

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DERİ ÜRETİMİNDE YAŞ İŞLEM BASAMAKLARINDAN İZOLE EDİLEN
BAZI MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ÇEŞİTLİ BİYOSİDLERİN
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Songül GÜMÜŞBOĞA

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 25/07/2011

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Binnur MERİÇLİ YAPICI

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

SONGÜL GÜMÜŞBOĞA , tarafından Doç. Dr. Binnur MERİÇLİ YAPICI yönetiminde hazırlanan “DERİ ÜRETİMİNDE YAŞ İŞLEM BASAMAKLARINDAN İZOLE EDİLEN BAZI MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ÇEŞİTLİ BİYOSİDLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Binnur MERİÇLİ YAPICI

Danışman

Doç. Dr. İhsan YAŞA

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 25/07/2011

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Songül GÜMÜŞBOĞA

TEŞEKKÜR

Bu tezi hazırlamamda bana yön gösteren ve her yönden destek olan birinci danışmanım Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Binnur MERİÇLİ YAPICI' ya ve ikinci danışmanım Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biga Meslek Yüksekokulu Dericilik Programı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. A. Nail YAPICI'ya, bana çalışmamda yardımcı olan doktora arkadaşlarım Derya DOĞANAY ve Turgut BİLGİ'ye ve çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan annem Zülfiye Gümüşboğa' ya ve değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Songül GÜMÜŞBOĞA

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
mL	Mililitre
NaCl	Sodyum klorür
kob/mL	Mililitre başına koloni miktarı
spor/ mL	Mililitre başına spor miktarı
CJD	<i>Creutzfeldt-Jakob</i> hastalığı
BSE	Bovine spongiform ensefalopati
MAI	<i>Mycobacterium avium-intracellulare</i>
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HBV	Hepatit B Virüsü
QACs	Quarternar Amonyum Bileşikleri
PNP	Para- Nitro Fenol

ÖZET

DERİ ÜRETİMİNDE YAŞ İŞLEM BASAMAKLARINDAN İZOLE EDİLEN BAZI MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ÇEŞİTLİ BİYOSİDLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Songül GÜMÜŞBOĞA

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Binnur MERİÇLİ YAPICI

25/07/2011, 47

Bu araştırmada, deri endüstrisinde ticari olarak kullanılan 7 farklı biyosidin deri yaş işlem basamaklarından izole edilen mikroorganizmalara karşı etkinliklerinin ve minimum kullanım konsantrasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan biyosidlerin mikroorganizmalar üzerine 3 farklı konsantrasyonu (% 0,001 %0,01 ve %0,1v/v) *in- vitro* koşullarda çalışılmıştır. Araştırmada kullanılan biyosidlerin etkin maddeleri sırasıyla kuarternize edilmiş birleşikler (BI), Thiocyanic asit esaslı (BII), Benzotiazol türevleri (BIII), TCMTB esaslı (BIV) , prospektüs içeriği belli olmayan (BV), Octylisothiazolone esaslı (BVI) , Ditiyokarbomad sodyum tuzunun sulu çözeltisi (BVII) dir.

Sonuç olarak kullanılan biyosidlerin tamamının funguslardan daha çok bakteri izolatlarına etkili olduğu belirlenmiştir.

Yine tüm biyosidlerin %0,1 konsantrasyonda bakterilerin % 98' ini ve fungus izolatlarının da % 85' inin gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca BI, BII, BIII ve BIV'ün %0, %5, ve % 10 NaCl oranlarında iki izolat hariç (49 ve 56) % 0,01 konsantrasyonda tüm bakteri izolatlarının gelişimini engellediği belirlenmiştir. BII, BIII ve BIV biyosidlerinin ise yine % 0,01 konsantrasyonda bakterilere ilave olarak fungus izolatlarının % 83' ünü kontrol ettiği ortaya konulmuştur.

Anahtar Sözcükler: Biyosid, deri yaş işlem basamakları, bakterisidal etki, fungisidal etki.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTIVENESS OF VARIOUS BIOCIDES OVER SOME MICROORGANISMS ISOLATED FROM WET TREATMENT PROCESSES OF LEATHER PRODUCTION

Songül GÜMÜŞBOĞA

Canakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Biology Thesis of Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Binnur MERİÇLİ YAPICI

25/07/2011, 47

In this research, we aimed to the determination of minimum usage concentrations and efficiencies of 7 different biocides commercially used in leather industry, against microorganisms isolated from leather wet treatment processes. Three different concentrations (% 0,001, %0,01 and %0,1 v/v) of biocides used in research, studied *in-vitro* conditions. Active substances of biocides used in research are BI (composed from quarternerized compounds), BII (Thiocyanic acide based), BIII (composed from Benzotiazol derivatives), BIV (TCMTB based), BV (In prospectus, active substance is not clear), BVII (aqueous solutions of dithiocarbomad sodium) respectively.

As a result, it was determined that all biocides were more effective on bacteria isolates than fungus isolates.

It was determined that, all biocides prevented growth of % 85 of fungi isolates and % 98 of bacteria isolates in concentration of % 0,1. Besides, BI, BII, BIII and BIV prevented entire growth of bacteria isolates except two isolates (49 and 56) in all salt contents when they have concentration of % 0,01. It is proven that, BII, BIII and BIV biocides controlled bacteria with % 83 of fungi isolates in concentrations of % 0,001.

Key Words : Biocide, wet leather processing, bactericidal effect, fungicidal effect.

İÇERİK	Sayfa
TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
BÖLÜM 1- GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. Biyosidler ve Etki Mekanizması.....	3
2.2. Deri Endüstrisinde Kullanılan Biyosidler.....	10
BÖLÜM 3- MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Deri Örneği.....	18
3.1.2. Biyosidler.....	18
3.1.3. Besiyerleri.....	18
3.1.4. Çözeltiler.....	21
3.2. Yöntem.....	21
BÖLÜM 4- ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	28
4.1. Araştırma Bulguları.....	28
4.1.1. Bakterisidal Etkinlik.....	28
4.1.2. Fungisidal Etkinlik.....	29
4.2. Tartışma.....	37
BÖLÜM 5- SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR.....	44
Çizelgeler.....	I
Şekiller.....	II
Özgeçmiş.....	III

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Birçok endüstriyel ürünün üretiminde olduğu gibi deri endüstrisinde de mikroorganizmalar ürünün zarar görmesine, kalite düşüklüğüne ve dolayısıyla ekonomik kayıplara yol açmaktadırlar. Biyolojik bozulma derinin ve onlardan elde edilen ürünlerin estetik, fonksiyonel ve diğer özelliklerini azaltan önemli bir faktördür. Bu bozulma özellikle bakterilerin ve fungusların gelişimine olanak sağlayan yüksek bağıl nemli koşullar altında meydana gelmektedir (Orlita, 2004). Çeşitli çalışmalarda bakteri ve fungusların proteolitik ve lipolitik enzimlerinin deriyi bozup parçalayabildikleri vurgulanmıştır. Kaliteli bir deri eldesi için işleme sürecinde deriyi mikroorganizma saldırılarından korumak oldukça önemlidir. Bu nedenle deri endüstrisinde bakterisid ve fungusidler bakteriyel ve fungal saldırılardan korunmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu antimikrobiyal maddeler derinin konservasyonunda, ıslatma-yumuşatma, pikle, tabaklama, boyama ve finisajda uygulanmaktadır. Ancak mikroorganizmalar bakımından en çok dikkat edilmesi gereken işlem basamakları ıslatma-yumuşatma ve tabaklamadır (Anonim, 2000).

Günümüzde ıslatma-yumuşatma basamağında yaygın olarak organo-sülfür, kuarternar amonyum, organo-brom ve organik S-CN (thiocyanate) esaslı ticari bakterisidler kullanılmaktadır (Anonim, 2008). Bununla birlikte didecyldimethylammonium chloride, sodyum dimethyldithiocarbamate, N-hydroxymethyl-N-methyldithiocarbamate ve tetrahydro-3,5-dimethyl-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione deri endüstrisinde kullanılan diğer bazı antimikrobiyal maddelerdir. Bu bakterisidler arasında hızlı etki gösteren kuarternar amonyum tuzu olan didecyldimethylammonium chloride bileşiği, düşük bir toksisiteye sahip olduğundan ve biyolojik olarak ayrıştırılabildiğinden dolayı deri endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Anonim, 2004). Ayrıca tabaklama sonrası yaş işlemlerde de yaklaşık olarak 20 yıldır fenolik esaslı ve heterosiklik bileşikler en sık kullanılan antifungal maddeler arasındadır (Bilgi ve ark., 2009).

Deri endüstrisinde özellikle bazı bakterisid ve fungusidler uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Bilindiği gibi mikroorganizmalar ya kendiliğinden ya da zaman içerisinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirebilmektedir. Deri endüstrisinde probleme neden olan ve işlem sıvılarında bulunan mikroorganizmalar da kullanılan biyosidlere direnç geliştirmiş olabilirler.

Bir grup bilim adamı endüstrinin çeşitli alanlarında kullanılan biyosidlere mikroorganizmaların direnç geliştirebileceğini ifade etmişlerdir (Gilbert ve McBain, 2003). Ayrıca bazı mikroorganizmaların metabolik karakteristiklerinden dolayı bazı antimikrobiyal maddelere karşı direnç gösterdikleri de bir başka çalışmada belirtilmiştir (Braoudaki ve Hilton, 2003).

Bu tezde tabaklama öncesi ve sonrası yaş işlem basamaklarından izole edilen mikroorganizmaların deri endüstrisinde uzun zamandır kullanılan 7 farklı ticari biyoside dirençli olup olmadıkları *in-vitro* koşullarda tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda bu konu ile ilgili herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu çalışma özgün olup bundan sonra yapılacak araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Biyosidler ve Etki Mekanizması

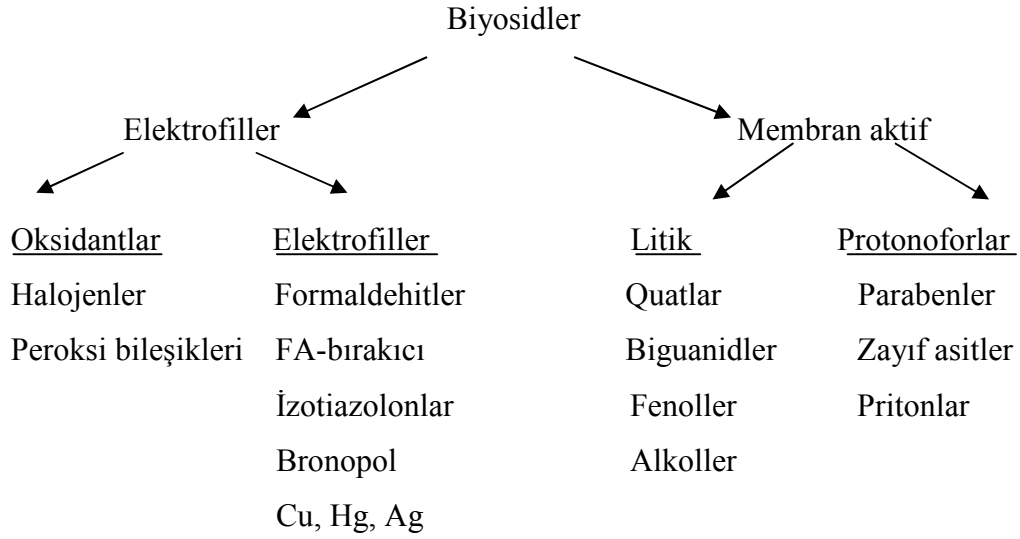
Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaları öldüren veya üremelerini engelleyen doğal veya sentetik kimyasallardır. Bir antimikrobiyal madde çeşidi olan dezenfektan, cansız ortamlarda mikroorganizmaları öldürmek ve gelişimlerini engellemek için kullanılan ancak endosporları yok etmeyen maddeler olarak tanımlanır (Çökmüş, 2010). Antibakteriyal özellikler ilk olarak Jacobs ve Heidelberger (1915) tarafından rapor edilmiştir (Massi ve ark., 2003).

Günümüzde biyosidler, antiseptik, dezenfektan ve koruyucu bileşikler olarak tanımlanır (Russell, 2002). Biyosidler ilk olarak 1952 yılında tanımlanmıştır (Chaplin, 1952).

Bir grup kimyasal ajanı kapsayan antiseptikler ve dezenfektanlar sıklıkla farklı mikroorganizmalar (bakteriler, küfler, mayalar) üzerinde, farklı etki gösterirler (Russell, 1998).

Biyosidler, sahip oldukları formülasyonlardaki bileşikler arasındaki sinerji ve kullanıldığı konsantrasyona bağlı olarak mikroorganizma tipleri üzerinde farklı etki oluştururlar (White ve McDermott, 2001).

Dolayısıyla biyosidlerin etki mekanizması bu anlamda dört geniş kategori'ye ayrılmıştır (Chapman, 2003) (Şekil 1).



Şekil 1. Biyosidlerin Etki Mekanizması.

Oksidantlar; klor ve peroksitlerde olduğu gibi hızlı öldürücü ajanları içerir, bununla birlikte oksitlenen organik materyallerin kararlı reaksiyonlarında radikaller aracılığı ile doğrudan çalışırlar.

Elektrofilik ajanlar; gümüş, bakır, cıva gibi inorganik anyon örneklerini ve formaldehit, izotiazolonlar gibi organik biyosid örneklerini içerir. Bu biyosidler enzimleri inaktive etmek için hücresel nükleofiller ile kovalent tepki gösterirler. Ayrıca bu biyosidlerin öldürücü faaliyetlerde hücre içi serbest radikallerin oluşumunu başlattığına dair kanıtlarda bulunmaktadır.

Quaternary amonyum bileşikleri ve klorheksidin gibi katyonik membran aktif biyosidler ve fenoksietanol gibi alkoller hızlı hücre lizizinden membranın dengesini bozarak ayrılırlar. Zayıf asitlerden sorbik ve benzoik asit hücre zarının düzgün devam eden pH dengesini bozar ve bunun sonucu olarak hücrenin asidifikasyonuna, doğal olarak da hücre metabolizmasının bozulmasına sebep olur.

