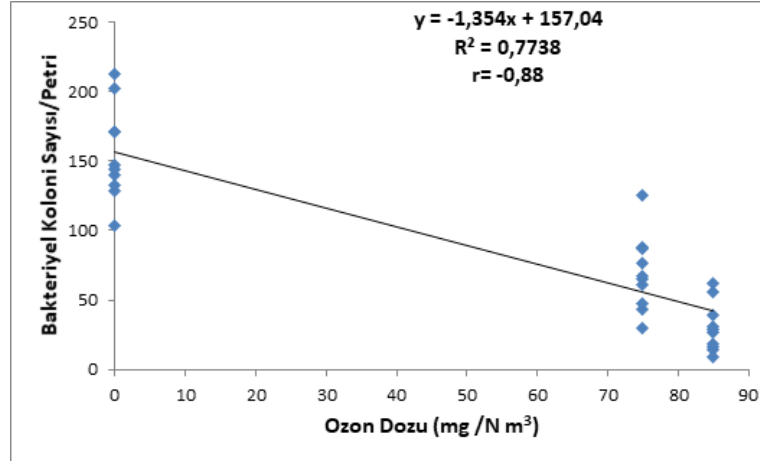
Bu amaçla 75 ve 85 mg O₃/N m³ dozları seçilerek 1 saat süre ile kabin ozon gazına maruz bırakılmıştır. Araştırma 2 kez tekrarlanarak dezenfeksiyon başarısı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 1-3'te verilmiştir.

Ozonun gaz formunda 75 ve 85 mg O₃/Nm³ dozunda kabinlere uygulanması kabin içi atmosferde mevcut, ağır fungal yük üzerine kontrole göre önemli seviyede etkili olduğu fakat dozlar arasında istatistiksel fark bulunmadığı belirlenmiştir (Çizelge 1). Her 2 denemede ve 2

Çizelge 2. Gaz formunda ozon uygulamasının kabin atmosferindeki bakteriyel yük üzerine etkisi

Table 2. Effect of ozone application in the gas form on the bacterial load in the cabin atmosphere

Uygulama	Bakteriyel Koloni Sayısı					
	King B			SNA		
	Deneme 1	Deneme 2	Ortalama	Deneme 1	Deneme 2	Ortalama
Kontrol	164	120	154,7 a	178	137	156,2 a
	216	111		210	154	
	144	132		199	163	
	205	145		200	144	
	209	101		70	107	
75 mg O ₃ /N m ³	82	77	85,4 b	72	54	52,7 b
	181	45		70	42	
	56	34		66	26	
	114	56		61	38	
	108	101		65	33	
85 mg O ₃ /N m ³	33	18	28,2 c	20	14	31,8 b
	57	22		21	7	
	18	36		39	26	
	33	14		79	22	
	42	9		82	8	



Şekil 2. Ozonun gazının kabin içi bakteriyel atmosferik yük üzerine etkisine yönelik korelasyon grafiği

Figure 2. Correlation graph for the effect of ozone gas on cabin bacterial atmospheric load

denemenin ortalama değerleri aynı paralelde istatistiki sonuçlara işaret etmektedir. Uygulama öncesi ortamda bulunan yoğun yük ve buna bağlı besiyerinde yoğun koloni gelişimi nedeniyle ortamda bulunan türlerin sayısal dağılımı ve tanınması gerçekleştirilememiştir. Artan ozon dozu ile atmosferik fungal yük arasında kuvvetli negatif ilişki bulunduğu hesaplanmıştır (Şekil 1).

Ozonun gaz formunda kabin içi atmosferde hava akımı yolu ile hareket eden bakteriyel kökenli mikroorganizmaların kontrolünde başarılı olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerin hava yolu ile çevreye yayılmasına sıklıkla karşılaşılmamasına rağmen yüksek nemden kaynaklanan mikrobiyolojik baskı sonucu uygulama öncesi birim hacimde önemli miktarda yük olduğu

saptanmıştır. Uygulamaların bakteriyel yük açısından değerlendirilmesi amacıyla kullanılan King B besiyerinde gelişen koloni sayısı kontrole ve ozon dozlarına bağlı istatistiki olarak önemli bulunmuştur. SNA besiyerinde ise bakteriyel gelişim kontrole göre istatistiki öneme sahip bulunurken ozon dozları arasında fark kaydedilmemiştir (Çizelge 2). Bakterilerin tür tanımı yapılmamıştır.

