149523

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

DERİ İŞLENTİSİNDE BAZI ESANSİYEL YAĞLARIN FUNGİSİD OLARAK KULLANIM ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Elif Eser EKE BAYRAMOĞLU

Deri Teknolojisi Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 501.11.01

Sunuş Tarihi: 11.06.2004

Tez Danışmanları: Prof. Dr. Gürbüz GÜLÜMSER

Prof. Dr. İsmail KARABOZ

Bornova-İZMİR

149523

Elif Eser EKE BAYRAMOĞLU tarafından DOKTORA TEZİ olarak sunulan **"Deri İşlentisinde Bazı Esansiyel Yağların Fungisid Olarak Kullanım Özelliklerinin Araştırılması"** başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi' nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 11.06.2004 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

	Adı soyadı	İmza
Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Gürbüz GÜLÜMSER	.....
Raportör Üye	: Prof. Dr. İsmail KARABOZ	.....
Üye	: Prof. Dr. Edip TEKER	.....
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Selime ÇOLAK	.....
Üye	: Yrd.Doç.Dr. Binnur MERİÇLİ YAPICI	

ÖZET

DERİ İŞLENTİSİNDE BAZI ESANSİYEL YAĞLARIN FUNGİSİD OLARAK KULLANIM ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

EKE BAYRAMOĞLU, Elif Eser

Doktora Tezi, Deri Teknolojisi Bölümü
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Gürbüz GÜLÜMSER
Prof.Dr. İsmail KARABOZ

Haziran 2004, 135 sayfa

Bu çalışmada, ***Origanum minutiflorum*** (kekik), ***Laurus nobilis*** (defne), ***Foeniculum vulgare*** (rezene) ve ***Schinus molle*** (yalancı karabiber) uçucu yağlarının deri işlentileri sırasında gelişen funguslara karşı fungisid olarak kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Çalışmada kontrol maksadıyla deri ağırlığı üzerinden %0.04 2-Thiocyano-methylthiobenzotiazole (TCMTB) ve % 0.02 N-octyl-isothiazolinone (N-OITZ) içerikli ticari fungisidler de kullanılmıştır.

Mikrobiyolojik testler sırasında deri endüstrisinde problem teşkil eden küf türlerinden ***Aspergillus niger, Alternaria alternata, Penicillium rubrum*** ve ***Trichoderma viride'***nin bu uçucu yağlar ve fungisidler karşısındaki gelişimleri incelenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda kekik uçucu yağının diğer uçucu yağlara nazaran daha kuvvetli bir antifungal etkiye sahip olduğu ve bu etkinin konsantrasyon arttıkça daha da fazlalaştığı gözlenmiştir. Yapılan tüm çalışmalar karşılaştırılınca, %2 oranında kekik uçucu yağı ile muamele gören derilerin bazı deney funguslarına karşı ticari fungisid içeren deri numunelerinden bile daha fazla dayanım kazandıkları tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Wet Blue, Pikle, Uçucu yağ, Funguslar, Fungisid, Origano.

ABSTRACT

STUDIES ON SOME ESSENTIAL OILS USING AS FUNGICIDES DURING LEATHER PRODUCTION

EKE BAYRAMOGLU, Elif Eser

PhD in Leather Technology
Supervisors: Prof. Dr. Gurbuz GULUMSER
Prof. Dr. Ismail KARABOZ
11 June 2004, 135 pages

In this study the applicability of ***Origanum minutiflorum*** (origano), ***Laurus nobilis*** (laurel leaf), ***Foeniculum vulgare*** (fennel) and ***Schinus molle*** essential oils as fungicide versus fungus which grows on leather during pickling and tanning processes are studied. In order to control the study, 0.04% 2-Thiocyano-methylthiobenzotiazole (TCMTB) and 0.02% N-octyl-isothiazolinone (N-OITZ) containing commercial fungicides are also used on pelt and shaved weight of leather.

During the microbiologic tests the growth of mold species that cause problems in leather industry like ***Aspergillus niger, Alternaria alternata, Penicillium rubrum*** *and* ***Trichoderma viride*** are investigated over against these essential oils and fungicides.

As a result of this study it was observed that the antifungal activity of origano essential oil is the strongest and the effect got stronger with increasing concentration rates. When all experiments done were compared, it was found that the leathers treated with origano essential oil were even more resistant against test molds than commercial fungicide containing leather samples.

Keywords: Wet Blue, Pickle, Essential oils, Fungi, Fungicides, Origano

TEŞEKKÜR

Öncelikle beni mikrobiyoloji ve biyoteknoloji konularında çalışma yapmam için yönlendiren ve eğitimimde fırsatlar sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Özcan SARI'ya, çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan, yol gösteren ve destek olan danışmanlarım Prof. Dr. Gürbüz GÜLÜMSER ve Prof. Dr. İsmail KARABOZ'a, çalışmalarımda bana çeşitli şekillerde yardımcı olan mesai arkadaşlarıma, mikrobiyolojik çalışmalarda bana yardımcı olan Tekin GEZER'e, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ATEŞ'e, Prof. Dr. Gülay TURHAN'a, Yrd.Doç.Dr. İhsan YAŞA'ya, Bayer firmasından Hartmut REHBEİN'e, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bölümü çalışanlarına ve EBİLTEM'e, maddi desteğinden ötürü Araştırma fon saymanlığına, deri işlentisinde kullandığım maddeleri temin etmemi sağlayan Lider Deri, Debağ Kimya, Gemsan ve Cognis firmalarına, Uçucu yağ temin etmemde bana yardımcı olan Türel Tarım'dan Özer TÜREL'e ve Eczacı Nazan ÖZAY'a teşekkürlerimi bildiririm.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....V

ABSTRACT.....VII

TEŞEKKÜR.....IX

ŞEKİLLER DİZİNİ.....XV

ÇİZELGELER DİZİNİ..... XIX

1 GİRİŞ.....1

2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....4

3 MATERYAL VE METOD.....25

3.1.Materyal.....25

3.1.1.Ham Deri.....25

3.1.2.Funguslar: 25

3.1.3. Besi yeri 25

3.1.4. Çözeltiler 25

3.1.5. Uçucu Yağlar ve Genel Bilgiler 26

3.1.5.1. Defne (***Laurus Nobilis)*** 26

3.1.5.2. Rezene (***Foeniculum vulgare)*** 28

3.1.5.3.Kekik (***Origanum minutiflorum.)*** 30

3.1.5.4. Yalancı Karabiber (***Schinus molle)*** 33

3.1.5.5. Uçucu Yağ Karışımları 35

3.1.6. Fungisidler 36

3.2.Metod 36

3.2.1.Derilerin İşlenmesi 36

3.2.2. Denemelerde Kullanılan Deri Örneklerinin Elde Edilmesi 39

3.2.3. Uçucu Yağların Kullanım Miktarları ve Derilerle Muamelesi . 39

3.2.4. Fungisidlerin Kullanım Miktarları ve Derilerle Muamelesi 39

3.2.5.Denemelerde Kullanılan Mikrobiyolojik Test Yöntemleri 39

3.2.6.Test Küflerinin Seçimi 42

3.2.7. Test Küflerinin Aktivasyonu 42

3.2.8. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması 42

3.2.9. Spor Sayımının Yapılması ve Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması 43

3.2.10. Besiyerli Petrilerdeki Deri Örneklerine Spor Süspansiyonlarının Aşılanması 43

3.2.11.Besiyersiz Petrilerdeki Deri Örneklerine Spor Süspansiyonlarının Aşılanması 44

3.2.12.İnkübasyon Sıcaklıklarının Tespiti 45

3.2.13.Besiyerli Petrilerde İnhibisyon Zonlarının Ölçümü ile Uçucu Yağlar ve Fungisidlerin Etkinliklerinin Tespiti 45

3.2.14.Besiyersiz Petrilerde Süreye Bağlı Olarak Uçucu Yağlar Ve Fungisidlerin Etkinliklerinin Tespiti 46

4 BULGULAR VE TARTIŞMA 47

4.1. Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması ve İnhibisyon Zon Değerleri 47

4.1.1. ***Trichoderma viride*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri 47

4.1.2. ***Aspergillus niger*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri 52

4.1.3. ***Penicillium rubrum*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri 56

4.1.4. ***Alternaria alternata*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri 61

4.1.5. Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Yapılan Denemelerin Bulguları ve Tartışma 66

4.2. Besiyersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması , Deneme Bulguları ve Tartışma 70

4.2.1. ***Trichoderma viride*** Spor Süspansiyonlarının Besi Yersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler **70**