Bunun yanında pyrithione da zayıf protonofor olarak sınıflandırılır.

Antimikrobiyal maddeler; genetik materyal, enzimler ile birlikte, solunum fonksiyonuna sahip stoplazmik membran olmak üzere hücrenin çeşitli kısımlarını hedef alırlar (Cloete, 2003).

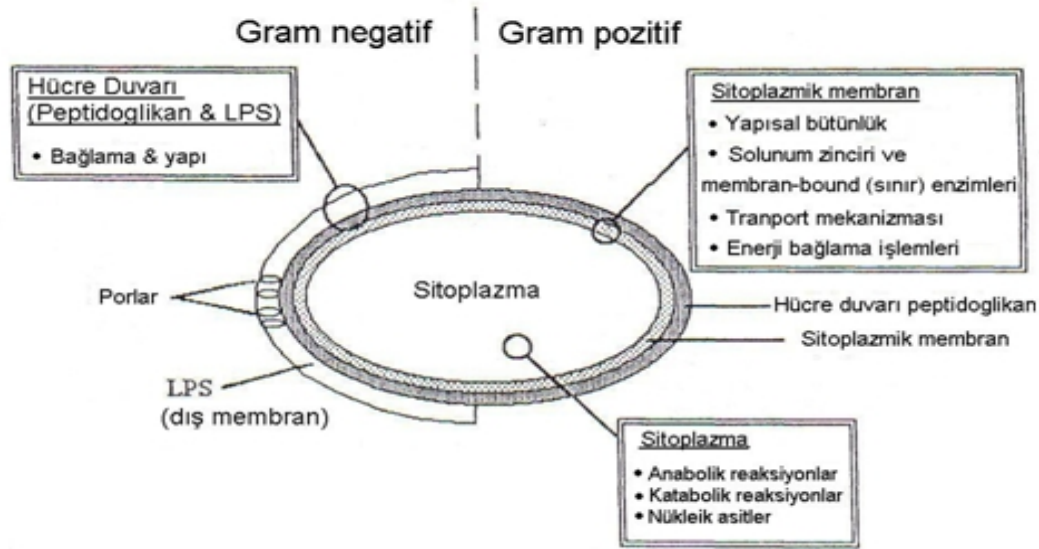
Biyosidler, hücre içindeki bir ya da birkaç bölgede etkilidirler (Gilbert ve McBain, 2003).

Bir grup kimyasal ajanı kapsayan antiseptikler ve dezenfektanlar farklı mikroorganizmalar (bakteri, maya, küf, protozon, alg) ve prion, virüsler gibi farklı mikrobiyal varlıklar üzerinde farklı etkilere sahiptirler (Russell, 1998).

Gram pozitif sporsuz bakterilerin (mikobakteriler hakkındaki bilginin kesin olmamasıyla birlikte), bakteriyal sporların (çimlenme evresi ve büyüme dışındaki bir aşamayla birlikte) ve Gram- negatif bakterilerin inaktivasyon ve inhibisyon mekanizmaları hakkındaki yayınlar araştırıldığında geniş çeşitlilik gözlemlenir. Buna rağmen, fungal inaktivasyon mekanizmaları hakkında ise daha az literatür bilgisi mevcuttur (Russell, 2002).

Bakteriler belirli kimyasalların varlığında yaşayamazlar. Bakteriler için 2 grup kimyasal uygulama vardır, bakteriler hangi aşamada olursa olsun organizmaların gelişimini sınırlandıran bakteriyostatik maddeler ve doğrudan bakterileri öldüren bakterisidlerdir (Muthusubramanian ve Mitra, 2005b).

Vejetatif bir bakteriyal hücrede belli başlı üç bölgede biyosid etkileşimi meydana gelir. Bunlar hücre duvarı, sitoplazmik zar ve sitoplazmadır (Şekil 2). Bu bölgelere biyosid girişi extraselüler materyal, hücre morfolojisi ve hücrenin kimyasal kompozisyonuna bağlıdır (Denyer ve Stewart, 1998).



Şekil 2. Biyosidler İçin Potansiyel Hedefler.

Antimikrobiyal ajanların etkisi sıklıkla hedef organizmanın gelişiminin durdurulması için ihtiyaç duyduğu minimum konsantrasyon olarak veya belirli bir zamandan sonra hayatta kalmanın engellenmesi için sağlanan konsantrasyon (minimum bakterisidal konsantrasyon [MBC], genellikle > 99.9% öldürücü olarak anlaşılır) olarak bilinmektedir (Gilbert ve McBain, 2003).

Nitekim Russell (1998)' a göre, yüksek seviyedeki dezenfektan; bakteriyal sporların dışında tüm mikroorganizmaları öldürürken, orta seviyedeki dezenfektan bakteriyal sporlar hariç mikobakteriler, diğer sporsuz bakteriler, çoğu virüsleri ve fungusları etkisiz hale getirir, düşük seviyedeki dezenfektan ise; en çok bakteriler olmak üzere (mikobakteriler ya da sporlar hariç), bazı virüs ve bazı fungusları etkisiz hale getirir (Şekil 3).

Dezenfektan seviyesi	Dezenfektan karşıtı etki
Yüksek	Sporlar+, tüberkül basili, spor oluşturmeyen bakteriler, fungi ve virüsler (lipid zarflı ve Lipid zarfsız)
Orta	Tüberkül basili, spor oluşturmeyen bakteriler, fungi++, lipidsiz virüsler ve lipidli virüsler
Düşük	Spor oluşturmeyen bakteriler, fungi+, Lipid zarfsız virüsler+++ ve lipid zarflı virüsler

+ Eğer bakteriyal sporlar oldukça fazla ise zaman periyodlarının uzatılması zorunludur.

++ Klamidosporlar ya da seksual sporların bulunması zorunlu değildir.

+++ Virusidal etki sınırlandırılabilir.

Şekil 3. Dezenfektan Aktivitesi Seviyeleri.

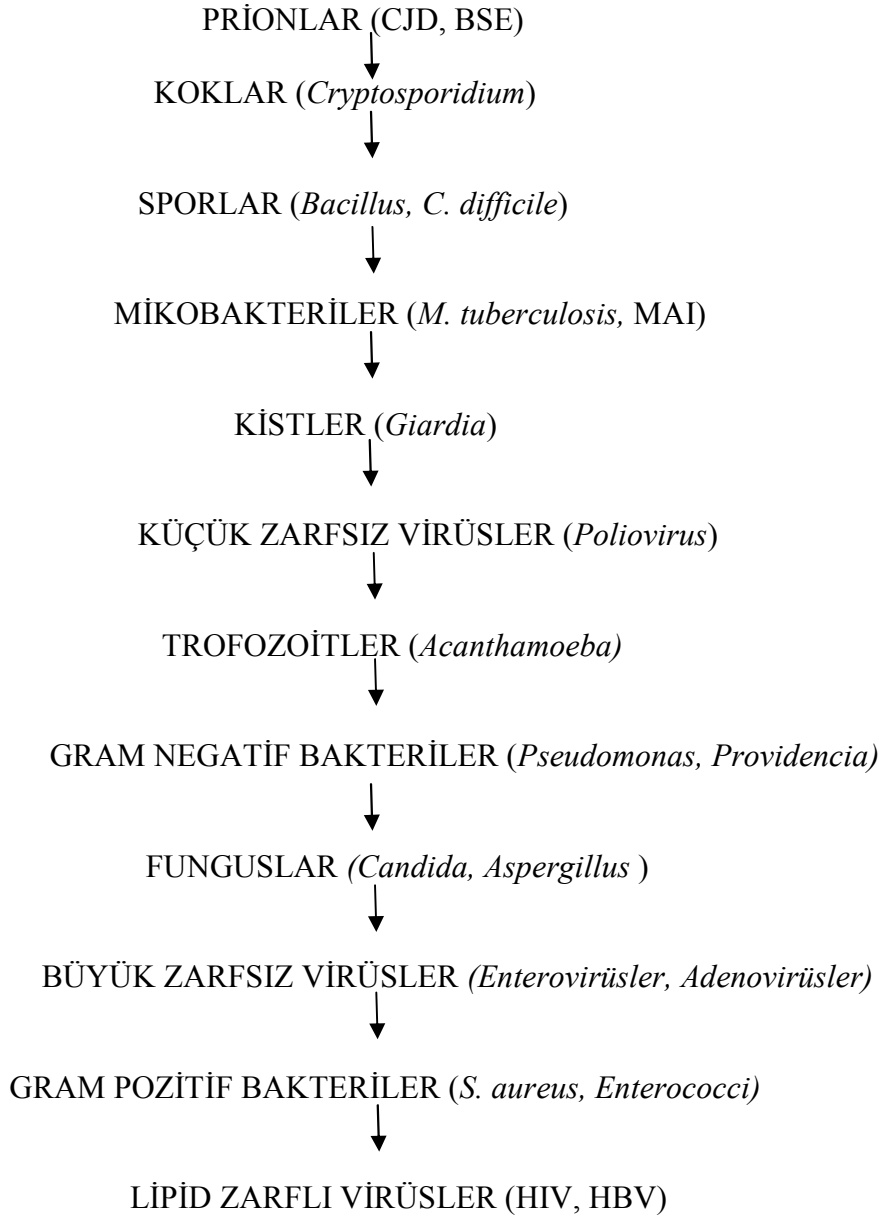
Biyosid bileşimlerinin yüksek konsantrasyonda kullanımı hücre membranının bozulması ya da enzim faaliyetlerinin engellenmesi şeklinde, biyosidal etkinin artmasını sağlamıştır (Gilbert ve McBain, 2003).

Buna paralel olarak bakterisidler düşük konsantrasyonda kullanıldıkları zaman sıklıkla bakteriyostatik olarak rol oynarken, yüksek konsantrasyonda kullanıldıkları zaman bakterisidal etki gösterirler. Bakterisidler etkili olabilmeleri için hücre zarfının içine girebilmelidirler nitekim yeterli konsantrasyonda da hedef bölgede antibakteriyal etkileri sağlarlar (Cloete, 2003).

Braoudaki ve Hilton (2003), Smith ve Jarvis (1999)' e atıfta bulunarak bazı mikroorganizmaların, metabolik karakteristiklerinden dolayı belirli antimikrobiyal ajanlara dirençli olduklarını bildirmiştir.

Dirençlilik, uygun koşullar altında bir organizmanın straininin, organizmanın diğer üyelerini öldürecek veya gelişimlerini geçici ya da kalıcı olarak engelleyecek yeteneğe sahip olmasıdır (Cloete, 2003).

Nitekim dezenfektanlara karşı en fazla direncin prionlar tarafından oluşturulduğuna inanılır (Taylor, 1999), prionları takiben koksidler ile bakteriyal sporlar ve mikobakteriler bakterilerin en dirençli tipleridir (McDonald ve Russell, 1999) (Şekil 4.). Stafilokok ve Enterokoklarda olduğu gibi Gram- negatif bakteriler Gram pozitif koklardan daha dirençlidirler (Russell, 1998).



Şekil 4. Dezenfektanlara Kalıtım Yoluyla Azalarak Verilen Mikrobiyal Cevap (Prionlar, Dezenfektan Etkinliğini Geç Oluştur.

Bakteriler, antibakteriyal ajanların belirli bir konsantrasyonuna duyarlılık gösteremedikleri zaman dirençli olarak kabul edilebilmektedirler (Cloete, 2003).

Son 20 yılda ağırlıklı olarak yapılan çalışmalar sonucunda bakteriler, direnç elde etmeleri için 3 ana direnç stratejisi kullanırlar: hedef değiştirme, inaktivasyon ve hedef bölgeye erişimin azaltılması (Chapman, 2003).

Bakteriler, dezenfektanlara karşı farklı hassasiyet derecelerine sahiplerdir. Dezenfektanlara karşı iki temel mekanizma oluşturulur (Favero, 1993). İlk olarak ölümcül

etkiyi başlatmak için yüksek konsantrasyonda kullanılan dezenfektanların hedef bölgeye ulaşmayı başaramamalarıdır. Örnek olarak, bakteriyal sporlar, mikobakteriler ve Gram-negatif bakterilerden *P. aeruginosa*, *Proteus* spp. ve *Providencia* spp. birçok dezenfektana karşı bu anlamda dirençlidirler (Russell, 1998). İkinci olarak, fizyolojik (fenotipik) adaptasyon ile hücrelerin oluşturduğu biyofilmin dirençliliği değiştirmesidir (Brown, 1993)

Bu durumdan farklı olarak, bir bakteriyal hücredeki genetik değişimle meydana gelen kazanılmış dirençlilik, mutasyonla ya da plazmid veya transpozonların elde edilmesiyle ortaya çıkabilir(Russell, 1998).

Nitekim, bazı bakterilerin doğuştan sahip oldukları biyokimyasal yapıları onları antibakteriyallere karşı dirençli hale getirmiştir (Davies, 1997) .Bu durumla paralel olarak biyosidlerin ilk olarak bakteri yüzeyleriyle etkileşime girmesinden dolayı meydana gelen dirençliliğin esasını hücre yüzeyinin yapı ve kimyasal kompozisyonunun farklılığı belirler (Tattawasart ve ark., 2000). Bununla birlikte, spesifik hücre zarfı ve hassas olmayan proteinlerde olduğu gibi ya da genetik değişimin sebep olduğu dirençlilik gibi doğal farklılıklar yüzünden, farklı bakteriler mevcut bakterisidlerle farklı olarak tepki verirler (Cloete, 2003).