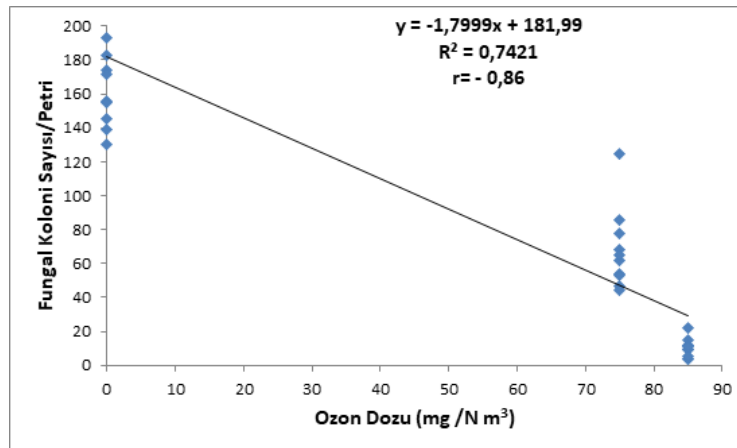
Ozon dozu ile atmosferik bakteriyel yükün kontrolü arasında kuvvetli doğrusal negatif ilişki ($r = -0,88$) belirlenmiştir. Artan ozon dozu ile bakteriyel yük kontrol edilmiş ve korelasyon denklemi hesaplanmıştır (Şekil 2).

Kapalı ortamlarda atmosferik yük yanında özellikle üretim amacıyla kullanılan diğer malzemelerin de dezenfeksiyon ihtiyacına binaen seçilen metal yüzeylerde

Çizelge 3. Gaz formunda ozon uygulamasının kabin içi metal yüzeylerdeki fungal yük üzerine etkisi

Table 3. Effect of ozone application in gas form at fungal load on metal surfaces in cabinet

Uygulama	Koloni Sayısı Deneme I	Ortalama Koloni Sayısı	Koloni Sayısı Deneme II	Ortalama Koloni Sayısı	Genel Ortalama
Kontrol	174	202,0 a	145	157,0 a	179,5 a
	139		172		
	156		130		
	348		183		
	193		155		
75 mg O ₃ /N m ³	62	79,0 b	47	57,4 b	68,2 b
	86		53		
	68		65		
	125		78		
	54		44		
85 mg O ₃ /N m ³	22	12,4 b	12	8,2 c	10,3 c
	15		9		
	9		4		
	12		5		
	4		11		



Şekil 3. Ozonun gazının kabin içi metal yüzeylerdeki fungal yük üzerine etkisine yönelik korelasyon grafiği

Figure 3. Correlation graph for the effect of ozone gas on the fungal load on the metal surfaces inside the cabin

barınan fungal ve bakteriyel propagüllerin kontrolüne yönelik ozon gazı uygulamaları yürütülmüştür. Kabin içi kalıcı materyali temsilen metal yüzeyler seçilmiştir. İki defa tekrarlanarak yürütülen deneme sonuçlarında metal yüzeylerden alınan kalıp (swap) ile elde edilen fungal koloni sayıları Çizelge 3'te verilmiştir.

Atmosferik yüke göre daha düşük sayıda mikroorganizma belirlenirken, metal yüzeylerde barınan fungal yük kontrole göre ozon uygulaması ile istatistiki öneme sahip olarak farklı bulunmuştur. Birinci denemede dozlar arasında fark belirlenemezken, ikinci denemede ve her iki denemenin ortalamasında dozlar arasında önemli fark belirlenmiştir. Artan ozon dozu ile

metal yüzeylerde barınan fungal yük arasında kuvvetli doğrusal negatif ilişki ($r = -0.86$) belirlenmiştir (Şekil 3).