4.2.2. ***Aspergillus niger*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerisiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler **74**

4.2.3. ***Penicillium rubrum*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerisiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler **78**

4.2.4. ***Alternaria alternata*** Spor Süspansiyonlarının Besiyersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler **81**

4.2.5. Besiyersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Oluşan Fungal Büyümeler **86**

4.3. Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması ve İnhibisyon Zon Değerleri **90**

4.3.1. ***Trichoderma viride*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri **90**

4.3.2. ***Aspergillus niger*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri **95**

4.3.3. ***Penicillium rubrum*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri **100**

4.3.4. ***Alternaria alternata*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri **103**

4.3.5. Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Yapılan Denemelerin Bulguları ve Tartışma **107**

4.4. Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması, Deneme Bulguları ve Tartışma **109**

4.4.1. ***Trichoderma viride*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerisiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler..... **109**

4.4.2. ***Aspergillus niger*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerisiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler..... **111**

4.4.3. ***Penicillium rubrum*** Spor Süspansiyonlarının Besiyerisiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler..... **113**

4.4.4. ***Alternaria altertnata*** Spor Süspansiyonlarının Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasındaki Fungal Büyümeler **115**

4.4.5 Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Oluşabilecek Fungal Büyümeler..... **117**

5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER 119

KAYNAKLAR DİZİNİ 124

ÖZGEÇMİŞ 135

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Sayfa

Şekil1.1.Defne *(Laurus Nobilis)*.....27

Şekil 1.2.Defne uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları 28

Şekil 2.1.Rezene (*Foeniculum vulgare*) 29

Şekil 2.2. Rezene uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları 30

Şekil 3.1. Kekik (*Origanum sp.*).....31

Şekil 3.2.Kekik uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları 32

Şekil 4.1.Yalancı karabiber (*S. molle*).....33

Şekil 4.2. Y. karabiber meyveleri.....34

Şekil 4.3.Yalancı karabiber uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları.....35

Şekil 5. Denemelerde kullanılan fungisidlerin kimyasal yapıları.....36

Şekil 6. Petri kabı yönteminde derilerin yerleşimi.....40

Şekil 7.Besi ortamı içermeyen petrilerdeki deriler.....41

Şekil 8. Petri kabında wet blue deri örneği.....44

Şekil 9.1.*Trichoderma viride* 48

Şekil 9.2.*Trichoderma viride* 48

Şekil 9.3. *Trichoderma viride* 48

Şekil 9.4. *Trichoderma viride* 49

Şekil 10.1.*Aspergillus niger*..... 55

Şekil 10.2. *Aspergillus niger* 56

Şekil 11. *Alternaria alternata* 63

Şekil 12. *Trichoderma viride*.....71

Şekil 13. *Aspergillus niger*..... 74

Şekil 14. *Alternaria alternata*.....82

Şekil 15. *Aspergillus flavus*.....87

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge Sayfa

Çizelge 1. Defne yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (TBAM 017/2000).....28

Çizelge 2. Rezene yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (TBAM 015/2000).....30

Çizelge 3.***Origanum minutiflorum*** uçucu yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (TBAM 005/2001).....32

Çizelge 4. ***Schinus molle*** uçucu yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (Başer vd.,1997).....34

Çizelge 5. Derilerin işlenmesi.....37

Çizelge 6. Koruma piklesi.....38

Çizelge 7. Kromla tabaklama.....38

Çizelge-8. *T. viride'nin* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....51

Çizelge-9. *A. niger'in* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....53

Çizelge-10: *P. rubrum'un* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....59

Çizelge-11: *A. alternata'nın* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....61

Çizelge-12- Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Fungus Aşılanması Yapılmadan Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....69

Çizelge 13- Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *Trichoderma viride* ile yapılan denemeler.....72

Çizelge 14- Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *A. niger* ile Yapılan Denemeler.....77

Çizelge 15- Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *P. rubrum* ile yapılan denemeler.....80

Çizelge 16- Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *A. alternata* ile yapılan denemeler.....84

Çizelge 17-Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde Fungus Ekimi Olmadan Yapılan Denemeler.....89

Çizelge-18- *T. viride'nin* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....93

Çizelge-19- *A. niger'in* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....98

Çizelge-20: *P. rubrum'un* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....101

Çizelge-21- *A. alternata'nın* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....105

Çizelge 22- Besiyerli Petrilerdeki Wet Blue Deri Örneklerine Fungus Aşılanması Yapılmadan Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri.....108

Çizelge 23- Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Trichoderma viride* ile yapılan denemeler.....110

Çizelge 24- Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Aspergillus niger* ile yapılan denemeler.....112

Çizelge 25- Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Penicillium rubrum* ile yapılan denemeler.....114

Çizelge 26- Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Alternaria alternata* ile yapılan denemeler.....116

Çizelge 27- Besiyersiz Petrilerde Wet-Blue Deri Örneklerine Fungus Aşılaması Olmadan Yapılan Denemeler.....118

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
GC-MS	Gaz kromotogrofisi-Kütle spektrofotometresi
MEA	Malt Ekstrakt Agar
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
N-OITZ	N-octyl-isothiazolinone
TCMTB	2-Thiocyano-methylthiobenzotiazole
TEM	Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji
OPP	Ortho-phenylphenol
PCMC	p-chloro-meta-cresol
PDA	Patates Dekstroz Agar

1 GİRİŞ

Türkiye'de deri sektörü ülke ekonomisi açısından önemli bir yere sahiptir. Sektör, büyük ölçüde ihracata ve turistlere yönelik faliyet gösterdiği için ülkeye net döviz girdisi sağlamaktadır. Emek yoğun bir üretim şekline sahip olması nedeniyle de geniş bir istihdam yaratma kapasitesine sahiptir. Katma değeri yüksek ürün ihraç etmekte olan sektör toplam imalat sanayinde %2, toplam istihdam içinde ise %1.5'luk paya sahiptir. 400.000 tonluk yıllık deri işleme kapasitesi ve faaliyette bulunan 1200 firma ile Türkiye'nin 10. büyük sanayi kolu konumundadır. Deri sektörü Türkiye'ye 2002 yılında 350 milyon dolarlık ihracat geliri sağlamıştır (Bektaş, 2003). Buna karşın deri sektöründe ihracatı olumsuz etkileyebilecek ve milli gelirleri düşürebilecek bazı hususlar vardır. Şöyle ki bu sektörün üretim basamaklarında çok farklı karakterde kimyasallar kullanılır ve her işlemin sıvı ve katı atıkları farklı özellikte kirlilik yüküne sahiptir. Günümüzde çevre bilincinin ve insan sağlığına verilen değerin artmasıyla deri işlemede kullanılan insan sağlığına ve çevreye zararlı kimyasalların kullanımı kaldırılmakta yahut sınırlandırılmaktadır. Bu amaçla temiz teknolojiler ve ekolojik deri üretimi yönünde yoğun çalışmalar sürdürülmektedir. İşlentilerin her basamağında kullanılan kimyasallar gözden geçirilmekte, doğal ve biyoteknolojik yöntemlerle üretilmiş yeni ürünlerin kullanımına yönelerek daha çevreci bir üretim yapılması yönünde çalışmalar ise önem kazanmaktadır.

Deri endüstrisinde kullanılan fungisidler de çevre ve insan sağlığına zararlı kimyasal bileşikleri içermektedirler. Yılda 400 bin ton deri işleme kapasitesine sahip olan ülkemizde bu kapasitenin kullanıldığını ve işlentilerde en az bir kere %0.02 oranında fungisid verildiğini varsayarsak bu yılda en az 8 bin ton fungisid etmektedir. Bunun anlamı da binlerce ton zararlı kimyasalın Türkiye'de çevreye verildiği anlamını taşır. Özellikle bu maddelerin kanserojen ve mutajen etkilerinin olduğu saptanmıştır (Anonoymus, 2002). Bunun yanı sıra deri

ürünlerini ihraç eden ülkeler satın aldıkları derilerde PCP'nin bulunmamasını ve diğer fungisidlerin de sınırlı bulunmasını şart koşmaya başlamışlardır (Adminis et al., 2001). Ancak protein yapısında olan deri, değişik işlem basamaklarında yüksek oranda su içermesi yanında, asit pH kazandığı pikle ve krom aşamalarında bekletme süreleri uzadıkça fungus gelişimi için elverişli bir madde özelliği kazanmaktadır. Bu aşamadaki derilerde ***Aspergillus sp., Penicillium sp.*** gibi değişik küf türleri izole edilmiştir (Krishnamurthy, 1968). Derilerde fungus gelişimi ile kalıcı renklenmeler ve kötü koku gibi zararlar meydana gelebilmektedir (Tancous, 1986; Reed, 1966). Derileri küf funguslarından korumanın en ideal yolu fungisidlerin kullanımı olmasına rağmen günümüzde kullanılan fungisidlerin kullanım oranlarının sınırlandırılması nedeniyle funguslara karşı etkin mücadele yapılamamaktadır. Daha da önemlisi funguslar bu maddelere karşı zamanla direnç kazanmakta ve çeşitli yeni fungus türleri ortaya çıkmaktadır (King et al, 2001; Gnanamani et al, 2003).