Dolayısıyla, Gram- pozitif bakteriler biyosidlere Gram- negatif bakterilerden daha fazla duyarlılık gösterirler. Bu durum Gram-negatif bakterilerin, antibakteriyalleri içeren kimyasal ajanların geçişini sınırlandıran en dış membrana sahip olmasına bağlanmıştır (Nikaido, 1994; Paulsen ve ark., 1997)

Farklı bakteri gruplarının çeşitli biyosidlere hassasiyet derecelerine bakıldığında; bakteriyal sporlar en dirençli olarak nitelendirilirken bunu sırasıyla daha az dirençli olan mikobakteriler, Gram negatif mikroorganizmalar ve en hassas olan koksiler takip eder (Russell, 1998).

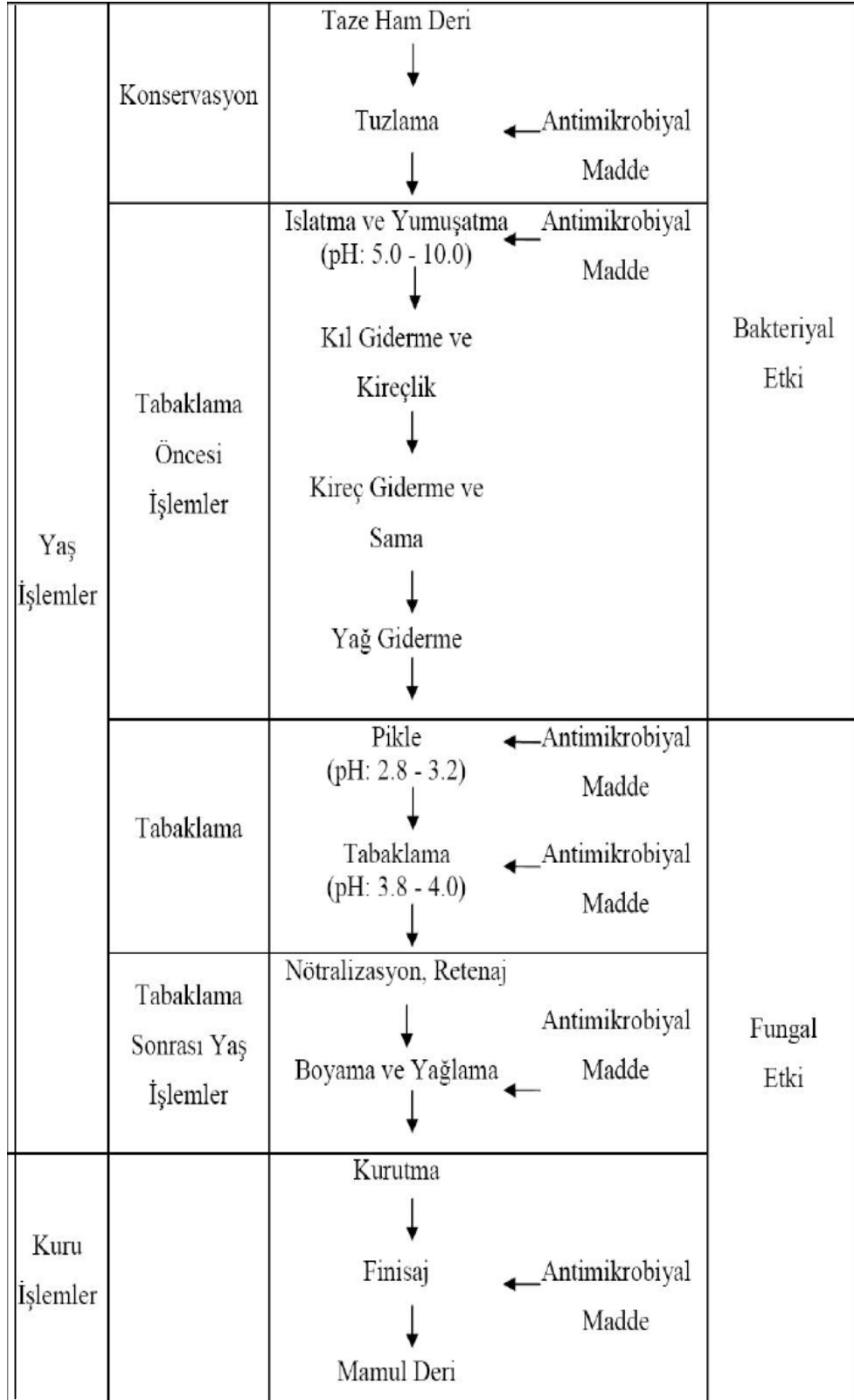
2.2. Deri Endüstrisinde Kullanılan Biyosidler

Deri üretim süreci içerisinde mikroorganizmalar hemen her basamakta karşımıza çıkmaktadır. Özellikle ıslatma ve yumuşatmada bakteriler, tabaklamada ise funguslar mutlaka kontrol edilmelidir (Tenover, 2006).

Biyosid kullanımı, bakteri ve fungus gibi mikroorganizmaların aktiviteleri sonucu derinin zarar görmesinden kaçınmak için oldukça önemlidir. Tabaklanmamış deri, saklama boyunca özellikle ıslatmadaki bakteriyel hareketlerden korunmalıdır. Ayrıca, pikle,

tabaklama, kurutma ya da yağ gidermede fungus gelişiminden kaçınmak için fungusid kullanılmasına ihtiyaç vardır (Anonim, 2011b).

İster küçükbaş isterse büyükbaş hayvan derisi olsun mamul hale gelinceye kadar deri fabrikalarında bir seri işleme tabi tutulmaktadır. Derinin konservasyonundan bitmiş deri elde edilinceye kadar geçen bu süreçteki deri işlem basamakları Sekil.5’de verilmiştir. Ayrıca şekilde mikroorganizmaları kontrol etmek amacıyla antimikrobiyal maddelerin nerelerde kullanılabileceği gösterilmiştir. Çizelge 1’de ise çeşitli proseslerde kullanılan antimikrobiyal maddelerin kullanım yüzdeleri verilmiştir (Bilgi ve Yapıcı, 2008).



Sekil 5. Deri Üretim Süreci ve Antimikrobiyal Madde Kullanımı (Bilgi ve Yapıcı, 2008).

Çizelge 1. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Olarak Kullanım Miktarları (Anonim 2000)

İşlem Basamağı	Uygulanan Antimikrobiyal Madde Miktarı (%’ler deri ağırlığı üzerindedir)
Konservasyon	0,01 – 0,5
Islatma ve Yumuşatma	0,01 – 0,5
Pikle	0,01 – 0,5
Tabaklama	0,01 – 0,3 ve 0,3 – 0,5
Finisaj	0,3

Deri materyali tamamıyla kurutulup sert bir görünüm aldıktan sonra ıslatıldığında, birkaç saat içinde çürüme meydana gelebilir. Tuzla kurutma, deriden çıkarılan suyla birlikte su aktivitesinin düşmesini sağlayarak deriyi koruyucu rol oynar. Derinin korunmasında ilk olarak tuz kullanılmıştır. Bu süreçte ilk olarak deri tuz yatağına yatırılmış dolayısıyla deriler tuzla kaplanmışlardır. Bu durum belirli bir yükseklikte küme oluşuncaya kadar tekrarlanmıştır. Fakat bu süreç 30 gün gibi uzun bir zaman diliminde tamamlandığı için oldukça yavaştır (Muthusubramanian ve Mitra, 2005b).

İşlenmemiş deriler, ıslak durumdayken bakteri saldırılarına duyarlı olduklarından bir süre sonra deride kokuşma meydana gelir. Meydana gelen durumun ortadan kalkması için yapılan kurutma işlemiyle de deriler kaskatı hal alırlar. Bu etkiler deri endüstrisinde ıslatma basamaklarında eklenen, derininin çürüyebilecek biyolojik materyallerini mikrobiyal saldırılardan koruyan ayrıca kurumaya karşı dirençli hale getiren bakterisid çözeltilerinin kullanılmasıyla önlenir (Convington, 1997; Bailey, 2003).

Bu durumda deri, bir biyosidin içine daldırılabilir veya biyosid derinin etli yüzeyine püskürtülebilir (Anonim, 2000).

Günümüzde ıslatma ve yumuşatma basamağında yaygın olarak organosülfür, kuarternar amonyum, organo-brom ve organik S-CN (thiocyanate) esaslı ticari bakterisidler kullanılmaktadır (Anonim 2008).

Geçmişte sıklıkla kullanılan cıva bileşikleri, sülfid ve asetik asit karışımı esaslı bakterisidler çok etkili olmalarına rağmen, çevreye zararlı oldukları için artık kullanılmamaktadırlar (Muthusubramanian ve Mitra, 2005b).

Muthusubramanian ve Mitra (2005b), mikroorganizmaların deriyeye zarar vermelerini engellemek için ıslatma işlemi sırasında aktif içeriği 2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol olan bronopol bakterisidini, alkalik koşullar altında formaldehit ile nitroalkane tepkimesiyle

oluşan ürünün bromla tekrar tepkimeye girmesi sonucu temiz, basit bir teknolojiyle sentezlenmiştir.

Quaternary amonyum bileşimleri (QACs) klinik ve endüstriyel ortamlarda bakteriyal gelişimin kontrolü için yaygın olarak kullanılan yüzey aktif maddeleridir (McBain ve ark., 2004). Quaternary amonyum bileşimi (QACs) ilk olarak 1916 yılında tanımlanmıştır fakat ticari olarak 19 yıl boyunca kullanılmamıştır (Russell, 2002).

Quaternary amonyum bileşiği, yapısal farklılıklar gösteren dört alkil grubuna doğrudan bağlanmış bir nitrojen atomundan oluşmuştur. Geniş gruba sahip bu bileşimden alkyl benzalkonium kloridler bileşiği antiseptik olarak en fazla kullanılandır (Weber ve ark., 2007).

QACs' nin antimikrobiyal etkisi, stoplazmik ve çift katmanlı dış membranın asidik fosfolipit kutup başları ile pozitif yüklü quaternary arasındaki etkileşime dayanır (McBain ve ark., 2004).

Bunun yanında quaternary amonyum bileşiminin bakterisidal etkisi, enerji üreten enzimlerin inaktivasyonuna, önemli hücre proteinlerinin denatürasyonuna ve hücre zarının bozulmasına dayandırılmaktadır (Ebner ve ark., 2005).

QACs' nin antimikrobiyal etki biçimi bakteri stoplazmik membranının geçirgenlik özelliklerini azaltması sonucu oluşur QACs belirli bir uzunluğun altında sahip olduğu alkil zincirleriyle antimikrobiyal ajan etkisi gösterir. Bu geniş spektrumlu biyosidler nispeten güvenli olduğundan yaygın olarak kullanılmaktadır fakat bazı alanlarda bu bileşiklerin kullanımı ile QACs' a karşı mikrobiyal direncin geliştiği keşfedilmiş ve kullanımı sınırlandırılmıştır. Bundan yola çıkılarak Gram negatif bakterilerin dış membranındaki yağ asidi profillerinin değiştirilmesiyle birçok kimyasal ürünün difüzyonundan korunması mümkündür. Gram pozitif bakteriler genellikle QACs' ye duyarlıdır fakat bazı Stafilokoklar, bu dezenfektanlar üzerinde direnç sağlayan genleri oluştururlar (Massi ve ark., 2003).

QACs' nin antimikrobiyal performansında yüzey gerilimi etkisi önemli bir rol oynar. Öte yandan bu tür bileşiklerin hidrofobik zincirleri üzerinde bulunan flor atomlarıyla zincir amfifilik bir özellik kazanmakta, zincirin oleofobik, hidrofobik özelliği yüzey geriliminde önemli bir düşüğe sebep olmaktadır (Massi ve ark., 2003).

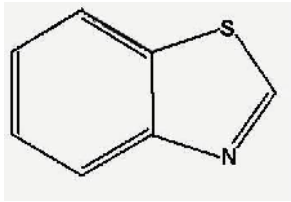
Meriçli Yapıcı ve ark. (2004) yumuşatma basamağında rastlanan bazı bakteri grupları üzerine deri sektöründe kullanılan 6 farklı bakterisidin etkinliğini tespit etmek

üzere yaptıkları araştırma sonuçlarına göre kuarternar amonyum bileşiğinin hem bakterilere hem de bakteri sporlarına etkili olduğunu bulmuşlardır.

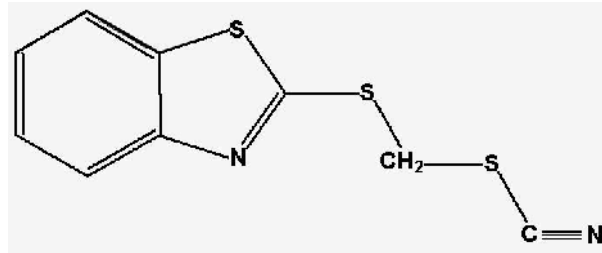
Tabaklama öncesi işlemlerde bakteri ve fungus sayısının tespiti üzerine yapılan bir çalışmada yumuşatma basamağında bakterisid olarak %0,4 oranında kuarternar amonyum esaslı bir bileşik kullanılmıştır. Araştırma sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kullanılan bileşiğin bakteri sayısını yaklaşık olarak yarı yarıya düşürdüğü tespit edilmiştir (Bilgi, 2007).

Tabakhanelerde mikroorganizmaların büyümesi için uygun ortamlar meydana gelmektedir. Özellikle pikleli deriler, krom tabaklanmış (wet blue) deriler ve bitkisel tabaklanmış deriler depolama ya da taşıma sırasında küf gelişimine eğilimlidirler (Lindner ve Neuber, 1990).

Deri endüstrisinde yirmi yıl öncesine kadar, paranitrophenol (PNP) ve pentachlorophenol (PCP) esaslı bileşikler fungusid olarak kullanılmışlardır (Hauber ve Germann, 1997; Didato ve Yanek, 1999; Adminis ve ark., 2001). Ancak bu bileşikler son derece toksik olduklarından dolayı bunların kullanımından vazgeçilmiştir (Barlas, 1992). Bunun ardından TCMTB (2-thiosiyanometilthio-benzothiazol), OPP (o-phenylphenol) gibi yeni bir takım bileşikler üzerinde durulmaya başlanmıştır (Annamalai ve ark., 1997).