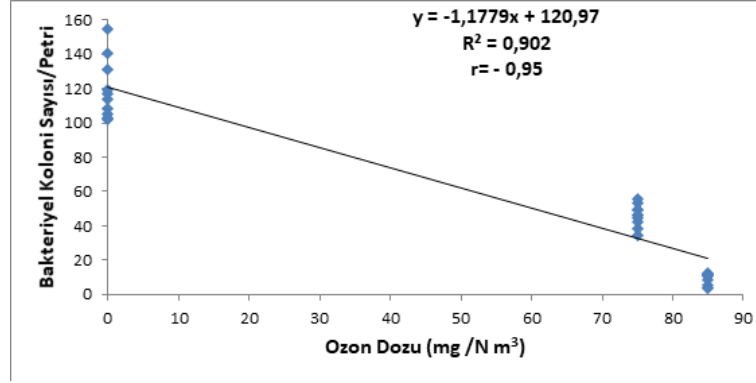
Metal yüzeylerde barınan bakteriyel yük ozon uygulamaları ile başarı ile kontrol altına alınmıştır. Ozon uygulamaları ile bakteriyel yük kontrole göre ve dozlar arasında istatistiki öneme sahip fark belirlenmiştir (Çizelge 4). Farklı besiyerleri kullanılarak yürütülen denemeler sonucunda aynı yönde sonuç elde edilmiştir. Ozon dozu ile bakteriyel yük arasında kuvvetli doğrusal negatif ilişki ($r = -0.95$) saptanmıştır (Şekil 4).

Ozonun gaz formunda uygulanması ile bitki patojeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mikrokonidi süspansiyonu ile seyreltmeksizin doğrudan, 1/10 ve

Çizelge 4. Gaz formunda ozon uygulamasının kabin içi metal yüzeylerdeki bakteriyel yük üzerine etkisi

Table 4. Effect of ozone application in gas form on bacterial load on metal surfaces in cabinet

Uygulama	Bakteriyel Koloni Sayısı					
	King B			SNA		
	Deneme 1	Deneme 2	Ortalama	Deneme 1	Deneme 2	Ortalama
Kontrol	94	136	127,5 a	110	126	111,3 a
	120	186		97	124	
	98	128		112	106	
	120	95		107	110	
	158	140		123	98	
75 mg O ₃ /N m ³	45	40	43,1 b	62	44	48,9 b
	36	52		54	47	
	61	48		32	63	
	54	36		44	57	
	29	30		47	39	
85 mg O ₃ /N m ³	11	10	8,7 c	13	15	9,4 c
	9	8		8	16	
	13	15		10	7	
	1	13		9	9	
	0	7		7	0	



Şekil 4. Ozonun gazının kabin içi metal yüzeylerdeki bakteriyel yük üzerine etkisine yönelik korelasyon grafiği

Figure 4. Correlation graph for the effect of ozone gas on the bacterial load on metal surfaces inside the cabinet

1/20 oranında steril saf su ile seyreltilerek suni olarak bulaştırılmış metal yüzeylere kabin içinde 15 ve 30 dakika süre ile 100 mg O₃/Nm³ dozunda ozon gazı formunda uygulanması ile ozon dezenfeksiyon başarıları test edilmiştir.

Yoğun propagül varlığında 30 dakikalık ozon uygulaması tüm patojenik yükü yok ettiği saptanmıştır. Onbeş dakikalık uygulama kontrole göre başarı göstermesine rağmen bir miktar fungal propagülün halen canlılığını sürdürdüğü anlaşılmıştır. Daha düşük inokulum yoğunluklarında da paralel sonuçlar izlenmiştir (Çizelge 5). İnokulum yoğunluğu arttıkça ozon uygulamasının başarısını sağlamaya yönelik dozun veya uygulama süresinin uzatılması ile olumlu sonuçlara ulaşılabacağı görülmüştür.