Bazı uçucu yağların antimikrobiyal etkisinin bulunduğu ve bu özelliklerinden dolayı gıda, eczacılık, diş hekimliği, fitopatoloji ve tıp gibi birçok alanda çalışmalar yapıldığı bilinmektedir. Bu çalışmanın temel amacı uçucu yağların deri işlentisinde fungisid olarak kullanılp kullanılamayacağını araştırmaktır. Çünkü uçucu yağların fungisid olarak kullanılan birçok kimyasalın aksine insan sağlığına zararlı veya mutajenik etkileri yoktur (Adam et al., 1998; Mamta et al., 2002). Yapılan literatür taramalarına göre uçucu yağların antimikrobiyal oluşları ile ilgili çok sayıda araştırma mevcut olmasına rağmen bugüne kadar deri işlentisinde fungisid olarak kullanılabilirliğine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Deri endüstrisinde uçucu yağların fungisid olarak kullanımı ile; deri sanayinde uygulanabilir yeni teknikler geliştirmek, günümüzde fungisid amaçlı kullanılan insan sağlığı için zararlı kimyasal maddelere alternatif bir ürün yaratmak, dolayısıyla çevre kirliliğini minimize etmek, insan

sağlığını ve ekolojik dengeyi korumak, işlentiler sırasında fungus gelişimini engelleyerek mamul deri kalitesini yükseltmek, ülkemizde doğal olarak bol miktarda yetişen veya tarıma elverişli olmayan yerlerde tarımı ve üretimi yapılabilecek bazı bitkileri ekonomiye kazandırmak gibi olanaklar sağlanabileceği ümit edilmektedir.

2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İnsanlar tarih boyunca rahat ve konforlu yaşamanın yollarını aramışlardır. İlk insandan bu yana deri çeşitli kullanım şekilleri ile insanoğluna hizmet vermiştir. Hayvancılığın bir yan ürünü olan deri başlangıçta atık bir ürün gibi görünse de işlenti sonrasında çok kıymetli bir ürüne dönüşebilmektedir. Buna rağmen ham derinin büyük bir dezavantajı vardır ki bu da organik yapısından ötürü mikroorganizma saldırısına karşı son derece elverişli oluşudur.

Sarı vd.(2003), ham derinin hayvanın sırtından yüzüldüğü andan itibaren mikroorganizma tehtidi altında olduğunu ve hatta çeşitli yöntemlerle konservelenen ham derilerin tabakhanelerde uygulanan çeşitli prosesler esnasında mikroorganizma hasarını engellemek için alınan önlemlere rağmen ki bunlar; koruma piklesi, kromla tabaklama, bitkisel tabaklama, krast ve hatta bitmiş derilerin bile mikroorganizmalar için bir besin kaynağı teşkil ettiğini bildirmektedirler.

Deri için zararlı mikroorganizmalar bakteriler ve funguslardır. İşlemler sırasında zaman zaman asit zaman zaman da bazik yapıda olan deri hem bakteriler hem de funguslarca zarara uğratılabilmektedir. Şöyle ki nötür durumda bulunan ham deri ıslatma işlemleri ile alkali pH'lara çekilirken bakteri zararına, pikle, tabaklama ve krast aşamalarında asit pH'larda bekletilirken de fungus zararlarına maruz kalabilmektedir. Bu çalışmada deriye zarar veren küf fungusları ile çalışıldığından daha çok bunlar üzerinde durulacaktır.

Funguslar yapılarında klorofil bulunmadığından kendileri için gerekli maddeleri üretememekte ve mutlaka bir besin kaynağına ihtiyaç göstermektedirler. *Funguslar beslenme için biraz organik madde ve biraz da rutubet buldukları zaman, eğer ısı şartları da elverişli ise hemen çevresindeki besin maddelerini kullanarak büyümeye başlamaktadırlar (Öner,1992).*

Fungusların gelişmeleri için gerekli elementlerin başlıcaları C, P, N, O_2, H, K, Mg ve S 'tür. Aminoasit ve vitamin gereksinimleri ise farklıdır(Çolakoğlu,1997).

Gerçekte deri içeriği nedeniyle mikroorganizmalar için ideal bir besin maddesi özelliğini taşır. *Bir derinin bileşiminde yer alan elementler incelendiğinde %50 karbon, %25 oksijen, %7 hidrojen, %17.8 azot ve % 0.2 de mineral maddelerden oluştuğu görülmüştür. Ayrıca taze ham derinin bileşenleri incelendiğinde %64 oranında su, % 30 protein, % 2.5-3.5 karbohidrat, % 2-2.5 yağ,% 0.3-0.5 mineral madde ve % 0.2-0.5 diğer maddelerden oluştuğu tespit edilmiştir (Harmancıoğlu ve Dikmelik, 1993).*

Derinin mikroorganizmalar için ideal besin maddesi özelliği taşıması yanında deri işlentisinin yapıldığı tabakhanelerdeki yüksek rutubet oranı da bekletme süreleri sırasında mikroorganizma gelişimini teşvik edici rol oynamaktadır. *Fungusların üremesinde en önemli faktörlerden biri de yeterli rutubetin substratta bulunmasıdır (Turhan,2000).*

Pikle ve kromlu derilerde bulunan %40-60 rutubet ile mamul derilerde %13-25 rutubet fungal gelişim için yeterli gelmektedir. Ayrıca ortamın rutubeti de fungus üremesinde etkilidir. Şöyle ki relatif rutubet % 70 den yukarı ise, higroskobik özellikte olan substratta rutubet miktarı düşük olsa bile zamanla küflenmeler ortaya çıkabilmektedir. Deriler sentetik liflerin aksine içinde bulundukları havanın rutubeti ile dengeye gelirler. Özellikle sıcak ve nemli ülkelerde deri ürünlerinde, sıklıkla taşıma sırasında fungusların geliştiği tespit edilmiştir (Anonymus,2001).

Deri işlentisi sırasında derileri uzun süre bozulmadan saklayabilmek amacı ile derilere yüksek oranda asit ve tuz verilerek koruma amaçlı pikle işlemi yapılmaktadır. Pikle işleminde kaliteli bir mamul deri eldesi için fungisid kullanma gereğini araştırıcılar çeşitli şekillerde izah etmişlerdir.

Alexander et al (1988), Derileri asit ve tuz ile pikle edilmesi işlemi ile gerekli ise bir yıl yada daha fazla süre depolamanın

yapılabileceğini bildirmişlerdir. Ancak fungusların uygun koşullar olduğunda pikle sonrası depolamada küçük problemler oluşturabileceklerini ve bitmiş deride istenmeyen pigmentasyon, boyama ve finisaj düzgünsüzlükleri ve yağlar kırıldığında da deri yüzeyinde yağ asit kusmaları gibi birçok çeşit zarara yol açabileceklerini söylemişlerdir.

Tancous (1986), pikle, büyükbaş ve küçükbaş derilerle yaptığı araştırmalar sonucunda özellikle küçükbaş derilerin pikle durumunda bekletildiği sürelerde derilerde fungus gelişiminin olduğunu tespit etmiştir. Pikle stoklarına saldıran fungusların çok çeşitli olduğunu ve bu nedenle de deriler üzerinde geliştiklerinde farklı renklerde pigmentler oluşturabildiklerini bildirmiştir. Araştırıcıya göre pikle derilerde fazla miktarda asit bulunsa da fungus gelişebilir ve fungus gelişimini engellemek için yüksek miktarda asitle pikle yapmak yerine etkin fungisidler kullanmak çok daha başarılı sonuçlar vermektedir.