Benzathiazol



TCMTB

Şekil 6. Benzathiazol ve TCMTB bileşiklerinin kimyasal formülü
(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=30692>).

Her yıl, kromla tabaklanmış (wet blue) deri üzerindeki fungal büyüme önemli ekonomik zararlara sebep olmakta dolayısıyla derinin sonlanması engellemektedir. Hatta şu anda kullanılan en iyi küf programları bile tekrar başarısızlıkla sonuçlanmaya yatkın olmaktadır. Bunun sebebi olarak fungusid seçimi boyunca wet blue' da kullanılan fungusidlerin bozulması ya da kullanım aralığına bağlı olarak yeni küf türlerinin ortaya çıkması gösterilmektedir. Tabaklayıcılar yeni bir antifungal madde kullanılması için wet blue' da paketlemeden hemen önce ve paketlemeden sonra dikkatli bir şekilde

uygulanabilir. Böyle bir işlem sonrası direkt püskürtme yöntemi uzun nakliye ve depolama aralıklarında hasarı en aza indirmek için yeterli ek koruma sağlamaktadır. Çeşitli sentetik fungusidler bu amaçta etkin kullanıma sahiptir fakat onların toksisite profillerinin wet blue derilerle uygulanan püskürtme yönteminin yapılmasına engel teşkil etmediği anlaşılmıştır (Stockman ve ark., 2006).

Nitekim, nitrofenol çeşitleri geniş bir spektrumda biyolojik etki göstermektedir. Mono-nitrofenoller normalde uygun bir insan toksisitesi indeksine sahiptir (Lollar, 1954).

Önceden deri endüstrisinde fungal saldırılar pentachlorophenol kullanılarak önlenirdi fakat klorlanmış dibenzodioxine oluşumu toksik olmasından dolayı kabul edilebilirliği uzun sürmediğinden onun yerine benzothiazole çeşidi olan 2-(thiocyanomethylthio) benzothiazole (TCMTB) geçmiştir. İlk çalışmacılar tarafından TCMTB' nin hazırlanışı: 2-mercaptobenzothiazole (MBT) saf etanolde sodyum etoksitle tepkimeye sokulmuş, chloromethylthiocyanate ile iyileştirilmiş ve reaksiyon karışımı 15 gün boyunca oda sıcaklığında bırakılmıştır (Muthusubramanian ve ark., 2001).

Fungusidler önemli bir grubu thiocyanates TCMTB (2-(thiocyanatomethylthio)benzothiazole) ve MBT (methylene bis thiocyanate)' dir. Funguslara karşı oldukça etkili olup bazı engellere sahiptirler: thiocyanate' lerin sıklıkla halogen methyl-thiocyanate' lar ile kontamine olmalarıyla tabakhanelerde deri ve mukoza zarı tahrişlerine sebep olurlar. 2-Octylisothiazolinone (OITZ) diğer mikrobiyosidlerle birlikte kombine olduğunda zaman daha avantajlı olarak kullanılır (Linder ve Neuber, 1990).

Fowler ve ark. (1990) yapmış oldukları çalışmada Etken maddesi 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole (TCMTB) olan dağılmış emülsiyon halindeki Busan 30 L' nin hafifçe kromlanmış ve kireçlenmiş deride 10⁰C, 25⁰C ve 40⁰C' de oluşturduğu iyileştirme etkisini incelenmişlerdir. Buna göre, fungusid alımı iyileştirme boyunca düzenli aralıklarda farklı ölçümlerle belirlenmiştir. Kromlanmış ve kireçlenmiş deri üzerinde yüksek konsantrasyonda fungusid kullanımı 13 ve 40⁰C sıcaklık aralığında küçük değişikliklerle birlikte tipik kitlesel izoterm hareketi oluşturmuşlardır. Yüksek konsantrasyon kromlanmış deri üzerinde bariz olarak değişim noktası olurken konsantrasyonun artışıyla birlikte bu durum daha da belirgin hale gelmiştir. Bu değişim noktasında kromlama yöntemi, kireçlenmiş hayvan derisindeki kadar belirgin olmasa da farklı bir bağlama mekanizmasının oluşmasında rol oynamıştır. Yüksek konsantrasyonlarda TCMTB' nin

yüzey bileşenlerinin kireçlenmiş fibrillerin üzerine yüzeysel çökeltme yapmasıyla alımda belirgin bir artış olmuştur. Çalışmalar sonucunda derinin kollajen matriksiyle TCMTB' nin etkileşimi deriye fungusid alınımının belirlenmesi hakkında daha fazla bilgi edinilmesi sağlanmıştır.

TCMTB' nin derinin muhafazası ve korunmasında en etkili fungusidlerden biri olduğu kanıtlanmıştır. TCMTB' nin muhafazası için iyi bir şekilde korunmalıdır:

- a) Yükseltgeyenler (Chlorines ve Peroxides) ve indirgeyenler (Sülfid ve Bisülfidler) TCMTB' yi bozabilir,
- b) TCMTB, alkali şartların altında etkisini kaybeder (pH 8' den daha büyük). Özellikle sülfidlerin varlığında

Bu sebeple TCMTB şu şekilde kullanılmalıdır. Pickle Süresi, tuz ve asitten sonra 15 dakika tabaklama Süresi ise krom (deride TCMTB' nin penetrasyonunun kolaylaştığı en geniş zaman)' dan sonra 15 dakika

- c) Tabaklama banyosuyla yüksek yağ içeriği deride TCMTB tortusunu azaltabilir çünkü yağ TCMTB' yi emer.
- d) Suda 1:20 sulandırma gereklidir (Anonim, 2011b).

Geçen birkaç yılda yeni keşfedilmiş biyosidlere, temeli paraasetik asite dayalı *ortho*-phthalaldehyde (OPA) örnek verilebilir (Russell, 2002).

Deri endüstrisindeki çevresel endişeler 1980' li yıllardan beri artmaktadır. Nitekim, kirletici emisyon seviyeleri yüksek olan sanayi ülkeleri çevresel kirliliği kontrol altında tutmak için geleneksel yöntemleri kullanmalarına rağmen doyma noktasına ulaşmışlardır. Bu kritik kirlilik seviyelerine, yüksek nüfus yoğunluğu, kirletici etkisi yüksek olan eski teknoloji kullanımı ya da yüksek sanayi yoğunluğu sebep olmuş olabilir. Bu durum gelişmekte olan yeşil teknoloji sektöründe arz edilen ham maddelerin alınımını ve araştırma çalışmalarının büyük bir kısmının tamamlanmasını arttırmaktadır. Şu anda tabaklama işleminin hemen hemen bütün kısımlarında temiz ve çevre dostu alternatif kimyasallar kullanılmaktadır (Muthusubramanian ve Mitra, 2005b).

Nitekim Muthusubramanian ve diğ. (2003) deri endüstrisinde antimikrobiyal madde olarak kullanılan Methylene bistiocyanate bileşiğini çevreye dost hammadeler kullanarak yeniden sentezlemişler ve TCMTB ile belirli oranda karıştırarak kullanmışlardır

Tabakhanelerde mikroorganizmaların büyümesi için uygun ortamlar meydana gelmektedir. Bakteriyal ve fungal büyüme için proteinler ve yağlar derideki en ideal besin kaynaklarını temsil eder. Özellikle pikleli ve krom tabaklanmış (wet blue) deriler ve

bitkisel tabaklanmış nemli deriler depolama ya da taşıma sırasında küf gelişimine eğilimlidirler. Geçmişte koruyuculardan, öncelikle etkili korumayı sağlamaları beklenirdi fakat son yıllarda potansiyel ekolojik tehlikeler üzerindeki endişeler daha önemli olmaktadır. Çevresel kirlilik üzerindeki endişeler, pentachlorophenol içerikli koruyucuların en çok Avrupada' ki tabakhanelerde eskilerinin yerine kullanılması yönünde yol göstermiştir (Linder ve Neuber, 1990).

BÖLÜM 3**MATERYAL VE YÖNTEM****3.1. Materyal****3.1.1. Deri Örneği**

Bu araştırmada 10 adet yerli ırk koyun ham derisi kullanılmıştır. Bu deriler kesimhanelerden taze olarak temin edilmiş ve konservasyon yöntemleri dikkate alınarak konservelenmiştir. Söz konusu deriler çalışmada kullanılıncaya kadar uygun depolama koşullarında bekletilmişlerdir.

3.1.2. Biyosid

Araştırmada deri endüstrisinde uzun zamandır sıklıkla tercih edilen ve prospektüslerinde kaba formülasyonları ile tavsiye edilen kullanım konsantrasyonları aşağıda sırasıyla verilen farklı kompozisyonda 7 biyosid kullanılmıştır.

Biyosid 1 (B I) Derbio DB 99: Kuarternize edilmiş bileşiklerden oluşan ve bir bakterisid olarak tanımlanan bir formülasyondur. Ham deri ağırlığı üzerinden % 0,3- 0,5 kullanımı önerilmektedir.

Biyosid 2 (B II) Busan 30 WB: Thiocyanic asit esaslı bakterisid olarak tanımlanmakta ve ham deri ağırlığı üzerinden % 0,2 kullanımı tavsiye edilmektedir.

Biyosid 3 (B III) Derbio F3: Benzotiazol türevlerinden oluşan biyosid olarak tanımlanmaktadır. Tola ağırlığına göre; % 0,05 kullanımı önerilmektedir.

Biyosid 4 (B IV) Gemacide (BT-3) : TCMTB esaslı fungusid olarak tanımlanmaktadır.

Biyosid 5 (B V) Busan- 1185: Biyosidinin içeriği prospektüste belirtilmemektedir.

Biyosid 6 (BVI) Gemacide LFP: Octylisothiazolone esaslı fungusid olarak tanımlanmaktadır.

Biyosid 7 (B VII) Busan 85: Ditiyokarbomad sodyum tuzunun sulu çözeltisi olup bakterisid olarak belirtilmektedir. Ham deri ağırlığı üzerinden % 0,05-0,1 ve flote hacmi üzerinden 300 ppm olarak kullanımı önerilmektedir.

3.1.3. Besiyeri

Araştırmada bakteri izolasyonu için halofil besiyeri kullanılmıştır (Anonim 2011a). Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim gösteren bakteri izolasyonu için söz konusu besiyeri bileşimine %0, %5, %10 oranlarında tuz ilave edilmiştir.

Fungus izolasyonu ise modifiye Malt Extract Agar (m.M.E.A) ile yapılmıştır. Yine farklı tuz konsantrasyonlarda gelişim gösteren fungus izolasyonu için ise modifiye MEA besiyerine %0, %5, %10 oranlarında tuz ilave edilmiştir (Bitlisli ve diğ., 2004).

Bakteri izolasyonu için kullanılan halofil besiyerinin içeriği ile fungus izolasyonunda kullanılan mM.E.A besiyerinin içeriği ve hazırlanışları bir sıra dahilinde aşağıda verilmiştir.

Halofil Besiyeri

KCl	5.0	g
MgCl ₂ .6H ₂ O	5.0	g
NH ₄ Cl	5.0	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	5.0	g
İz Element Çözeltisi	5.0	mL
Demir(III) sitrat çözeltisi (%1)	10.0	mL
Maya extract çözeltisi (150g/L)	30.0	mL
Pepton çözeltisi (150g/L)	30.0	mL
Agar	10.0	g
Distile su	925.0	mL

İz Element Çözeltisi

CuSO ₄ .5 H ₂ O	1.0	mg
ZnSO . 7 H ₂ O	220.0	mg
CoCl ₂ .6 H ₂ O	10.0	mg
MnCl ₂ .4 H ₂ O	180.0	mg
Na ₂ MoO ₄ . H ₂ O	6.3	mg
Distile su	1000.0	mL

Araştırmada kullanılan bakteri izolatları izolasyonu için tuz ilave edilmeden ve %5, %10, oranlarında NaCl ilave edilmek suretiyle hazırlanan tüm besiyeri içerikleri 1000 mL distile su içerisinde homojenize edilmiş ve otoklavda 121⁰C' de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri, sıcaklığı yaklaşık olarak 45-50⁰C olunca steril petri kaplarına dökülmüştür (Halkman, 1995; Temiz, 1996).

Modifiye Malt Ekstrakt Agar (mMEA)

Malt ekstraktı	30.0	g
Pepton	5.0	g
Agar	15.0	g
Glukoz	10.0	g
Maya ekstraktı	1.0	g
Streptomycin (100 µg/mL)		
Distile su	1000.0	mL

Fungus izolatları için ise, tuz ilave edilmeden ve %5, %10 oranlarında NaCl ilave edilmek suretiyle hazırlanan tüm besiyeri içerikleri 1000 mL distile su içerisinde homojenize edilmiş ve otoklavda 121⁰C' de 15 dakika sterilize edilmiştir. Hazırlanan streptomycin besiyeri otoklavdan çıktıktan sonra besiyeri içeriğine ilave edilmiştir. Besiyeri sıcaklığı yaklaşık olarak 45-50⁰C olunca steril petri kaplarına dökülmüştür (Halkman, 1995; Temiz, 1996).

Yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan besiyerlerinin pH'sı işlem basamaklarının pH'sına uygun olacak şekilde ayarlanmıştır. Bunun için besiyerlerine otoklavdan sonra gerekli miktarlarda steril 1N HCl ve 1N NaOH çözeltileri ilave edilerek pH ayarlanmıştır (Halkman, 1995; Temiz, 1996).

3.1.4. Çözelti

Bakteri ve küf izolasyonu için ekim öncesinde gerekli olan tüm seyreltme sıvıları, ekim yapılacak besiyeri ortamlarının tuz konsantrasyonlarına uygun olacak şekilde; % 0, % 5 ve % 10 NaCl içeren tuzlu su çözeltileri olarak hazırlanmıştır.