TARTIŞMA

Uygulama öncesi yüksek nem koşullarında atmosferik mikroflorayı oluşturan türlerin oransal dağılımı % 71.4 *Penicillium* spp., % 10 *Aspergillus* spp. ve % 4.2 *Alternaria* spp. olarak belirlenmiştir. Söz konusu tür dağılımı kapalı ortamlarda hava kalitesini belirlemeye yönelik kısa mesafede hava yoluyla yayılan mikroorganizmalara yönelik benzer çalışmalarla (Adams et al., 2013) paralel bir kompozisyon oluşmuştur.

Ozonun gaz formunda 100 ve 150 mg O₃/N m³ dozlarının 1 saat süre ile yoğun mikrobiyel yük oluşumu yönünde teşvik edilen kabin atmosferine uygulanması sonucu % 100 başarı kaydedilmiştir.

Çizelge 5. Kabin içi yüzeylere suni olarak bulaştırılmış *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mikrokonidileri üzerine gaz formunda ozon uygulamasının etkisi

Table 5. Effect of ozone application in gas form on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* microconidia that artificially inoculated at surfaces in the cabinet

Seyreltme Emsali	Uygulama/Gelişen Koloni Sayısı (Koloni/cm ²)						
	Kontrol	15 dk.		30 dk.			
Seyreltme (-) 10 ⁶ Mikrokonidi/ml	1	42	48	58	24	0	0
	2	43	52	38	27	0	0
	3	45	44	23	35	0	0
	Ortalama	43,33 a	48,00 a	39,67 a	28,67 b	0 b	0 c
	Genel Ortalama	45,67 a		34,17 b		0,00 c	
1/10	1	32	29	10	8	0	0
	2	29	26	0	12	0	0
	3	39	32	4	0	0	0
	Ortalama	33,33 a	29,00 a	4,67 b	6,67 b	0 b	0 b
	Genel Ortalama	31,17 a		5,67 b		0,00 c	
1/20	1	8	14	1	3	0	0
	2	15	9	14	9	0	0
	3	12	11	0	0	0	0
	Ortalama	11,67 a	11,30 a	5 ab	4,00 b	0 b	0 b
	Genel Ortalama	11,50 a		4,50 b		0,00 b	

Daha sonraki çalışmalarda daha düşük 75 ve 85 mg O₃/Nm³ gaz formunda ozon dozlarının 1 saat süre ile uygulanması sonucu kabin içi atmosferinde hava yolu ile hareket eden ve yüzeylerde bulunan fungal ve bakteriyel mikroorganizmalar üzerinde kontrole göre önemli etkiye sahip bulunduğu saptanmıştır. Atmosferik fungal yük üzerine ozon uygulama dozları arasında etkililik açısından önemli bir fark bulunmadığı belirlenmiştir. Artan ozon dozları ile fungal yük arasında kuvvetli negatif ilişki belirlenmiştir. Kabin içinde hava sirkülasyonu aracılığı ile çevreye yayılan bakteriyel mikroorganizmaların da ozon uygulamasından etkilendiği, kontrole göre uygulamalar ve uygulama dozları arasında fark belirlenmiştir. Genellikle su ve diğer araçlar ile çevreye yayılan bakteriyel mikroorganizmaların hava sirkülasyonları yolu ile de çevreye yayıldığı belirlenmiştir (Smith et al., 2013). Benzer durumun kabinlerde yüksek nem içeriği sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir. Gaz formunda ozon uygulamasının özellikle hava yolu hareket eden fungusları bakterilere göre daha iyi kontrol ettiği ve 85-100 mg O₃/Nm³ doz aralığında bir saat süre ile yüksek mikrobiyolojik aktiviteye sahip kapalı ortamlarda hava yolu ile yayılan mikroorganizmaların kontrolünde güvenle kullanılabilceği kanaatine varılmıştır. Bu araştırmalarda uygulanan ozon dozu ve süreleri ile elde edilen antimikrobiyel etki daha önceki çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir. Benzeri üretim ortamları olan tavuk kümesleri ve kuluçka odalarında gaz formunda ozon kullanımı ile bakteriyel gelişme önemli ölçüde engellenmiştir (Masanao, 2001).