Sharphause (1989), pikle işlemi ile bakteriyel zararın durdurulmasına rağmen fungus gelişiminin durdurulamayacağını ki bu fungusların, siyah, yeşil ya da beyaz renklenme ve daha önemlisi bitmiş deride parlaklık kayıplarının görülmesine neden olabileceğini bildirmiştir. Bunun nedeni olarak da fungusların genelde cilt yüzeyine saldırmaları ve düzensiz boyama olarak kendilerini göstermeleri olduğunu tespit etmiştir. Bu gelişime engel olmak için fungisidlerin kullanılmasını tavsiye etmiştir.

Pikle banyosunda %12-15 tuz ve 1.2-2.0 konsantre sülfirik asit olması tavsiye edilir. Fazla asit varlığı kollagenin parçalanmasına ve sararmaya az tuz mantar büyümesine sebep olur. Buna rağmen organik asitler daha yüksek pH değerlerine kıyasla mantar gelişimini kontrol eder ancak kollagen liflerine zarar meydana getirirler (Venkatachalam, 1962).

Bazı araştırıcılar yüksek asidik pikle banyoları kullanıldığında fungus gelişiminin inhibe edildiğini ve fungisid kullanımının gerekli olmadığını bildirmişlerdir (Unido,1976).

Buna rağmen bu durumlarda deride asit hidrolizi meydana gelir ve pikle derilerde düşük asit kullanımı tavsiye edilmez. Derilerde pH seviyesinin 1.4 ila 1.6 olması mantar gelişimini inhibe etmektedir ancak deri proteinlerindeki hidrolizler pH artışlarına sebep olabilir ve bu durum mantar için daha da idealdir. Bu nedenle deriler eğer üç haftadan daha uzun süre depolanacaksa fungisid kullanımı tavsiye edilmektedir (Alexander et al., 1988).

Annamalai et al. (1997), fungal büyümenin deri endüstrisinde genel bir problem olduğunu, fungusların deri üretim basamaklarının çeşitli safhalarında ortaya çıkabildiğini söyleyerek, bunların fungisidlerle kontrol edilebileceğini ve deri işlemede Pentachlorophenol'ün (PCP) bakteri ve fungusların kontrolünde kullanılan genel bir koruyucu olduğunu fakat bu bileşiğin toksisitesinin çevreye ve insana verdiği zararlar nedeniyle deri endüstrisinde kullanımının yasaklandığı , bunun yerine TCMTB (2-Thiosiyano-metilthio-benzthiazol), OPP (o-phenylphenol) gibi yeni bir takım bileşikler üzerinde durulduğunu belirtmişlerdir.

Deri işlentilerinin en can alıcı noktalarında birisi tabaklama işlemidir. Bu işlem sonrasında deri birçok etkilere karşı daha dayanıklı hale gelmiş bulunmaktadır. *Çeşitli tip ve özelliklerdeki tabaklama ve tabaklayıcı maddelerin sulu ortamda mekanik etkiyle deriye nüfuz ettirilerek kollagende bulunan serbest veya reaktif bağ yerleri ile fiziksel ve kimyasal anlamda reaksiyona sokulması sonucu doğal kollagen stürüktürünün sağlamlaştırılmasına veya kolay bozulamaz ve kullanılabilir forma dönüştürülmesi olayına tabaklama denir (*O'Flaherty et al., *1958; Sarı, 2003).*

Günümüzde derileri tabaklama işlemi için en çok krom tabaklama maddesi kullanılmaktadır. *Hausam (1963), kromla tabaklama sırasında deri üzerinde ya da banyo sıvılarında mikroorganizmaların daha az geliştiklerini belirtmiştir.*

Karaboz (2001), özellikle krom gibi ağır metallerin oligodinamik etkisinin var olduğunu ve bunların fungus gelişimini inhibe edici etkisinin bulunduğunu bildirmiştir. Ancak buna rağmen kromlu derilerde de küf fungusları gelişebilmekte ve deriye çeşitli şekillerde zarar vermektedirler.

Sharphause (1989), Kromla tabaklanmış derilerin depolama ya da taşınması sırasında uzun süre korunmalarını sağlamak için fungisid kullanılmasını tavsiye etmiştir. Bu tip derilerde fungusların saldırısının mümkün olduğunu ve deriler üzerinde değişik renkte pigment oluşturarak derilere zarar verdiklerini bildirmiştir.

Kromlu deride taşıma ya da depolama sırasında kırmızı pigment renklenmeleri oluşmuş ve bunların şu tip mantarlardan kaynaklanabileceği bildirilmiştir: ***Penicillium rubrum, P. aculeatum, P. purpurogenum*** *(Tancous,1986).*

Karaboz vd.(2003), pikle ve kromlu derilere farklı fungus türlerini aşılayarak yaptıkları çalışmalarda, fungusların derilerde kendi türlerine özel renklerde pigment üretebildiklerini görmüşlerdir.

Kromla tabaklanmış derilerde 23 farklı genus bulunmuştur, bunlar: ***Penicillium, Absidia, Acremomium, Aspergillus, Basipetospora, Byssochlomys, Chrysonilia, Cladosporium, Emericella, Eupenicillium, Euratum, Fusarium, Monoscus, Paecilomyces, Mucor, Moniliella, Neosortorya, Phialophora, Scopulariopsis, Stachobotrys, Trichoderma, Trichosporon*** ve ***Verticillium****'dur (Birbir vd., 1994).*

Araştırıcılar genelde deride en yaygın fungus cinsinin ***Aspergillus****, en yaygın bakteri türünün ise* ***Bacillus cereus*** *olduğunu tespit etmişlerdir(Tancous,1961).*

Funguslar yağları hidrolize ederek deriyi sertleştirici etkiye sahiptir. Özellikle de konserve edilmiş derilerde deri yapısı etkilenmemiş bile olsa uzama dayanımı düşecektir. Mantarların esas dezavantajları lekeleri ve sıklıkla enfekte olmuş materyalde bıraktıkları kokularıdır (Reed, 1966).

İster pikle ister krom aşamasında olsun fungusların deride gelişimi mamul deri kalitesini düşürerek ekonomik kayıplara yol açar.

Funguslar türce çok zengin mikroorganizmalardır. Bu nedenle ham deride olsun, depolanmış derilerde olsun hatta mamul derilerde olsun pek çok mantar türü ile karşılaşılmaktadır. Gerekli önlemler alınmadığı ya da alınamadığı taktirde meydana gelebilecek zararın büyük boyutlara ulaştığını görmek kimse için süpriz olmamalıdır (Harmancıoğlu ve Dikmelik, 1993).

Birçok endüstriyel ürünün üretiminde ve sonrasında mikroorganizmalar gelişerek ürünün zarar görmesine, ürünün bozulmasına kalite düşüklüğüne ve dolayısıyla ekonomik kayıplara yol açmaktadırlar. Avrupa'da toplam endüstriyel ürünlerin yaklaşık %2-5'inin mikroorganizmalar tarafından zarara uğratıldığı tahmin edilmektedir (Lindner, 1998).

Derinin doğal olarak mikroorganizmalar için uygun bir besin maddesi olması, yüksek oranda bünyesinde rutubet içermesi, ayrıca derilerin işlendikleri tabakhanelerde sulu ortamda çalışma ve yüksek rutubet ortamında depolama koşulları funguslar için ideal şartlar oluşturmaktadır. Buna müteakiben işlentiler sırasında özellikle derilerin uzun süre bekletileceği koruma piklesi ve kromla tabaklama aşamalarında derilere bir fungisid verilme zorunluluğu açıkça ortaya çıkmaktadır. Tabakhanelerde kullanılan fungisidler etkin olmalarına

rağmen çevre ve insan sağlığına zararlı aktif bileşenler içermektedirler ve bu kimyasalların kullanılmasına karşı hassasiyet gün geçtikçe artmaktadır.

Deri endüstrisinde bugün en çok kullanılan fungisidler TCMTB (2-Thiocyanatomethylbenzthiazole), N-OITZ (N-octil-isothiazolinone), OPP (orto fenil fenol), PCMC (p-chloro-m-cresol), Carbendazim, Merkaptobenzothiazole, Metilenbisthiosiyanat, TCP (tri-chlorophenol), p-Nitrophenol vs. gibi içeriklere sahip olanlardır.