3.2. Yöntem

Araştırmada kullanılan yerli ırk koyun ham derileri % 50 oranında tuz ile konserve edilmişlerdir. Araştırmada kullanılacak olan deriler gıysilik deri üretme amacına yönelik bir işleme yöntemine uygun olarak işlenmişlerdir. Ham derinin homojen bir yapıda olmaması; ırk, cins, yaş, bakım ve besleme koşulları, konservasyon şekli gibi pek çok faktörün deri işleme proseslerinde dikkate alınma zorunluluğu değişik işleme reçetelerinin oluşmasına neden olmuştur (Yakalı ve Dikmelik, 1994). Bu nedenle çalışmada yerli ırk ve tuzlu yaş konservelenmiş ham derilerin kullanılacağı dikkate alınarak aşağıda verilen

çerçeve reçete oluşturulmuş ve ham deriler bu reçeteye göre Ç.O.M.Ü. Biga Meslek Yüksek Okulu Dericilik Programı Araştırma ve Uygulama İşletmesindeki makine ve teçhizattan yararlanılarak işlenmişlerdir.

Çalışmada kullanılan deri işleme yöntemi Şekil 7' de bir sıra dahilinde verilmiştir.

Budama

Tartım (ham deri ağırlığı)

Kireç giderme ve sama işlemine kadar kullanılan % değerleri ham deri ağırlığı üzerinden hesaplanmıştır.

Islatma ve Yumuşatma

Islatma

% 500 su 20°C 4 saat

Ön Etleme

Yumuşatma

% 500 su 20°C

% 0.5 noniyonik yüzek aktif madde

% 0,4 kuaternar amonyum esaslı bakterisid 30' çevrilir ardından 5'/60'

(her saat başında 5 dakika çevrilir 55 dakika bekletilir)

Kıl Giderme ve Kireçlik

Kıl giderme

15 Bome (°Bé) Na₂S

25 °Bé Ca(OH)₂

(Hazırlanan çözelti derinin et tarafına sürülür ve 4 saat bekletilir.

Ardından yünler alınır)

Kireçlik

% 400 su 20°C

% 2 Na₂S

% 4 Ca(OH)₂ 30' çevrilir. Ardından 5'/60' toplam 24 saat

pH: 11-13

Etleme

Budama

Tartım (Tola Ağırlığı)

Diğer işlem basamaklarındaki % değerleri tola ağırlığı üzerinden hesaplanmıştır.

Kireç Giderme ve Sama

Yıkama

% 300 su 35⁰C

Boşalt

% 300 su 35⁰C

% 1.5 (NH₄)₂SO₄ 30'

Kontrol: pH = 8.2 – 8.5 Fenol ftalein indikatörü ile kesit renksiz olmalı

% 1 proteolitik enzim preparatı 60'

Kontrol: Balon testi ile gözeneklerin açık olduğu görülmeli

Yıkama

% 200 su 20⁰C 10'

Yağ Giderme

% 100 su 35⁰C

% 5 yağ giderme maddesi 90'

1. Yıkama

% 100 su 35⁰C

% 2 NaCl 30'

Boşalt

2. Yıkama

% 100 su 35⁰C

% 2 NaCl 30'

Boşalt

3. Yıkama

% 100 su 35⁰C

Kontrol: Yıkama suyu berrak olmalı

Pikle (Salamura)

% 150 su 20⁰C 5 °Bé NaCl 10'

% 0.5 HCOOH (1:10 suyla seyreltilir ve 3 parti halinde yavaş yavaş verilir). 30' çevrilir.

% 0.8 H₂SO₄ (1:10 suyla seyreltilir ve 3 parti halinde yavaş yavaş verilir). 90' çevrilir.

Kontrol: pH = 3.0 Dimetil sarısı ile renk turuncu olmalı.

Tabaklama

% 150 su 20⁰C 5⁰Bé NaCl

% 10 Toz Krom(%33 bazisiteli ve %25 Cr₂O₃ içerikli)

% 0,05 Benzotiazol esaslı fungusid

% 0.5 elektrolitlere dayanıklı yağlama maddesi 4 saat

% 0.5 HCOONa (1:10 seyreltilmeli ve 3 parti halinde yavaş yavaş banyoya verilmeli) 30'

% 1 NaHCO₃ (1:10 seyreltilmeli ve 3 parti halinde yavaş yavaş banyoya verilmeli) 60'

Kontrol pH=3.8-4.0 Brom krezöl yeşili ile renk yeşilimsi sarı

(Ayrıca deride büzülme temperaturü tayini ve kaynama testi yapılmıştır).

Dinlendirme (48 saat)

Açma-Sıkma

Tıraş

Tartım (Kromlu deri ağırlığı)

Aşağıda verilen % ler kromlu deri ağırlığı üzerindedir.

Yıkama

% 200 su 40⁰C

% 0.5 yıkama maddesi 30'

Nötralizasyon

% 300 su 40⁰C

% 0.5 HCOONa (1:10 seyreltilmeli ve 3 parti halinde yavaş yavaş banyoya verilmeli) 30'

% 0.8 NaHCO₃ (1:10 seyreltilmeli ve 3 parti halinde yavaş yavaş banyoya verilmeli) 60'

Kontrol: pH=5.0-5.5 Brom krezöl yeşili ile deri kesiti homojen bir şekilde mavi olmalı

Yıkama

% 200 su 40⁰C 10'

Retenaj- Boyama ve Yağlama

% 200 su 40⁰C

% 2.5 Polimer retenaj maddesi 20'

% 3 Disiyandiamid esaslı retenaj maddesi 30'
% 1 mimoza 60'
% 2 asit boyar madde 60'
+% 70 su 65⁰C
% 3 sentetik yağlama maddesi
% 2 yumuşaklık arttırıcı özel sentetik yağ
% 2 doğal esaslı sülfite yağlama maddesi 60'
% 1 HCOOH (1:3 seyreltilir ve üç parti halinde yavaşça verilir.)
Kontrol: ph=3.8 olmalı
Yıkama %200 su 20⁰C 10'

Şekil 7. Deri İşleme Yöntemi.

Deriler işlenirken her farklı işlem basamağı sonunda; yani ıslatma, yumuşatma, kıl giderme ve kireçlik, kireç giderme ve sama, yağ giderme, pikle, tabaklama, nötralizasyon ve retenaj-boyama-yağlama sonunda bakteriyolojik ve fungal izolasyon için belirtilen işlenti sıvılarından steril kaplara sıvı örnekler alınmıştır. Sıvı örnekler steril kaplara alındıktan sonra buz çantası yardımı ile 1-2 saat içerisinde Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarına getirilmiştir.

Her bir işlem basamağından (Islatma, yumuşatma, kıl giderme ve kireçlik, kireç giderme ve sama, yağ giderme, pikle, tabaklama, nötralizasyon, retenaj-boyama-yağlama) alınan örneklerin 10 mL'si 90 mL seyreltme sıvısına eklenerek 10⁻¹'lik seyreltme elde edilmiştir. Bundan sonraki seyreltmeler 9 mL seyreltme sıvısı içeren tüplere 1'er mL aktararak yapılmıştır. Sonuçta bakteri ve fungus izolasyonu için 10⁻⁸ e kadar seyreltiler hazırlanmıştır. Seyreltilerden kültür ortamlarına bütün ekimler dubletli olarak yayma kültür yöntemi ile yapılmıştır (Gürgün ve Halkman, 1990).

İzolasyon için ekimi yapılan ve tuz içermeyen besiyerleri 37⁰C de 48 saat inkübe edilmişlerdir. %5 ve %10 oranlarında tuz içeren besiyerleri ise 41⁰C de 72 saat inkübe edilmiştir (Birbir ve diğ., 1996).

Fungal izolasyon için ekim yapılan tüm pertiler 27⁰C de 3 hafta inkübe edilmiştir (Bitlisli ve diğ., 2004).

Araştırmada elde edilen izolatların seçiminde öncelikle koloni karakteristikleri dikkate alınmıştır. İzole edilen koloniler tuz konsantrasyonlarına uygun besiyerlerinde buzdolabında +4⁰C' de korunmuştur (Bilgi ve ark., 2009).

Araştırmada toplam 56 bakteri izolat kullanılmıştır. Bunlardan 22 tanesi % 0 tuz, 21 tanesi % 5 tuz ve 13 tanesi %10 tuz konsantrasyonlarında gelişim gösteren bakteri izolatlari olmuştur. İzolatların numaralandırılmasında %0 bakteri izolatlarından itibaren bakteri ve fungus izolatlarına rakamsal değerler verilmiş olup, 1-22 arası izolatlar tuzsuz ortamda gelişen bakterileri, 23-43 arasındakiler % 5 tuzlu ortamda gelişen bakterileri ve 44-56 arasındaki izolatlar ise % 10 tuz ortamında gelişen bakterileri temsil etmektedir.

Bununla birlikte fungus izolatlarının 22 adeti % 0 tuz, 24 adeti % 5 tuz ve 20 adeti % 10 tuz konsantrasyonlarında gelişim gösteren funguslardan seçilmiştir. Gene bakterilerde olduğu gibi izolat numaralandırılmasında da tesadüfi izolat numaralandırılması yapılmıştır. Buna göre % 10 tuz ortamında yaşayan bakteri izolat numaralarının sonundan itibaren numaralandırılma paralel olarak devam ettirilmiştir. Dolayısıyla, 57-78 arası izolatlar tuzsuz ortamda gelişen fungusları, 79-102 arasındakiler %5 tuz ortamında gelişim gösteren fungusları ve 103-122 arasındaki izolatlar ise % 10 tuz ortamında gelişim gösteren fungusları temsil etmektedir.

Hem prokaryot hem de ökaryot mikroorganizmaların biyosidlere dirençli olup olmadıklarını tespit etmek için yukarıda belirtilen besiyerleri sırasıyla kullanılmıştır. Besiyerleri aseptik koşullarda hazırlandıktan sonra otoklavda 121 °C' de 1 atm' de 15 dakika steril edilmiş ve sterilizasyon sonrasında besiyerleri 45 °C' ye kadar soğutulmuştur. Bu besiyerlerine biyosidler ayrı ayrı belirli konsantrasyonlarda (%0,1, % 0,01, % 0,001) ilave edilmiş ve hemen ardından petrilere besiyerleri dökülmüştür. Besiyerleri katılaştıktan petriler 8 bölmeye ayrılmıştır ve her bir bölmede farklı bir mikroorganizma bulunacak şekilde çizgi ekim tekniği kullanılarak daha önce izole edilen mikroorganizmalar besiyeri yüzeyine ekilmiştir. Prokaryotik mikroorganizmalar 37°C' de, ökaryotik mikroorganizmalar 27°C' de inkübe edilmiştir (Pelczar ve ark., 1993). Ekimler dubletli olarak yapılmıştır. İnkübasyon sonucunda çizgi boyunca büyüme gösteren koloniler dirençli, büyüme göstermeyenler duyarlı olarak kabul edilmiş ve bir çizelge halinde sonuçlar kaydedilmiştir.

BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**

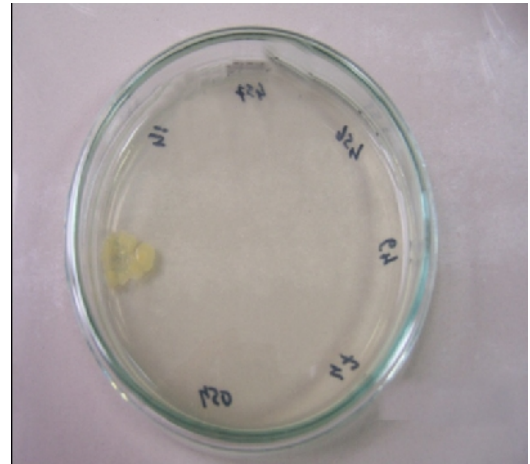
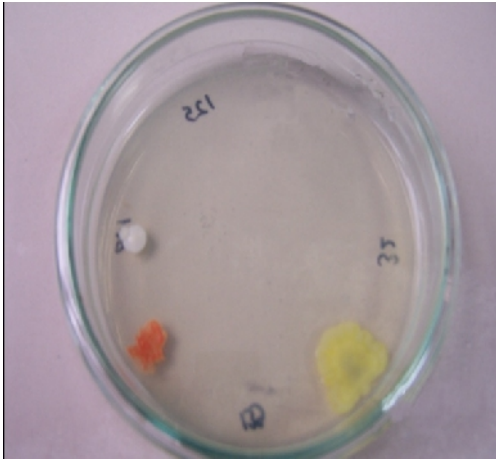
Bu çalışmada deri yaş işlem basamaklarında (Islatma,yumuşatma, kıl giderme ve kireçlik, kireç giderme ve sama, yağ giderme, pikle, tabaklama, nötralizasyon, retenaj-boyama-yağlama) çeşitli şekillerde zarara sebep olan mikroorganizmaların kontrolü için kullanılan bazı ticari biyosidlerin mikroorganizmalar üzerindeki etkileri tespit edilmeye çalışılmıştır.

Bunun için materyal ve yöntemde de belirtildiği gibi 7 farklı biyosidin 3 farklı konsantrasyonunun (%0,001, %0,01, %0,1) deri yaş işlem basamaklarından izole edilen isolatlar üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonuçları aşağıda sırasıyla bakteriyal ve fungal sonuçlar olarak verilmiştir.

4.1. Araştırma Bulguları**4.1.1. Bakteri Üreme Sonuçları**

Araştırmada kullanılan biyosidlerin; farklı tuz konsantrasyonlarında (%0, %5 ve %10) gelişim gösteren bakteri izolatları üzerine etkileri sırasıyla Çizelge 2, Çizelge 3 ve Çizelge' 4 de verilmiştir. Materyal ve yöntemde de belirtildiği üzere 22 adet % 0 tuz, 21 adet % 5 tuz ve 13 adet % 10 tuz içeriğinde gelişim gösteren bakteri izolatları ile çalışılmıştır.

Çalışmada, farklı besiyeri içeriğine sahip olan ve 7 biyosidden birini içeren petrilere ekimi yapılan farklı bakteri izolatlarının gelişip gelişmemesine göre biyosidlerin etkinliği değerlendirilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Bakteri İzolatlarının Ekiminin Yapıldığı Örnek Petriler.