Kabin içi metal yüzeylerde mevcut fungal yük gaz formunda ozon uygulaması ile kontrole göre istatistikî öneme sahip olarak azalmıştır. İki kez tekrarlanan deneme birlikte değerlendirildiğinde dozlar arasında da fark ortaya çıkmıştır. Metal yüzeylerde barınan bakteriyel yükte ozon uygulaması ile kontrole göre ozon uygulamaları ve ozon dozları arasında önemli fark belirlenmiştir. Fungal ve bakteriyel kontaminantlara yönelik ozon uygulaması ozon dozu (2-150 mg) ve ozona maruz kalma süresi ile doğrusal ilişkili olarak bulunmuştur (Li and Wang, 2003). Viral partiküllerin elimine edilmesinde ise 20-25 ppm ozon uygulaması ve kısa süreli yüksek nem (> % 90 orantılı nem) uygulaması ile en başarılı sonuç elde edilmiştir. Fungal gelişim üzerine baskılayıcı etki elde etmeye yönelik 20 dakika 35 ppm ozon ve yine

yüksek nem koşulları önerilmektedir (Hudson et al., 2009). Diğer bir çalışmada, farklı yüzeylerdeki fungal ve bakteriyel yükün ozonun yüksek dozları ve poröz olmayan ortamlarda biosit etkinin yüksek nem ile arttığı bildirilmektedir (Menetrez et al., 2009).

Ozonun gaz formunda uygulanması ile bitki patojeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* propagüllerinin çimlendirme kabini veya bitki yetiştirme sehpa yüzeylerini temsilen, materyal üzerindeki bekası üzerine ozonun gaz formunda uygulanması ile ozon dezenfeksiyon başarıları test edilmiştir.

Otuz dakika süre ile 100 mg O₃/Nm³ dozunda gaz ozon uygulaması sonucu yoğun inokulum potansiyeline sahip *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* konidileri tümüyle eradike olmuştur. Popülasyon yoğunluğunun azaldığı durumlarda kısa süreli ozon uygulaması da başarılı olmasına rağmen mutlak başarı 30 dakikalık uygulama ile elde edilmiştir.

Ozona benzer fümigant etkisi bulunan diğer uygulamalarda da olduğu gibi doz ve uygulama süresi kombinasyonu başarı açısından önem taşımaktadır. Koşullara bağlı olarak yükselen doz kısalan uygulama süresi gibi düzenleme yapılması mümkündür. Yürüttüğümüz bu çalışmada geniş hacme sahip kabinlerde, hedeflenen doza uzayan ulaşma süresi dikkate alınarak alt dozlar daha uzun süreli uygulanmıştır. Daha küçük hacme sahip alanlarda daha yüksek doz daha kısa süreli uygulanabilir. Diğer dikkat edilmesi gereken husus ise ozon gazına maruz kalacak materyalin ozon gazının korozif etkisine dayanıklı olmasıdır.

SONUÇ

İşbu çalışma sonucunda elde edilen veriler ışığında ozonun gaz formunda kapalı, iç mekanlarda dezenfektan olarak güvenle kullanılmasının mümkün olduğu,

Ozonun 100 mg O₃/Nm³ dozunun 1 saatlik uygulama ile tam steril bir atmosfer oluşturduğu ve ortamda bulunan diğer malzemenin temizliği açısından bu kombinasyonun uygulanabilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Uygulama yapılan ortamın hacmine ve kullanılan ozon jeneratörün üretim kapasitesine bağlı olarak daha yüksek ozon konsantrasyonunu daha kısa sürelerde de uygulayarak aynı etkiyi elde etmek mümkün olacaktır.