TCMTB iyi fungisid etkinlikte ve dünya standartı olmasına rağmen kuvvetli hassaslaştırıcı, kuvvetli toksik, ürün etiketinde kuru kafa ve ölüm tehlikesi işareti vardır. Uzun süre koruduğu şüphelidir ve fungus saldırısı mümkündür. Çevrede yahut atık su ünitesinde 2-merkaptobenzothiazol'e reaksiyonu mümkündür ve alkali ortamda kimyası değişir. Polihalojenli fenollerin (PCP/ TCP / TBP) toksisiteleri nedeniyle kullanımları uygun değildir ve birçok ülkede ekotoksisiteleri nedeniyle yasaklanmıştır. P-Nitrofenol renklenme yapar. Merkaptobenzothiazol ABD'de kardiyojenik şüphe altındadır. Metilenbisthiosiyanatlar yüksek akut toksisiteye sahiptir. Karbendazimin mutajenik etki yaptığı şüphesi vardır. N-OIT hassaslaştırıcı, yüksek toksiktir ve sülfitler gibi belli sülfür içerikli maddelere karşı stabil değildir (Rehbein, 2002).

Carbendazim ve Thiabendazole benzimidazolere örnek olarak verilebilir. Bu grup geniş spektruma sahiptir. Birçok patojende benzer özellikler gösterirler. DNA ve RNA sentezlenmesine ve mitoz bölünmesine olumsuz etkide bulunurlar. Bu gruptaki ilaçlar insanlarda teratojenik (fetusta meydana gelen bozukluklara zemin hazırlayıcı özellikte olan) ve mutajenik (organizmada meydana gelen mutasyonlara zemin hazırlayıcı özellikte olan) belirtiler meydana getirirler (Ecevit vd., 1999).

Coulet et al. (2000), Thiabendazolün proteine kovalent bağlanması ve bağırsaklarla pasif taşınımının insan ve tavşan türevi hücreler kullanılarak açıklamasını yapmaya çalışmışlardır. Böylece bu maddenin insan vücudundaki olumsuz etkilerini incelemişlerdir.

Günümüzde deri endüstrisinde olduğu kadar birçok alanda hatta tarımda kullanılan OPP (o- pheylphenol) dahi Amerika'da Öneri 65 Güvenli Barınma Seviyeleri denen listeye 4 Ağustos 2000 tarihinde dahil edilerek, kanser nedeni olan maddeler listesine alınmıştır. Buna karşın ABD'de yaygın şekilde kullanılan iki üründen birinin üreticisi olan Bayer firması deri ürünlerinin yeterince korunması için ihtiyaç duyulan OPP konsantrasyonu belirleyerek bu oranda kullanımının risk yaratmayacağını savunmuştur (Anonymus,2002).

Sıklıkla birlikte kullanılan chlorosothiazolinone (CIT) ve metilisothiazolinone (MIT) Avrupa Birliği tarafından tahriş edici maddeler olarak sınıflandırılmıştır. Bu kombinasyonun 15 ppm'den daha fazla olduğu durumda Temmuz 2002 ye kadar bu durumu ifade eden Xi (R43) etiketi vurma zorunluluğu getirilmiştir (Blach, 2003).

Ayrıca bazı ülkeler daha ekolojik deri ürünlerini tercih etmekte ve zararlı kimyasalların kullanımına ilişkin bir takım sınırlandırmalar getirmektedirler. *Bazı Alman şirketleri eko etiketli derilerde TCP (Trichlorophenol) 'ün 1 ppm'den daha fazla bulunmasını sınırlamışlardır (Adminis et al., 2001).*

Kaliteli mamul deri eldesini için fungisid kullanım zorululuğuna karşın bu fungisidlerin zararlı etkilerinden dolayı sınırlı kullanımları yeni ve gelecekte çok daha büyük bir problemi de gündeme getirmektedir. *Bu problem fungisidlerin sınırlı kullanımları nedeniyle funguslarla tam olarak mücadele edilememesi, böylece fungusların direnç kazanmaları ve çeşitli yeni fungus türlerinin ortaya çıkmasıdır (King et al, 2001; Gnanamani et al, 2003).*

Günümüzde Dünya'nın birçok ülkesinde araştırmacılar kimyasal savaşıma alternatif olabilecek yöntemlerin arayışı içindedir. Bu tür çalışmalara paralellik gösteren biyolojik savaşım ve bitkilerden doğal ya da yapay yollarla elde edilen bir takım inhibitör maddeler yardımıyla patojenlerle mücadele yolu bu yöntemler arasında görülmektedir (Bell, 1977).

Biyolojik savaş, zararlılar ile mücadelede etkin hem de zararlı yan etkileri bulunmayan, çevreyi kirletmeyen, insan ve hayvan sağlığına zarar vermeyen bir yol olarak görülmektedir. *Bu nedenle biyolojik savaş araştırmaları birçok konuda tüm Dünya'da özellikle son yıllarda giderek yoğunluk ve önem kazanmaktadır (Campbell, 1989).*

Bitkilerin içerdikleri inhibitör maddelerin saptanması ve bunların yapay yollarla sentezlenerek, zararlı mikroorganizmalara karşı preparat olarak kullanılması çalışmaları bugün yoğun olarak sürmektedir (Bora, 1975; Kishore et al., 1982; Nath and Bordoloi, 1986; Weltzien and Ketterer, 1986).

*Bazı bitkiler antimikrobiyal etkiye sahip bazı uçucu yağlar içerirler. Turunçgillerdeki uçucu yağlar (sitral vb.) meyve kabuğunda yer almaktadır. Limon ve portakaldaki uçucu yağların belli konsantrasyonlarda bakterilerin ve **Aspergillus parasiticus**'un gelişimini ve bu küfün toksin oluşturmasını engellediği belirlenmiştir. Bazı baharat ve otlarda da antimikrobiyal etkiye sahip etken maddeler mevcuttur. Karanfil, tarçın ve adaçayındaki eugenol, sarmısak ve soğandaki alisin, tarçındaki sinnamik aldehit, hardaldaki isotiyosiyanat, adaçayı, kekik ve yabani kekikteki (oregano) timol ve karvakrol (isotimol), anasondaki anetol, vanilyadaki vanilin bunlara örnek olarak gösterilebilir. Karanfil ve yabani kekik ekstraktkları düşük konsantrasyonlarda bazı laktik asit bakterilerinin asit üretimi üzerinde uyarıcı etki yaparken, yüksek*

konsantrasyonlarda inhibe edici etki yaratmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Aslına bakılırsa uçucu yağların şifa verici etkileri ve antimikrobiyal özellikleri yeni bir keşif değildir aksine yüzyıllardır bilinmektedir ve kullanılmaktadır.

Eski Mısır'da mumyaların muhafazasında ve beslenmede anason, mercanköşk, kimyon, tarçın, karanfil gibi baharatlara başvurulmuştur. İslam uygarlıklarında 800-1100 yılları arasında önemli çalışmalar yapılmıştır. Dineveri (820-895), Biruni (973-1048), İbn Sina (980-1037), İbn Baytar (1197-1248), Davut el-Antaki (1541-1599) gibi çok ünlü alimler, özellikle tıp alanında baharat olarak kullanılan bitkilerin kullanımıyla ilgilenmişlerdir. Damıtmayla uçucu yağları ilk elde edenin İbn Sina olduğu Dünya tarafından kabul edilmektedir. O dönemler İran, başta gülyağı olmak üzere birçok uçucu yağın üretim merkezi olmuştur (Akgül, 1993).

Günümüzde uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri ile ilgili çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmıştır. Konumuzla ilgili bitkilerin uçucu yağları ile ilgili şu çalışmalar oldukça ilgi çekicidir:

Origanum* syriacum'** dan *elde edilen bitki ekstraktında bulunan karvakrol ve timol bileşiklerinin* ***Aspergillus niger, Fusarium oxysporum *ve* ***Penicillium sp.*** *üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Daouk et al., 1995).*

İçlerinde ***Origanum majoran*** *(kekik),* ***O. vulgare, O. syriacum, Eucalyptus globulus*** *(okaliptüs),* ***Pinus mugo*** *(çam) ve* ***Pinus sylvestris'inde*** *bulunduğu bir dizi bitkinin içerdiği yağların,* ***E. coli, Pseudomonas aureginosa, Bacillus subtilis ve Staphyloccocus aureus***'un *gelişimini engellediği saptanmıştır. Ayrıca yine aynı bitki yağlarının* ***Trichopyton mentagrophytes, T. rubrum ve Epidermophyton***

floccosum *üzerinde gelişmeyi inhibe edici sonuçları olduğu da yine aynı çalışmada bildirilmektedir (Janssen, 1989).*

Türkiye'nin güneyinde yetişen ve içlerinde ***Eucalyptus camaldulensis*** *ve* ***Origanum minutiflorum****'un da bulunduğu bitkilerin antifungal özellikleri üzerinde yapılan bir çalışmada gamma-terpin, p-simen, timol, karvakrol, 1-8 sineol, pulegon ve anetol gibi 20 değişik bileşiğin özellikle toprak kaynaklı funguslar olan* ***Fusarium moniliforme, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum ve Phytopthora capsici*** *gibi funguslara karşı etkili olduğu bulunmuştur (Mueller et al., 1995).*