Tuzsuz besiyerinde çalışılan izolatlardan 4., 7., 8. ve 18. bakteri izolatlarının BV biyosidinin tüm konsantrasyonlarına karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca 3. ve 5. izolatların da tüm biyosidlere karşı dirençli oldukları bulunmuştur.

Diğer yandan BI, BII, BIII ve BIV biyosidlerinin, %0,001 konsantrasyonunun 8 izolat hariç diğer izolatlara etkili olduğu, %0,01 ve %0,1 oranında ise tüm bakteri izolatlarının gelişimini engellediği belirlenmiştir. Yine kullanılan tüm bakterilerin BVI ve BVII biyosidinin %0,1 konsantrasyonuna duyarlı oldukları tespit edilmiştir. BV biyosidinin ise %0,1 konsantrasyonu 4., 7., 8. ve 18. bakteri izolatları hariç tüm bakterilere etkinlik göstermiştir. Tüm biyosidlerin %0,1 konsantrasyonda izolatların % 97' sinin gelişimini engellediği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak BV biyosidi haricinde diğer biyosidlerin çalışmada kullanılan ve tuzsuz besiyerinde gelişen bakteri izolatlarına karşı oldukça iyi etkili olduğu görülmüştür. Ancak tuz içeriği % 0 olan besiyerindeki bakteri izolatlarından 4., 7., 10., 12., 14., 18. ve 21. izolatlar hariç diğer izolatlara BI, BII, BIII ve BIV biyosidleri kullanılan tüm konsantrasyonlarda etkili bulunmuştur. Bu nedenle söz konusu biyosidlerin diğer üç biyoside göre daha etkili olduğu ifade edilebilir (Çizelge 2).

BI, BII, BIII ve BIV biyosidleri % 0,001 konsantrasyonda kullanıldığında %5 tuzda gelişen izolatların % 73' üne ve %0,01 konsantrasyonda ise tüm izolatlara etkili olduğu belirlenmiştir. Tüm biyosidler % 0,1 oranında kullanıldığında % 5 bakteri izolatlarının hepsinin gelişimini engellemişlerdir (Çizelge 3).

Sonuç olarak yine BV biyosidi haricinde diğer biyosidlerin kullanılan tüm konsantrasyonlarda tuz içeriği %5 olan besiyerinde gelişen bakteri izolatlarının % 81' ine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte % 5 tuz içeriğine sahip besiyerindeki bakteri izolatlarının % 93' üne BI, BII, ve BIV biyosidleri kullanılan tüm konsantrasyonlarda etkin olmuşlardır. Bu üç biyosidin diğer dört biyoside göre daha etkili olduğu söylenebilir.

Diğer yandan %5 tuz oranında gelişen bakteri izolatlarının, tuzsuz ortamda gelişim gösteren bakteri izolatlarına göre tüm biyosidlerin %0,1 konsantrasyonuna daha fazla duyarlılık göstermiş olmaları önemli bir bulgu olarak kaydedilmiştir.

% 10 tuz içeriğine sahip besiyerinde gelişim gösteren bakteri izotlarına etkinlik değerlendirmesi yapıldığında; BV biyosidi hariç diğer biyosidlerin % 0,01 konsantrasyonda iki izolat hariç (49 ve 56) tüm bakteri izolatlarının gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca BII ve BIV biyosidlerinin % 0,001 konsantrasyonu yine iki izolat hariç (52 ve 55) %10 tuz içeriğine sahip besiyerinde gelişim gösteren izolatların % 92' sine

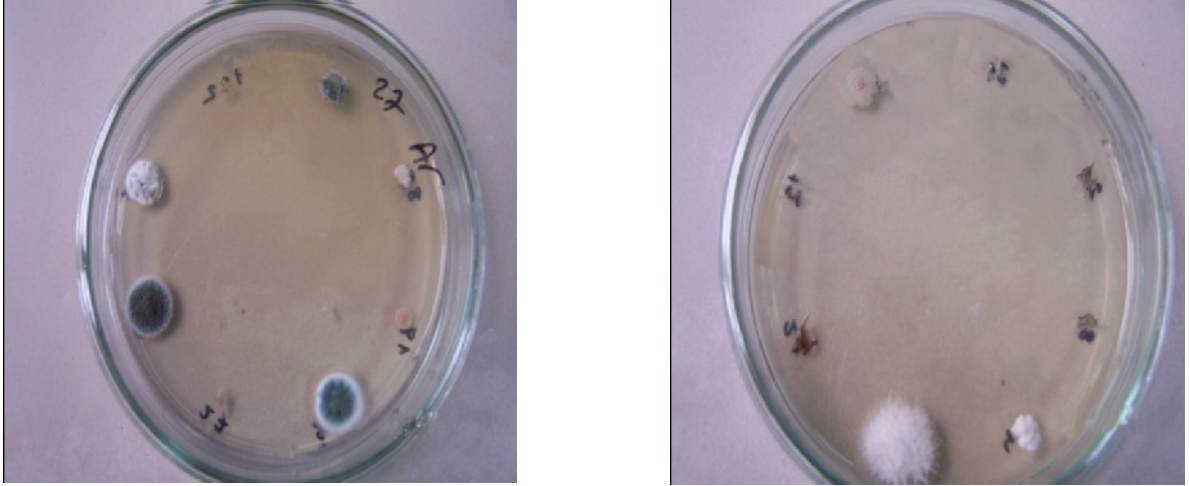
etkili olmuştur. Genel olarak değerlendirme yapıldığında biyosidlerin tamamının % 0,1 konsantrasyonda % 10 tuz içeriğinde gelişen bakteri izolatlarının tümüne etkin olduğu bulunmuştur (Çizelge 4).

Ayrıca %5 tuzlu besiyeri sonuçlarına benzer olarak %10 tuzda gelişim gösteren bakteri izolatlarının, tüm biyosidlerin %0,1 konsantrasyonuna daha duyarlı oldukları bulunmuştur.

4.1.2. Fungus Sonuçları

Çalışmada biyosidlerin farklı tuz oranlarında (%0, %5 ve %10) gelişim gösteren fungus izolatları üzerine etkileri sırasıyla Çizelge 5, Çizelge 6 ve Çizelge 7' de verilmiştir. Daha önce belirtildiği gibi çalışmada 22 adet tuz içermeyen, 24 adet % 5 tuz ve 20 adet %10 tuz içeriğinde gelişim gösteren fungus izolatları kullanılmıştır.

Çalışmada, farklı besiyeri içeriğine sahip olan ve 7 biyosidden birini içeren petrilere ekimi yapılan farklı fungus izolatlarının gelişip gelişmemesine göre biyosidlerin etkinliği değerlendirilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. Fungus İzolatlarının Ekiminin Yapıldığı Örnek Petriler.

Tuzsuz besiyerinde 58, 60, 61, 62, 63, 69, 71, 74, 76 ve 77 numaralı fungus izolatlarının BV biyosidinin tüm kullanım konsantrasyonlarına direnç gösterdikleri tespit edilmiştir. Benzer şekilde 70, 73 ve 77 numaralı bakteri izolatları da biyosid BIV'ün , 58 ve 69. izolatlar BI biyosidinin ve 59, 63, 70 ve 73. izolatlar ise biyosid BVI'nın tüm konsantrasyonlarına karşı dirençli bulunmuştur. Diğer yandan 64. ve 75. izolatların da biyosidlerin tüm konsantrasyonlarına duyarlı oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 5).

BII, BIII ve BVII biyosidlerinin %0,1 konsantrasyonlarının tuzsuz besiyerinde gelişim gösteren fungus izolatlarının tamamının gelişimini engellediği; BI, BIV ve BVI biyosidlerinin de %0,1 konsantrasyonunda izolatların % 86' sına etkin olduğu tespit

edilmiştir. Bunun yanında biyosidlerin tamamı %0,001 konsantrasyonda kullanıldığında tuzsuz besiyerinde gelişim gösteren fungus izolatlarının % 87' sine etkili olmamıştır (Çizelge 5).

Sonuç olarak BII ve BIII ve BIV biyosidlerinin düşük kullanım konsantrasyonlarında izolatların hemen hepsinin gelişimini engellediklerinden dolayı diğer biyosidlere göre daha etkin oldukları söylenebilir.

BVI biyosidinin bütün konsantrasyonlarına karşı %5 tuz içeren besiyerinde gelişim gösteren fungus izolatının % 80' i direnç göstermiştir. Yine biyosid BVII'nin tüm konsantrasyonlarına karşı 84., 85., 86., 88., 92., 94., 96., 97. fungus izolatlarının direnç gösterdikleri tespit edilmiştir (Çizelge 6).

BII, BIII ve BIV biyosidlerinin %0,1 konsantrasyonda kullanıldığı durumda %5 tuzlu besiyerinde gelişim gösteren tüm fungus izolatlarının gelişimi engellenmiştir. %0,01 konsantrasyonda ise söz konusu izolatların % 94' üne etkili olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çalışmada kullanılan BII, BIII, BIV biyosidleri %0.01 ile %0,1 gibi her iki konsantrasyonda %5 tuz ortamındaki fungus izolatlarının gelişimini engellediklerinden diğer biyosidlere kıyasla daha etkin olmuşlardır (Çizelge 6).

%10 tuz içeren besiyerinde gelişim gösteren birçok izolat (103. 104. 105. 107. 113. 114. 115. 119. 121. 122) biyosid BI, 103. 104. 106. 107. 112. 117. izolatlar biyosid BVI ve 106, 109, 110 121 numaralı izolatlar da biyosid BVII'nin tüm kullanım konsantrasyonlarına dirençlilik göstermişlerdir. Bu nedenle bu biyosidlerin izolatları kontrol etmede başarılı oldukları söylenemez (Çizelge 7).

BII, BIII, BIV ve BV biyosidleri %0,1 konsantrasyonda %10 tuz içeriğinde tüm fungus izolatlarının gelişimini engellerken; BII, BIII ve BIV biyosidleri %0,01gibi daha düşük bir konsantrasyonda fungus izolatlarının % 91' ine etkili olmuştur (Çizelge 7).

% 10 tuz içeren besiyerindeki sonuçlar değerlendirildiğinde; çalışmada kullanılan BII, BIII ve BIV biyosidlerinin diğerlerine göre daha etkin olduğu ortaya çıkmaktadır (Çizelge 7).

Çizelge 2. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında Tuzsuz Besiyerinde Bakteriyal Üreme Sonuçları

İZOLA T	BI			BII			BIII			BIV			BV			BVI			BVII		
	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
10	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
18	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-

(-) gelişim gözlenmemiştir.

(+) gelişim gözlenmiştir.

Çizelge 3. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 5 Tuzlu Besiyerinde Bakteriyal Üreme Sonuçları

İZOLAT	BI			BII			BIII			BIV			BV			BVI			BVII		
	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
26	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
27	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
29	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-
30	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
31	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
32	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
34	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
37	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
38	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
39	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
41	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-
42	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
43	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-

(-) gelişim gözlenmemiştir.

(+) gelişim gözlenmiştir.

Çizelge 4. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 10 Tuzlu Besiyerinde Bakteriyal Üreme Sonuçları

İZOLAT	BI			BII			BIII			BIV			BV			BVI			BVII		
	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
46	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
49	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
51	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
52	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
54	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
55	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
56	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-

(-) gelişim gözlenmemiştir

(+) gelişim gözlenmiştir.

Çizelge 5. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında Tuzsuz Besiyerinde Fungal Üreme Sonuçları

İZOLAT	BI			BII			BIII			BIV			BV			BVI			BVII		
	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1
57	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
58	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
59	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
60	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
61	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
62	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
63	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
66	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
67	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
68	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
69	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
70	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
71	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-
72	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
73	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
74	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
77	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
78	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-

(-) gelişim gözlenmemiştir.

(+) gelişim gözlenmiştir.

Çizelge 6. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 5 Tuzlu Besiyerinde Fungal Üreme Sonuçları

İZOLAT	BI			BII			BIII			BIV			BV			BVI			BVII		
	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1
79	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-
80	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
81	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
82	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-
83	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-
84	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
85	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
86	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
87	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
88	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
89	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
90	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
91	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-
92	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+
93	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-
94	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
95	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+
96	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
97	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
98	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+
99	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
100	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+
101	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
102	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-

(-) gelişim gözlenmemiştir.

(+) gelişim gözlenmiştir.

Çizelge 7. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 10 Tuzlu Besiyerinde Fungal Üreme Sonuçları

İZOLAT	BI			BII			BIII			BIV			BV			BVI			BVII		
	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1	0,001	0,01	0,1
103	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
104	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
105	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
106	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
107	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
108	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-
109	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
110	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
111	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-
112	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
113	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
114	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
115	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
116	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
117	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
118	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
119	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
120	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
121	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
122	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-

(-) gelişim gözlenmemiştir.

(+) gelişim gözlenmiştir.

4.2. Tartışma

Deri endüstrisinde özellikle bazı bakterisid ve fungusidler uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Bilindiği gibi mikroorganizmalar ya kendiliğinden ya da zaman içerisinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirebilmektedir. Deri endüstrisinde probleme neden olan ve işlem sınırlarında bulunan mikroorganizmalar da kullanılan biyosidlere direnç geliştirmiş olabilirler. Bu nedenle, bu çalışmada ülkemizde uzun zamandır sıklıkla kullanılan 7 farklı biyosidin deri işlenti sınırlarından izole edilen mikroorganizmalara etkinlikleri ve minimum kullanım konsantrasyonunun tespit edilmesi üzerinde durulmuştur.

Araştırmada oldukça ilginç sonuçlar elde edilmiştir. Bu bulgular biyosidler bazında sırasıyla önceki bulgularla karşılaştırılarak sonuçlar irdelenmiştir.

Biyosid BI, kuarternize edilmiş bileşiklerden oluşan ve bir bakterisid olarak tanımlanan bir formülasyondur. Ham deri ağırlığı üzerinden % 0,3- 0,5 kullanımı önerilmektedir.