KAYNAKÇA/REFERENCES

- Adams, R.I., M. Miletto, J.W. Taylor, & Bruns, T.D. (2013). Dispersal in microbes: Fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. *The ISME (International Society for Microbial Ecology) Journal*, 7, 1262–1273.
- Akgül D.S., Savaş Y., Savaş, N.G. & Yağcı, A. (2016). Kontrollü koşullarda sıcak su uygulamalarının botryosphaeriaceae funguslarının büyümesine, asma kalem ve çeliklerinde göz canlılığına etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53(1), 99-107.
- Anonymous. (1999). EPA (United States Environmental Protection Agency), *Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual*. Office of Water. EPA 815-R-99-014, 1999. http://www.epa.gov/safewater/mbdp/alternative_disinfectants_guidance.pdf. Erişim: Ekim 2017.
- Balkaya, A, D. Kandemir & Sarıbaş Ş. (2015). Türkiye sebze fidesi üretimindeki son gelişmeler. *TÜRKTÖB Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 4(13), 4-8.
- Güzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. & Seydim, A.C. (2004). Use of ozone in the food industry. Swiss Society of Food Science and Technology. Published by Elsevier Ltd. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 37, 453–460.
- Habibi-Najafi, M.B. & Haddad-Khodaparast, M.H. (2009). Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. Elsevier Ltd. *Food Control*, 20, 27–30.
- Hill, A.G. & Rice R.G. (1982). *Handbook of ozone technology and applications*. Volume 1. Ann Arbor Science, Ann Arbor MI. p 1-37, 4 fig, 4 tab, 141 ref.
- Hudson, J.B., M. Sharma & Vimalanathan S. (2009). Development of a Practical Method for Using Ozone Gas as a Virus Decontaminating Agent. *Ozone: Science & Engineering*, 31, 216–223.
- Li, C.S. & Wang Y.C. (2003). Surface Germicidal Effects of Ozone for Microorganisms. *AIHA Journal*, 64(4), 533-537.
- Masanao, Y. (2001). Technological examination on the sanitation of chicken ranch and a case of HACCP system introduction (5). *Animal Husbandry*, ISSN:0009-3874, 55(2), 270-272.
- Menetrez M.Y., K.K. Foarde, T.D. Schwartz, T.R. Dean & D.A. Betancourt. (2009). An evaluation of the antimicrobial effects of gas-phase ozone. *Ozone: Science & Engineering*, 31: 316–325.
- Ozonecip. (2005). Study of the ozone technology, Public Report, The OZONECIP Project is co-funded by the European Union's Life Environment Programme, 18 p.
- Pryor, A. (2001). Field trials for the combined use of ozone gas and beneficial microorganisms as a preplant soil treatment for tomatoes and strawberries. *Pest Management Grants Final Report*. Contract No. 99-0220 California Dept. Pesticide Regulation. 18 pp.
- Sandermann, H. (1996). Ozone and plant health. *Annual Review of Phytopathology*. 34, 347-366.
- Sharma, M. & J. Hudson. (2008). Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. *American Journal of Infection Control*. 36, 559-563. DOI: doi.org/10.1016/j.ajic.2007.10.021
- Smith, D.J., Timonen H.J., Jaffe, D.A., Griffin D.W., Michele B.N., Perry K.D., Ward P.D., & Roberts M.S. (2013). Intercontinental dispersal of bacteria and archaea by transpacific winds. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(4), 1134-1139.
- Venta, M.B., Cruz Broche S.S., Torres, I.F., Perez M.G., Lorenzo E.V., Rodriguez, Y.R. & Cepero, S.M. (2010). Ozone application for postharvest disinfection of tomatoes. *Ozone: Science & Engineering*. ISSN: 0191-9512 print / 1547-6545 online, DOI: 10.1080/01919512.2010.508100, 32: 361–371.
- Yamamoto, H., T. Terada, Naganawa, T. & Tatsuyama, K. (1990). Disinfectious effect ozonation on water infested with several root-infecting pathogens. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.* 56, 250-251.