Yapılan bir çalışmada ***Eucalyptus*** *bitkisinin yaprak ekstraktı* ***Aspergillus flavus, A. niger, A. fumigatus, A. terreus, A. parasiticus, Alternaria alternata, Fusarium oxysporium, Colletotrichum truncatum, Trichoderma viride*** *ve* ***Helminthosporium tericumunda*** *içinde bulunduğu 10 bitki patojeninin kontrolünde başarılı görülmüş ve ileri çalışmalar için umut verici görülerek tavsiye edilmiştir (Sing and Gupta, 1993).*

Rezene uçucu yağı ile ilgili yapılan bir çalışmada iki rezene bitkisi ***Foeniculum vulgare*** *uçucu yağı ve* ***Crithum maritimum*** *(deniz rezenesi) uçucu yağı alınarak GC-MS (Gaz kromotografisi-Kütle spektroskopisi) analizleri ve sonrasında antioksidan ve antibakteriyal etkilerine bakılmıştır. Araştırıcılar rezene bitkisinin antioksidan kapasitesinin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Antimikrobiyal olarak yaptıkları çalışmada ise; içinde hayvan ve bitki patojeni, gıda zehirlenmelerine neden olan ve bozucu etkisi bulunan 25 farklı bakteri genusunu denemişler ve sonuçta kullanılan iki rezenenin bakterilere karşı deniz rezenesinden daha yüksek ve etki alanı fazla inhibisyon oluşturduğunu tespit etmişlerdir (Ruberto et al., 2000).*

*Yapılan bir çalışmada 7 farklı uçucu yağın **Aspergillus fumigatus**'un uçtan hifsel gelişimi üzerine etkilerini incelenmişdir. İnhibisyon durumuna göre yağlar 3 gruba ayrılmıştır. Birinci grupta limon, lavanta ve çay ağacı, 2. grupta perilla ve limonotu yağı ve 3. grupta tarçın ve kekik yağı çeşitli konsantrasyonlarda uygulanarak fungusun gelişimine bakılmıştır (Inouye et al., 2000).*

*Labiatae türünden olan 4 bitkiden yabani kekik (**Origanum minutiflorum**) (Türkiye'de endemik), kekik (**Origanum onites**), kara kekik (**Thybia spicata**) ve yabani geyik otu (**Satureja cuneifolia**)'dan elde edilen uçucu yağların kimyasal yapıları ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı çalışmada, GC analizlerine göre en fazla içerdikleri madde karvakroldür. Bu oran **O. onites**'de %86.9, **O. minutiflorum'da** %84.6, **T. spicata'da** %75.5 ve **S. cuneifolia**'da %53.3 dür. Kağıt difüzyon metodu kullanılarak dört uçucu yağın **Aeromonas hydrophila, Bacillus amyloliquefaciens, B. brevis, B. cereus, B. subtilis, Corneobacterium xerosis, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Klebsiella pneumanaei, Listeria monocytogenes, Micrococcus luteus, Mycobacterium smegmatis, Proteus vulgaris, Staphylococcus aureus ve Yersinia enterocolitica'ya** karşı aktivitelerine bakılmıştır.Tüm uçucu yağlar <1/100 (v/v) olarak tüm bakterileri inhibe etmişlerdir. **T. spicata** uçucu yağı en fazla etkili olandır. Bu çalışma sonucunda bu dört uçucu yağın gıda sisteminde kullanılarak gıdada gelişen bakterilere karşı önlem alınabileceği ve işlenmiş gıdaların raf ömürlerinin uzatılabileceği sonucuna varılmıştır (Baydar vd., 2003).*

*Yunanistan'da endemik olan **Origanum scarum** ve **Origanum microphyllum**'un uçucu yağları elde edilerek GC ve GC/MS analizleri yapılmıştır. 48 bileşen tespit edilmiştir. Karvakrol, terpinen 4-ol, linalool, sabinen, alfa- terpinen ve gamma- terpinen temel bileşenler olarak bulunmuştur. Dahası da 6 gram negatif ve pozitif bakteriler ve 3 patojenik fungusa karşı antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu her iki örnektede tespit edilmiştir (Aligiannis et al., 2001).*

Yunanistan'da doğal olarak yetişen ***Origanum onites, Satureja thymbra, Salvia fructicosa*** *(Yunan adaçayı) ve* ***Salvia pomifera*** *bitkilerinin uçucu yağları ve bunların bileşenleri, karvakrol, kamfor ve 1,8 sineolün antifungal etkisi 13 fungal türüne karşı araştırılmıştır. Fungus türleri arasında gıda zehirlenmesi yapanlar, bitki, hayvan ve insan patojenleri vardır. Yağlar test funguslarına karşı çeşitli inhibisyon dereceleri ortaya çıkartmıştır. En fazla ve en iyi etkinlik karvakrol içeren yağlarda gözlenmiştir (****Origanum onites ve S. thymbra****). Bunun yanında adaçayı en az aktif olandır. Tüm komponentler test edildiği zaman karvakrol en yüksek ve 1,8 sineol en düşük antifungal etkinlik göstermiştir (Sokovicacute et al., 2002).*

Havada kurutulmuş yedi bitki türünden elde edilen uçucu yağlar GC-MS de incelenmişlerdir. ***Thymus vulgaris, Origanum vulgare ve Origanum dictamus*** *uçucu yağlarının fenolik içerikleri toplam yağın %65.8, 71.1 ve 78 olarak bulunmuşlardır.****Origanum majorana****'nın içeriği de %42.1 hidrokarbon, %24.3 alkol ve %14.2' si fenol olarak bulunmuştur.* ***Lavandula angustifolia*** *Mill. %58.8'si alkol ve % 32.7 si esterdir. Esterler sırasıyla %88.9 ve %78.olarak* ***Rosmarinus officinalis ve Salvia fruticosa'da*** *fazladır. Düşük konsantrasyonlarda bile* ***Thymus vulgaris, Origanum vulgare, Origanum dictamus*** *ve* ***Origanum majorana****'nın uçucu yağları* ***Penicillium digitatum****'un radyal büyümesini, spor üretimini tamamen inhibe etmiştir. Lavanta, biberiye ve adaçayı yağları ise* ***Penicillium digitatum'un*** *radyal büyümesini, spor üretimini daha az inhibe etmişlerdir.* ***Origanum vulgare*** *uçucu yağı hariç diğer tüm yağların da konidial üretime etkisi radyal büyümeye oranla daha etkili olmuştur. Farklı komposizyonlarda bulunan monoterpen bileşikler fungal inhibisyona daha fazla etki ediyorlarmış gibi görülmektedir (Daferera et al., 2000).*

Uçucu yağlarda yapılan inhibisyon testlerinde sadece az miktardaki madde, bakterileri, mayaları, dermatofitleri ve mantarları

250 ppm'in üzerindeki konsantrasyonlarda inhibe edici etkiye sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Bu uçucu yağ bileşenleri şunlardır: Sinnamik aldehit, 2-heptenal, 2-oktenal, 2-nonenal, 2-dekenal, nonanal, dekanal, sitral, geraniol, kavikol, timol, karvakrol, β ve γ-thujaplisin. Yapısal olarak alkali maddelere sesquiterpen, dialdehitler, 4-hidroksibenzoik asit, propil ve bütil esterleri ve bazı fenoller dahildir. Sesquiterpen alkoller ve yağ asitleri gram negatif bakterilere karşı gelişimini inhibe edici bir özellik göstermemiştir. Monoterpenlerin çoğu, özellikle uçucu yağ içerikli olanlar, düşük dozlarda normalde geniş spektrum aktivitesine sahip değildirler (Pauli et al., 2001).