Biyosid BVII, ditiyokarbomad sodyum tuzunun sulu çözeltisi olup bakterisid olarak belirtilmektedir. Ham deri ağırlığı üzerinden % 0,05-0,1 ve flote hacmi üzerinden 300 ppm olarak kullanımı önerilmektedir.

Araştırmada kullanılan bu iki biyosid prospektüslerinde belirtildiği gibi bakterisid olarak tanımlanmaktadır. Araştırma bulgularına göre Biyosid I % 0,001 kullanım konsantrasyonunda bakteri izolatlarının % 83' üne karşı etkili bulunmuştur, % 0,1 konsantrasyonda da %10 tuz içeriğinde gelişim gösteren funguslar hariç fungus izolatlarının % 93' üne karşı etkinlik göstermiştir. Bu nedenle söz konusu biyoside çalışılan bakteri izolatlarının duyarlı oldukları söylenebilir. Biyosid VII ise % 0,01 kullanım konsantrasyonunda bakteri izolatlarının % 89' una karşı etkili olmuştur. Yine aynı biyosid ancak 10 kat yüksek bir konsantrasyonda kullanıldığında fungus izolatlarının % 77' sine karşı etkili bulunmuştur.

Sonuç olarak biyosid BI ve BVII'in sırasıyla % 0,001 ve % 0,01 düşük kullanım konsantrasyonlarında bakterisid etki gösterdikleri ve prospektüs bilgisi ile araştırma bulgularının uyum içerisinde olduğu söylenebilir. Ek olarak bu biyosidlerin %0,1 konsantrasyonda da fungus izolatlarının % 78' ine karşı da etkili olabileceği ortaya konulmuştur.

Günümüzde ıslatma-yumuşatma basamağında yaygın olarak organo-sülfür, kuarternar amonyum, organo-brom ve organik S-CN (thiocyanate) esaslı ticari bakterisidler kullanılmaktadır (Anonim, 2008). Ayrıca didecyldimethylammonium

chloride, sodyum dimethyldithiocarbamate, N-hydroxymethyl-N-methyldithiocarbamate ve tetrahydro-3,5-dimethyl-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione deri endüstrisinde kullanılan diğer bazı antimikrobiyal maddelerdir. Bu bakterisidler arasında hızlı etki gösteren kuarternar amonyum tuzu olan didecyldimethylammonium chloride bileşiği, düşük bir toksisiteye sahip olduğundan ve biyolojik olarak ayrıştırılabildiğinden dolayı deri endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Anonim, 2004).

Ülkemiz deri sektöründe kullanılan altı bakterisidin farklı konsantrasyonlarının toplam aerobik mezofil, proteolitik, halotolerant bakteri ve aerob spor sayısı üzerine yapılan bir çalışmada kuarternize edilmiş bileşik kombinasyonunun diğerlerine göre daha etkili olduğu bulunmuştur (Meriçli Yapıcı ve diğ., 2004).

Tabaklama öncesi işlemlerde bakteri ve fungus sayısının tespiti üzerine yapılan başka bir çalışmada, yumuşatma basamağında bakterisid olarak % 0,4 oranında kuarternar amonyum esaslı bir bileşik kullanılmıştır. Araştırma sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kullanılan bileşiğin bakteri sayısını yaklaşık olarak yarı yarıya düşürdüğü ve bakterisid kullanımı ile birlikte fungus sayılarında azalma olduğu tespit edilmiştir (Bilgi, 2007).

Araştırmacıların biyosid I'in bakteri gelişiminin kontrolünde yüksek etkiye sahip olması, hem bakterisid hemde fungusid özellik göstermesi ile ilgili ifadeleri araştırmamızın sonunda elde edilen biyosid I sonuçlarını destekler nitelikte bulunmuştur.

Biyosid B II, thiocyanic asit esaslı bakterisid olarak tanımlanmakta ve ham deri ağırlığı üzerinden % 0,2 kullanımı tavsiye edilmektedir.

Araştırma sonuçlarına göre biyosid II %0,001 kullanım konsantrasyonunda bakteri izolatlarının % 85' ine karşı etkili bulunmuştur. Fungus izolatlarının da % 90' ına %0,01 oranında etkili bulunmuştur.

Biyosid BIII, benzothiazol türevlerinden oluşan bir fungusid olarak tanımlanmaktadır. Tola ağırlığı üzerinden %0.05 kullanımı önerilmektedir. Biyosid BIV, TCMTB esaslı fungusid olarak tanımlanmaktadır.

Biyosid III ve B IV Her ikisi de fungusid olarak tanımlanmasına rağmen araştırmada çalışılan bakteri izolatlarının % 93' üne karşı etkili oldukları için iyi bir bakterisid olarak kullanılabiliceği söylenebilir. Fungus izolatlarına ise ancak 10 kat yüksek bir konsantrasyonda etkinlik tespit edilmiştir.

BII biyosidi prospektüs bilgilerine göre bakterisid olarak tanımlanmasına karşın araştırmamızda deriden izole edilen birçok fungusa düşük denilebilecek bir konsantrasyonda etkili olduğundan fungusların kontrolün de kullanımı söz konusu olabilir.

BIII ve BIV biyosidlerinin fungusid olarak kullanımı önerilmesine rağmen yine çalışmamızda bu biyosidlerin bakterisid olarak da kullanılabilceği ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak Biyosid BII, BIII ve BIV hem bakterisid hem de fungusid özelliği gösterdiklerinden bakteri ve fungusların kontrolünde kullanılabilir.

Deri endüstrisinde yirmi yıl öncesine kadar, paranitrophenol (PNP) ve pentachlorophenol (PCP) esaslı bileşikler fungusid olarak kullanılmışlardır (Hauber ve Germann, 1997; Didato ve Yanek, 1999; Adminis ve ark., 2001). Ancak bu bileşikler son derece toksik olduklarından dolayı bunların kullanımından vazgeçilmiştir (Barlas, 1992; Anonim, 1992). Bunun ardından TCMTB (2-thiosiyanometilthio-benzothiazol), OPP (o-phenylphenol) gibi yeni bir takım bileşikler üzerinde durulmaya başlanmıştır (Annamalai ve diğ., 1997).

Fungusların kontrolünde PNP ve PCP kullanımından sonra daha az toksik bazı fenollü bileşikler ile (PCMC, OPP, TCP) heterosiklik bileşikler (TCMTB ve OITZ, BMC, MBT ve SPT) kullanılmış ve halen kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda bakterisid ve fungusidlerin etkinliğini arttırmak amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmaktadır.

Muthusubramanian ve diğ. (2003), deri endüstrisinde antimikrobiyal madde olarak kullanılan Methylene bistiocyanate bileşiğini çevreye dost hammaddeler kullanarak yeniden sentezlemişler ve TCMTB ile belirli oranda karıştırarak kullanmışlardır.

Muthusubramanian ve Mitra (2005a), deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan TCMTB sentezinde önemli bir ara ürün ve aynı zamanda bir antimikrobiyal madde olan bromochloromethane (BCM) bileşiğini geliştirdikleri basit bir yöntem ile toksik olmayan ham madde kullanılarak düşük atık teknolojisine uygun olarak sentezlenmişlerdir.

Derinin konservasyonunda fenolsüz ürünlerin kullanılması ile pozitif sonuçlar elde edilmiş olmakla beraber, günümüzde deri konservasyonunda daha az zararlı olan fenolik esaslı bileşikler hala kullanılmaktadır (Anonim, 1991). Son 20 yılda deri endüstrisinde fenolik esaslı bileşikler, heterosiklik bileşikler sıklıkla kullanılmaktadır (Lindner, 1998; Anonim, 2004; Orlita, 2004; Bayramoğlu ve diğ., 2008).

Tabaklanmış derilerde sık rastlanabilen küflerin gelişimi üzerine çeşitli antifungal bileşiklerin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; pikle derilerde dört aylık bir koruma için % 0,04 ve % 0,05 oranlarında fenolik esaslı fungusid veya % 0,015 oranında TCMTB esaslı fungusid kullanılmasının uygun olacağı, kromlu deriler için ise % 0,015 fenolik esaslı veya TCMTB esaslı fungusid kullanımının gerekli etkiyi sağlayacağı tespit edilmiştir (Meriçli Yapıcı ve Karaboz, 1997).

Durmuş (2007), tabaklama ve sonrası yaş işlemlerde mikrobiyal yükün tespiti üzerine yaptığı bir araştırmada yumuşatma işleminde % 0,4 kuarternar amonyum esaslı bakterisid ve tabaklama işleminde % 0,05 Benzotiazol esaslı fungusid kullanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre bakterisidin kullanılması ve tabaklamanın etkisiyle bakteriler tamamen kontrol altına alınmıştır. % 0,05 konsantrasyonda kullanılan benzothiazol esaslı fungusid küf funguslarını kontrol etmiş ancak tamamen ortadan kaldırmamıştır.

Araştırmacıların çalışmalarından da anlaşıldığı üzere biyosid III ve IV hem bakterisid hemde fungusid özellik göstermektedir. Ayrıca çalışmalardan bu biyosidlerin halen aktif olarak deri endüstrisinde kullanımının yaygın olduğu anlaşılmaktadır. Araştırmamızda da biyosid III ile biyosid IV'ün bakteri ve fungus gelişimini engellediği, ve soz konusu biyosidlerin 30 yılı aşkın bir süredir hala birçok mikroorganizmaya karşı etkisini koruduğu bu çalışma ile ortaya konmuş ve araştırmacıların ifadeleri doğrulamıştır.

Biyosid VI, Octylisothiazolone esaslı fungusid olarak tanımlanmaktadır.

Biyosid VI bir fungusid olarak deri endüstrisinde kullanılmasına karşın kullanım konsantrasyonu dikkate alındığında bakterilere karşı daha etkili bulunmuştur. Bakteriler için %0,01 kullanım konsantrasyonu yeterli olurken funguslar için %0,1 konsantrasyonda etkinlik tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmamızın en yüksek konsantrasyonu olmasına rağmen bazı funguslara etkili olamadığı tespit edilmiştir. Biyosid VI prospektüsünde fungusid olarak tanımlanmaktadır. Ancak araştırma sonuçlarına göre daha düşük bir konsantrasyonda bakterilere oldukça etkili, %0,1 konsantrasyonda da funguslara karşı oldukça düşük etkinlik sergilemiştir. Çalışmamızda tüm işlem sıvılarından izole edilen fungus izolatlarının çoğunun Biyosid BVI ya dirençli olduğu söylenebilir. Biyosid BVI TCMTB' den sonra geliştirilen bir biyosid olup yine uzun süredir kullanılan antimikrobiyal maddeler arasındadır araştırma bulguları fungusların bu biyoside direnç geliştirmiş olabileceğini düşündürmüştür.

Meriçli Yapıcı (1998), bitkisel tabaklanmış derilerde sorun oluşturan küf enfeksiyonlarının bazı fungusidlerle kontrolü üzerine yaptığı çalışmada TCMTB esaslı (Gemacide BT3), Octylisothiazolone esaslı (Gemacide LFP) ve Octylisothiazolone ve TCMTB esaslı (Gemacide BT6) olmak üzere 3 ticari fungusid kullanmıştır. Test küfleri olarak *A. niger*, *A. fumigatus*, *P. purpurogenum* ve *P. chrysogenum* türlerinin kullanıldığı araştırma sonuçlarına göre Gemacide BT6' nın düşük kullanım konsantrasyonlarında diğer fungusidlere göre daha etkili olduğu bulunmuştur.

Biyosid BV biyosidinin içeriği prospektüste belirtilmemektedir. Araştırma sonuçlarına göre en etkisiz biyosid BV olmuştur. Piyasada aktif içeriği belirtilmeyen bir

çok biyosid bulunmaktadır. Bunlar kullanım güvenliği açısından mutlaka değerlendirilmelidir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda BI, BII, BIII ve BIV tüm tuz oranlarında %0,001 gibi araştırmamızın en düşük konsantrasyonunda bakterilerin % 83' üne etkili olmuştur. Böylece bu biyosidlerin düşük konsantrasyonlarda bakterilerin kontrolünde kullanımı tavsiye edilebilir.

BII, BIII ve BIV %0.01 konsantrasyonda fungus izolatlarının % 93' üne karşı etkili olduğundan bu biyosidler fungal gelişimin engellenmesinde de kullanılabilir.

Araştırma sonuçlarına göre BV'in hem bakterilere hem de funguslara etkinliği yok denecek kadar az olmuştur.

BVI %0,01'lik bir konsantrasyonda bakterilere oldukça etkili, %0,1 konsantrasyonda ancak oldukça az sayıda fungus izolatına etkin olabilmıştır. Deri endüstrisinde bu biyosid daha çok fungisid olarak kullanılmasına karşın tüm işlem sıvılarından izole edilen birçok fungus izolatının biyosid BVI ya dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Biyosid VII ise %0,01 kullanım konsantrasyonunda bakteri izolatlarının % 89' una karşı etkili olduğundan deri işlem basamaklarında bakterilerin gelişimini kontrol etmede kullanılabilir.

Araştırmada kullanılan biyosidler genel olarak funguslardan ziyade bakterilere daha etkili olmuşlardır.

%5 ve %10 tuz içeriğinde gelişim gösteren fungus izolatlarının büyük bir bölümünün BI, B VI ve B VII' nin tüm kullanım konsantrasyonlarına direnç gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu veri tuza gereksinim duyan fungusların bazı biyosidlere daha dirençli olduklarını ortaya koymuştur. Bu nedenle biyosid kullanılırken bu durumun dikkate alınması oldukça önemlidir. Çünkü araştırma bulgularına göre fungusları kontrol etmek için daha fazla çaba göstermek gerektiği ortaya çıkmıştır. İlk işlem basamakların itibaren bakterisid ve fungisid etkili bir biyosid kullanılması yanında pikle veya tabaklama aşamasında ikinci bir fungisidin kullanılması fungusların kontrolünde olumlu sonuçlar verebilir.