Bazı uçucu yağların antifungal etkilerinin araştırıldığı çalışmada ***Foeniculum vulgare*** *en kuvvetli etkiye sahip olarak, tırnak enfeksiyonu yapan* ***Trichophyton rubrum, T. mentagrophytes ve Sctalidium dimidiatum*** *fungusların miselyal gelişimini tamamen inhibe etmiştir. Uçucu yağın fungisid etkili konsantrasyonları 0.2, 0.4 ve 0.5 µl/ml olarak bulunmuştur.Bu yağ tırnaklarda hastalık yapan* ***Aspergillus flavus, A. niger, A. fumigatus, A. ustus, Candida albicans, Epidermaphyton floccosum, Microsporum (Microsporum audouinii), M. canis, M. gypseum, M. nanum, Rhizopus nigricans (R. stolonifer), Trichophyton tonsurans*** *ve* ***T. violaceum'a*** *karşı da antifungal etkiye sahiptir. Dahasıda %5 konsantrasyona kadar memelilerin derisinde ve tırnağında ters bir etkisi görülmemiştir (Mamta et al., 2002).*

Origanum vulgare *subsp. hirtum,* ***Mentha spicata, Lavandula angustifolia*** *ve* ***Salvia fruticosa*** *uçucu yağları insan patojenlerinden* ***Malasaaezia furfur, Trichophyton rubrum ve Trichosporon beigelii'ye*** *karşı antifungal özellik göstermiştir. Dört yağ içinden* ***Origanum vulgare*** *subsp. hirtum 1/50000'lik seyreltmede 6 saatlik işlemde metabolik olarak aktif hücre sayılarında %95'lik azalma ile en iyi fungisidal etki göstermiştir. Dört yağın esas komponentleri arasından karvakrol ve timol en yüksek antifungal etki göstermiştir.* ***Origanum vulgare*** *subsp. hirtum uçucu yağı* ***T.rubrum*** *ile enfekte edilen fareler üzerinde denenmiş*

ve aynı sonuçları vermiştir. Dahası da tüm bu yağlar Ames testinden geçirilmiş ve hiçbir mutajenik etki göstermemişlerdir (Adam et al., 1998).

*Sicilya aromatik bitkilerinden defne (**Laurus nobilis**), adaçayı (**Salvia officinalis**), kekik (**Origanum vulgare**), biberiye (**Rosemarinus officinalis**) ve kişniş (**Coriandrum sativum**) uçucu yağları ticari olarak alınmıştır ve GC-MS analizlerinden sonra antibakteriyel, antifungal ve antioksidan özelliklerine bakılmıştır. 25 bakteri genusu ve bir fungal tür (**Aspergillus niger**) test organizmaları olarak kullanılmışlardır. Tüm mikroorganizmalara karşı uçucu yağlar yüksek oranda inhibe edici etki göstermişlerdir. En yüksek etki kekikte, en az etki adaçayında gözlenmiştir. Ayrıca kekik yağının en kuvvetli antioksidan etkiyi gösterdiği de yapılan çalışma sonucu tespit edilmiştir (Baratta et al., 1998)*

*Yapılan bir çalışmada **Schinus molle**'nin taze yapraklarından su buharı distilasyonuyla elde edilmiş yağ agar difüzyon testi ile antibakteriyel etkisine, hücre ve miselyum gelişiminin inhibisyon metodu ile antifungal etkisine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre şu bakterilerin aktiviteleri sınırlandırılmıştır: **Klebsiella pneumoniae, Alcaligenes faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Leuconostoc cremoris, Enterobacter aerogenes, Proteus vulgaris, Clostridium sporogenes, Acinetobacter calcoacetica, Escherichia coli, Beneckea natriegens, Citrobacter freuandii, Serratia marcescens, Bacillus subtilis** ve **Brochothrix thermosphacata**. Yağın etkili olduğu funguslar ise şunlardır: **Aspergillus ochraceus, Aspergillus parasiticus, Fusarium culmarum ve Alternaria alternata** (Gundidza, 1993).*

***Schinus molle** uçucu yağı ile yapılan çalışmada, hayvan patojenlerine karşı maksimum ve depo funguslarına karşı ılıman bir etki sağladığı gözlenmiştir. Yağın etkin konsantrasyonu 200-300 ppm'dir. Yağın etkisi 80 °C' de 90 gün sürebilir ancak otoklavlanırsa bozulur. Yağ dar bir aktivite grubuna sahip ve antifungal bir ilaçtan daha etkindir.*

Yağın 50 tane madde içerdiği bulunmuştur. Depolama sırasındaki şartlara göre antifungal etkinliğinde değişimler olabilir gibi görünmektedir (Dikshit and Husain, 1986).

Kekik uçucu yağında bulunan karvakrolün gıda kaynaklı bir patojen olan ve pirinçte gelişen ***Bacillus cereus'a*** *karşı olan antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Karvakrolün verilen dozla alakalı olarak gelişimi inhibe ettiği gözlenmiştir. 0.15 mg/g ve yukarısı gelişimi inhibe etmektedir, ayrıca inokülasyon miktarıyla da bu birbirine bağımlıdır. Üründeki karvakrol nedeniyle koku ve tadın azalması için yapı analoğu olan simenle kombine edilerek kullanımı araştırılmıştır. 0.30 mg/g karvakrol 0.27 mg/g simenle karıştırılmıştır. Sonuçta soya sosu gibi genel tat arttırıcılarda* ***B. cereus'a*** *karşı antimikrobiyal etkinlik artmıştır. Karvakrolün simen ya da soya sosu ile antimikrobiyal etkinliği tuz ilavesiyle etkilenmektedir (Ultee et al., 2000).*

Carum copticum *meyvelerinden elde edilen uçucu yağda yapılan GC-MS analizleri sınucunda 11 bileşik bulunurken, karvakrolün % 45.2 ve delta-simenin % 41.98 oranında olduğu tespit edilmiştir. Saf yağ* ***Phomopsis destructum, Aspergillus niger ve A.flavus*** *gelişimini inhibe etmektedir (Srivastava, 1999).*

Harman sonrası patojenler olan ***Penicillium digitatum, P. italicum*** *ve* ***P. ulaiense'in*** *gelişimini inhibe eden 200'den fazla mono ve sesquiterpenler, agar-plate difüzyon testleri yapılarak araştırılmıştır. En iyi fungisidal etki karvakrol gibi fenolik bileşiklerde ve bunların homologlarında tespit edilmiştir. Esterlenmiş komponentlerde örneğin anetol, metil kavikol ve safrolde ise az fungisidal etki gözlenmiştir. Monoterpen hidrokarbonlar kötü sonuç vermişlerdir. Birçok komponentin etkisi birkaç ay sürmüştür (Scora and Scora, 1998).*

Çiftlik hayvanlarının atıkları anoksik fermentasyon tamamlanmamışsa çok kötü koku yaymaktadırlar. Koku yayılımını ve

patojenleri engellemek için antimikrobiyal maddelerin verilmesi faydalı olabilmektedir. Doğal antimikrobik bileşikler karvakrol ya da timol 2.5 g/l verilirse istenmeyen kötü kokuların, isobütirat, valerat, isovalerat ve krezol oluşumunun ve özellikle kısa zincirli uçucu yağ asidlerinin azaltılması sağlanmaktadır ve domuz gübresinden gaz yayılımı düşmektedir (Varel, 2002).

***Coridothymus capitatus**'un yapraklarında su buharı distilasyonu ile uçucu yağ ekstrakte edilmiş ve GC-MS'de analizleri yapılmıştır. Uçucu yağda en fazla karvakrol (%35.6), p-simen (%21), timol (18.6), gamma-terpinen (%12.3), α-terpinen (3.2), beta-mirsen (%3) ve α-thujen bulunmuştur. Direkt termal GC-MS'de sonuçlar ise karvakrol (%51.6), timol (21.7), p-simen (%9.7), gamma-terpinen (%8.2.), α-terpinen (1.64) olarak bulunmuştur. **Coridothymus capitatus**'un uçucu yağı kuvvetli antibakteriyel etki göstermiştir (Gören et al., 2003).*

*İçlerinde **Origanum majorana , Origanum vulgare** ssp. hirtum, **Origanum syriacum** var. bevanii, **Eucalyptus globulus*** (okaliptüs), ***Pinus mugo** var. pumilio* (çam), ***P. sylvestris'inde** bulunduğu bir dizi bitkinin içerdiği yağların **S. aureus, P. aeruginosa, E.coli, Bacillus subtilis ve Candida albicans'**ın gelişimini engellediği saptanmıştır. Ayrıca yine aynı bitki yağlarının **Trichophyton mentagrophytes** var. interdigitale, **T.rubrum ve Epidermophyton floccosum** üzerinde gelişmeyi inhibe edici sonuçları olduğu da yine aynı çalışmada bildirilmektedir (Janssen, 1989).*

*Bu çalışmada kekik yağının in vitro ve in vivo antifungal özellikleri araştırılmıştır. 0.25 mg/ml de kekik uçucu yağının **Candida albicans'ı** kültürde tamamen inhibe ettiği tespit edilmiştir. İlaveten dozuna göre hem sporlanma hem de miselyal gelişim kekik yağı ve karvakrol kullanılarak inhibe edilmiştir (Manohar et al., 2001).*