Yukarıdaki sonuçlarda verildiği üzere bakteri izolatlarının % 93' ü ve fungus izolatlarının da % 71' i BII, BIII ve BIV biyosidlerinin kullanılan tüm konsantrasyonlarına duyarlı bulunmuştur. Söz konusu biyosidler deri endüstrisinde uzun yıllardan beri kullanılmış olmalarına rağmen birçok mikroorganizmanın bu biyosidlere dirençli olmadığı tespit edilmiştir. Ancak araştırmamızda bazı izolatlar ve özellikle de fungus izolatları çalışmada kullanılan biyosidlerin bazılarında dirençli bulunmuştur. Bu nedenle bu

fungusların tanılanıp biyosidlere karşı oluşturdukları dirençlilik mekanizmalarının öğrenilmesi için gerekli çalışmaların yapılmasından sonra kontrol edilmeleri üzerine çaba gösterilmesi oldukça önemlidir.

Son yıllarda çevreye saygılı alternatif biyosidlerin keşfine çalışılmaktadır. Üzerinde durulan biyosidlerin deri işlem basamaklarından izole edilen mikroorganizmalar üzerine denenerek etkinliklerinin tespit edilmesi deri endüstrisinde mikrobiyal problemlerin çözümüne önemli katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Adminis U., Huynh C., Money C.A., 2001. The Need For Improved Fungicides for Wet-Blue. *International Union of Leather Technologists and Chemical Societies* 16. Congress.
- Annamalai T., Rajkumar, G.A., Arunasri, N., Rajkumar, S. and Perumal, P.T., 1997. Syntheses and Fungicidal Evaluation of Compounds Analogous to 1,3-Oxazine. *The Society of Leather Technologists and Chemists*, 81: 201-203.
- Anonim 1991. Konservierung in der Gerberei. Riedel-de Haen.
- Anonim 1992. "Pentachlorophenol-free Preservation." *Leather*, February. 20-22.
- Anonim 2000 May "Biocides Used as Preservatives in the Leather Industry." Product type:9 Emission Scenario Document 14p.
- Anonim 2004 June. Emission Scenario Document On Leather Processing Industry. *OECD Environmental Health and Safety Publications*.no:8.
- Anonim 2008 <http://www.buckman.com/eng/leather.html>.
- Anonim 2011a. http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium652.pdf
- Anonim 2011b. http://www.krabchemical.com/PDF/BIOCIDE_introduction_TEST_HPLC.pdf.
- Bailey G.D., 2003. The preservation of hides and skins. *J Am Leather Chem Assoc* 98:308-19.
- Barlas H., 1992. "PCP'nin Fiziksel ve Kimyasal Tanımı ve Teknolojisi." *Deri Dergisi*, İstanbul yıl:8, sayı:89.
- Bayramoğlu E.E., Gülümser G., Karaboz İ., 2008. The Investigation of Antibacterial Activities of Some Essential Oils in Wet Blue Leather. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 2(1): 33-36.
- Bilgi T., 2007. Tabaklama Öncesi İşlemlerden Bakteri ve Fungus Sayısının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Ç.O.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Bilgi T.S., Yapıcı Meriçli, B., 2008. Deri Endüstrisinde Mikroorganizmaların kontrolü. *Biga Değerleri Sempozyumu*. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayınları No:82 ISBN: 978-975-8100-88-0.
- Bilgi S.T., Meriçli Yapıcı B. and Yapıcı A. N., 2009. "Determination of Bacterial and Fungal Numbers in Floats of Pre-Tanning Operations," *Afr. J. Biotechnol.*, 8, 8, 1602-1607.

- Bitlisli B.O., Karavana, H.A., Bařaran B., Sarı, O., Yasa, I. ve Birbir, M. 2004. The Effect of Conservation Defects on The Suede Quality of Double-Face. *Journal of American Leather Chemists Association*, 99(12): 494-501.
- Birbir M., Kallenberger, W., Ilgaz, A. ve Bailey, D. 1996. Halophilic Bacteria Isolated From Brine Cured Cattle Hides. *Journal of Society of Leather Technologists and Chemists*, 80: 87-90.
- Braoudaki M., Hilton A.C., 2003. Adaptive Resistance to Biocides in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157 and Cross-Resistance to Antimicrobial Agents. *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 2004:73-78.
- Brown MRW, Gilbert P. Sensitivity of biofilms to antimicrobial agents. *Appl Bacteriol Symp Supp* 1993; 74: 87S-97S.
- Chaplin C.E., 1952. Bacterial resistance to quaternary ammonium compounds. *Journal of Bacteriology* 63, 453-458.
- Chapman J.S, 2003. Biocide resistance mechanisms. *International Biodeterioration & Biodegradation* 51 (2003) 133- 138.
- Cloete T.E., 2003 'Resistance Mechanisms Of Bacteria To Antimicrobial Compounds.' *International Biodeterioration & Biodegradation* 51: 277-282.
- Convington A.D., 1997. Modern tanning chemistry. *Chem Soc Rev.* 111-26.
- Çökmüş C. Ed ., 2010 . Mikroorganizmaların Biyolojisi 11: 677-681. ISBN: 978-605-5829-62-9. Ankara.
- Davies J.E., 1997. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. *Ciba Found Symp* 207:15-27.
- Denyer S.P., Stewart G.S.A.B, 1998. Mechanisms of Action of Disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation* 41 (1998) 261- 268.
- Didato D.T. ve Yanek S.S., 1999. Fungicides in Military Leather: an Additional Option for Tanners Producing Specification leathers. *Journal of Society of Leather Technologists and Chemists*, 94: 245-258.
- Durmuş D., 2007. Tabaklama ve Sonrası Yaş İşlemlerde Mikrobiyal Yükün Tespiti Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Ç.O.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.

- Ebner W., E. Meyer, C. Schulz-Huotari, R. Scholz, G. Zilow, and F.D. Daschner. 2005. Pseudocontamination of blood components with *Burkholderia cepacia* during quality controls. *Transfusion Med.* 15:241-242.
- Favero M.S., Bond W.W., 1993. The use of liquid chemical germicides. In: Morrissey RF, Philips GB, Eds. *Sterilization Technology. A practical Guide for Manufacturers and Users of Health Care Products*. New York: Van Nostrand Reinhold, 309-334.
- Fowler W.M., Russel A.D., Whiteley C.G., 1990. The Binding of TCMTB to (Busan 30L) to Hide Powder.
- Gilbert P., McBain A., 2003. Potential Impact of Increased Use of Biocides in Consumer Products on Prevalence of Antibiotic Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, Apr., p. 189-208.
- Gürğün V., Halkman, A.K. 1990. *Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri* (2.Baskı). Basım Grafik, Ankara. 146s.
- Halkman A.K., 1995. *Mikrobiyolojide Kullanılan Besiyerleri*. Armoni Matbaacılık, Ankara. 72s.
- Hauber C., Germann H.P., 1997. "The Addition of Fungicides in Chrome Tannage and Their Penetration, Absorption and Distribution in The Wet Blue." *World Leather*, May 75-82.
- Linder W., Neuber H.U., 1990. Preservation in the Tannery. *International Biodeterioration*, 26: 195-203.
- Lindner W., 1998. Wet Blue Preservatives Present and Future. *World Leather*. 61p.
- Lollar R.M., 1954. Para-Nitrophenol as a Fungicide for Leather. *American Leather Chemist Association* 9:605-624.
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J., 1997. "Microbial Growth." *Brock Biology of Microorganisms* (8th. Ed). Prentice Hall International, Inc. 149-172.
- Massi L., Guittard F., Geribaldi S., Levy R., Duccini Y., 2003. Antimicrobial properties of highly fluorinated bis-ammonium salts. *International Journal of Antimicrobial Agents* 21, 20-26.
- McBain J.A., Ledder G.R., Moore E.L., Catrenich C.E., Gilbert P., 2004. Effects of Quaternary-Ammonium-Based Formulations on Bacterial Community Dynamics and Antimicrobial Susceptibility. *Applied And Environmental Microbiology*, June, 3449–3456.

- McDonnell A.D. & Russell A.D., 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 147-79.
- Meriçli Yapıcı B., Karaboz İ., 1997. The Effect of Various Antifungal Compounds in the Growth of Molds That Frequently Appear on Tanned Leather. *Journal of American Leather Chemists Association*, 92: 37-45.
- Meriçli Yapıcı B., 1998. Bitkisel Tabaklanmış Derilerde Sorun Oluşturan Küf Enfeksiyonlarının Bazı Fungisidlerle Kontrolü. Doktora Tezi. E.Ü. Fen Bilimleri
- Meriçli Yapıcı B., Yapıcı A.N., Karaboz İ. Tozan M., 2004. "Deri Sektöründe Kullanılan Bazı Bakterisidlerin Etkinliğinin Tespiti Üzerine Bir Arastırma." I. Ulusal Deri Sempozyumu, İzmir, Türkiye. 77-88
- Muthusubramanian L., Sundara Rao V.S., Mitra R.B., 2001. Efficient Synthesis of 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole. *Journal of Cleaner Production* 9 65-67.
- Muthusubramanian N.L., Sundara Rao V.S. ve Mitra R.B., 2003. Convenient Synthesis of Methylene bithiocyanate As Microbiocide. *Journal of Cleaner Production*, 11(6): 695-697.
- Muthusubramania N.L., Mitra R.B., 2005a. A New Approach to The Synthesis of Bromochloromethane As A Biocide Intermediate. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 89(1): 34-35.
- Muthusubramania N.L., Mitra R.B., 2005b. A Cleaner Production Method For The Synthesis of Bronopol - A Bactericide That is Useful in Leather Making. *Journal of Cleaner Production* 2006. 14: 536-538.
- Nikaido H., 1994. Prevention of drug Access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* 264:382-388.
- Orlita A., 2004. Microbial Biodeterioration of Leather and Its Control: a Review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53: 157-163.
- Paulsen I.T., Park J.H., Choi P.S., Saier M.H., 1997. A family of Gram negative bacterial outer membrane factors that function in the export of proteins, carbohydrates, drugs and heavy metals from Gram- negative bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 156:1-8.
- Pelczar M. J., Chan E.C.S and Krieg N.R., 1993. Microbiology Concepts and Applications. International Edition McGraw-Hill, Inc.
- Russell A.D., 1998. Bacterial resistance to disinfectants: present knowledge and future problems, *Journal of Hospital Infection* 43:S57-S68.

- Russell A.D., 2002. Mechanisms of antimicrobial action of antiseptics and disinfectants: an increasingly important area of investigation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 49:597-599.
- Smith T.L., Jarvis W. R., 1999. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Infect.* 1:795-805.
- Stockman G., Didato D.T., Rangarajan R., 2006. Alternative Solutions For Fungal Protection Of Packaged Wet Blue. *American Leather Chemists Association*. July 26.
- Tattawasart U., Maillard J., Furr J.R., Russell A.D., 2000. Outer mebrane changes in *Pseudomonas stutzeri* resistant to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride. *Int J Antimicrob Agents*, 16:233-238.
- Taylor D.M., 1999. Transmissible degenerative encephalopathies. Inactivation of the unconventional causal agents. In: Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ, Eds. *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 3rd edn. Oxford: Blackwell Science, 222-236.
- Temiz A., 1996. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri* (2.Baskı). Şahin Matbaası, Ankara. 274s.
- Tenover F.C., 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. Atlanta, Georgia
- Weber D.J., Rutala William A.R., Bennet .S., E.E., 2007. Outbreaks Associated with Contaminated Antiseptics and Disinfectants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Dec. 2007, 4217-4224.
- White D.G., McDermott F.P. 2001. Biocides, drug resistance and microbial evolution, *Current Opinion in Microbiology* 4:313-317.

ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 1. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Olarak Kullanım Miktarları.....	12
Çizelge 2. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında Tuzsuz Besiyerinde Bakteriyal Üreme Sonuçları.....	30
Çizelge 3. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 5 Tuzlu Besiyerinde Bakteriyal Üreme Sonuçları	31
Çizelge 4. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 10 Tuzlu Besiyerinde Bakteriyal Üreme Sonuçları.....	32
Çizelge 5. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında Tuzsuz Besiyerinde Fungal Üreme Sonuçları.....	33
Çizelge 6. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 5 Tuzlu Besiyerinde Fungal Üreme Sonuçları.....	34
Çizelge 7. Biyosidlerin Farklı Konsantrasyonlarında % 10 Tuzlu Besiyerinde Fungal Üreme Sonuçları.....	35

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1. Biyosidlerin Etki Mekanizması.....	4
Şekil 2. Biyosidler İçin Potansiyel Targetler.....	5
Şekil 3. Dezenfektan Aktivitesi Seviyeleri.....	6
Şekil 4. Dezenfektanlara Kalıtım Yoluyla Azalarak Verilen Mikrobiyal Cevap.....	8
Şekil 5. Deri Üretim Süreci Ve Antimikrobiyal Madde Kullanımı.....	11
Şekil 6. Benzatiazol Ve TCMTB Bileşiklerinin Kimyasal Formülü.....	14
Şekil 7. Deri İşleme Yöntemi.....	24
Şekil 8. Bakteri İzolatlarının Ekiminin Yapıldığı Örnek Petriler.....	26
Şekil 9. Fungus İzolatlarının Ekiminin Yapıldığı Örnek Petriler.....	28

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı: Songül GÜMÜŞBOĞA

Doğum Yeri: Bakırköy/ İstanbul

Doğum Tarihi: 08/01/1987

EĞİTİM DURUMU:

Yüksek Lisans: 2009 - 2011 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisans: 2005 - 2009 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

İŞ DENEYİMİ:

Silivri Devlet Hastanesi (2007) – Stajyer Laborant

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (2007-2009) – Kısmi Zamanlı Öğrenci

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (2010) – Kısmi Zamanlı Öğrenci

Gökçeada Atatürk Anadolu Öğretmen Lisesi (2010) – Biyoloji Öğretmeni

İLETİŞİM:

hgumusboga_87@hotmail.com