*Yapılan çalışmada 16 uçucu yağ kullanılarak fırıncılıkta bozulma yapan yaygın funguslara (**Eurotium amstelodami, E. herbariorum, E. repens, E. rubrum, Aspergillus flavus, A.niger ve Penicillium corylophilum**) karşı antifungal etkilerine bakılmıştır. Tarçın yaprağı, karanfil, defne, limonotu ve kekik uçucu yağlarının içinde **Eurotium, Penicillium ve Aspergillus** genuslarının olduğu türlere karşı antifungal potansiyelerinin olduğu gösterilmiştir (Guynot et al., 2003).*

Bitkilerin uçucu organik bileşikleri doğadaki önemli karbon kaynaklarıdır. Araştırıcılar bu çalışmada temsilci olarak uçucu yağları ve nitratı elekron alıcı olarak kullanarak bu maddelerin zenginleştirilmiş kültürdeki aerobik mikroorganizmalarca bozulabilirliğini incelemişlerdir. Limon ve çam yaprakları yağları, mikrobiyal gelişimi desteklerken, maydanoz tohumu, kafur, adaçayı, rezene ve nane yağı da 2,2,4,4,6,8,8 heptametilnonan ile üzerleri örtülüp uçucu yağlar çözüldüğü zaman mikrobiyal gelişimi desteklemişlerdir. Kekik yağı çürümeyi desteklememiştir. Mikrobiyolojik olarak yağların parçalanması analizleri ile monoterpenlerin, birçok monoterpenoidlerin ve apiol ve mristisinin dahil olduğu metoksi-propenil-benzenlerin kaybolduğu sonucu ortaya çıkmıştır (Harder et al., 2000).

*Fas'da yetişen yedi Labiatae uçucu yağının kimyasal olarak GC-MS de analizleri yapılmış ve **Botyritis cinera'ya** karşı antifungal etkileri araştırılmıştır. Bunlar arasından **Origanum compactum** ve **Thymus glandulosus** misel gelişimini çok iyi inhibe etmiştir. Çalışmada yapılan yağların içerikleri de araştırılmıştır. **Origanum compactum** ve **Thymus glandulosus'**un temel bileşenleri timol ve karvakroldür ve her biri 100 ppm kullanıldığında %100 inhibisyon sağlayarak en kuvvetli antifungal ajanlar olarak tespit edilmişlerdir (Bouchra et al., 2003).*

*Yapılan çalışmada kekik **(origano ve thyme)**, mercanköşk, lavanta, biberiye, adaçayı, diktamus ve yarpuz bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar suni ortamda **Botritis cinera, Fusarium sp. ve Clavibacter***

michiganensis *subsp. michiganensis'ya karşı etkileri test edilmiştir. Ayrıca uçucu yağ kompozisyonları GC-MS ile tayin edilmiştir.* ***Bothritis cinera, Fusarium sp.*** *ve* ***Clavibacter michiganensis*** *subsp. michiganensis'in gelişimi kekik, dictamus ve mercanköşk uçucu yağları kullanıldığında göreceli olarak düşük konsantrasyonlarda bile (85-300 mg/ml) tamamen inhibe etmiştir. Kekik* ***(origano)*** *yağının ana bileşeni timol iken* ***thyme, dictamus*** *ve mercanköşk uçucu yağları karvakrolce zengindir. Lavanta, biberiye, adaçayı ve yarpuz uçucu yağları ise daha az inhibisyon aktivitesi göstermişlerdir. Test mikroorganizmaları konsantrasyon 1000 mg/ml'ye çıktığında gelişimlerinin etkilendiği gözlenmiştir. Lavanta uçucu yağında yüksek oranda linalol ve linalil asetat saptanırken, adaçayı ve biberiye yağının ana komponenti ökaliptol olarak bulunmuştur. Yarpuz'un ise uçucu yağı cis-meton ve pulegonca zengin olduğu sartanmıştır (Daferera et al, 2003).*

Thymus revolutus *Türkiye'nin endemik bir bitkisidir ve çiçekli kısımlarının uçucu yağ bileşenleri öncelikle GC-MS ile analiz edilmiştir. Buna göre 22 komponent bulunmakla birlikte karvakrolün baskın olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca uçucu yağ 11 bakteri ve 4 fungusa karşı farklı oranlarda uygulanmış ve antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Karaman vd., 2001).*

Kekik ***(origano)*** *uçucu yağı ve onun iki bileşiği olan timol ve karvakrolün* ***Pseudomonas aureginosa*** *ve* ***Staphylococcus aureus'a*** *karşı MİK konsantrasyonları modern teknikler kullanılarak araştırılmıştır. Yukardaki maddelerin etki mekanizmaları incelenmiştir. Karvakrol ve timol uygun oranda karıştırılarak kullanılabilirse, kekik uçucu yağının inhibisyon etkisi apaçık görülebilir. Bu tip bir inhibisyon membranın sağlamlığını bozar, dahası da pH' sını ve inorganik iyonların dengesini etkiler (Lambert et al., 2001).*

Mısır tanesinde gelişen ***Aspergillus flavus'a*** *karşı 11 bitkinin uçucu yağı test edilmiştir. Ayrıca mısır korunmasında optimum doz, uçucu yağ kombinasyonları ve bunların toksik özellikleri de araştırılmıştır.* ***Cinnamomum zeylanicum*** *(tarçın),* ***Mentha pipperita*** *(nane),* ***Ocimum basilicum****(fesleğen),* ***Teloxys ambrosioides*** *(epazotun*

kokulu kısmı), ***Syzygium aromaticum*** *(karanfil) ve* ***Thymus vulgaris*** *(kekik) uçucu yağları mısır tanesine karşı total inhibisyon sağlamışlardır. Özellikle timol ve o-metilsinnamaldehit mısır tanesine kontaminasyonu yüksek oranda engellemiştir. Mısır korumada optimal doz %3-5 dir.Tarçının diğer yağlarla kombinasyonu etkili olmuştur. Tarçının etki süresi 4 hafta sürmüştür. Bu yağların hiçbirinde bitkiye karşı zararlı ve mısırın gelişimine karşı olumsuz bir etki gözlenmemiştir (Montes and Carvajal, 1998).*

21 tane bitkinin uçucu yağlarının beş toprak patojeni olan ***Campylobacter jejuni, Salmonella enteritidis, E. coli, S. aureus ve Listeria monocytogenes'a*** *karşı, antimikrobiyal özelliklerine bakılmıştır. Defne, tarçın, karanfil ve kekik uçucu yağları % 0.075 ve daha az konsantrasyonlarda kullanılsalar dahi bu beş patojene karşı bakteriyostatik etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak bitki uçucu yağlarına karşı Gram-pozitif bakterilerin inhibisyonu Gram-negatiflere göre daha hassatır.* ***Campylobacter jejuni*** *uçucu yağlara karşı en dayanıklı olandır (Smith et al., 1998).*

Fakültatif anaeorobik ağız bakterilerine karşı uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerini tespit için yapılan çalışmada çay ağacı, adaçayı ve nane en etkin tespit edilirken, timol ve öjenol en çok potansiyele sahip uçucu yağ komponentleri olarak bulunmuşlardır (Shapiro et al., 1994).

AİDS'in son fazında karşılaşılan ***Cryptococcus neoformans*** *fırsatçı fungusuna karşı in vitro olarak birçok uçucu yağ inhibe edici özellik göstermişlerdir. Fenolik bileşikler içinden timol ve karvakrol en fazla antifungal madde olarak tespit edilmiştir. Terpenoidler, sitral, geraniol ve sitronellol en iyi aktiviteyi göstermişlerdir (Viollon and Chaumont, 1994).*

Origanum onites, Eucalyptus camaldulensis ve Pinus pinea *olarak bilinen üç bitki ekstraktının tek konsantrasyon ve beş yinelemeli alındığı denemede laboratuar gözlemleri kültür mantarında en önemli rekabet funguslarından biri olan* ***Papulaspora byssina'nın Origanum onites, Eucalyptus camaldulensis*** *tarafından %100 oranında kontrol edilebildiğini göstermiştir. Ancak bu ekstraktların kültür mantarı yetiştiriciliğinde en çok kullanılan* ***Agaricus bisporus****'un miselyal gelişimini de aynı oranda etkilediği bulunmuştur (Göre, 1997).*

Ceylan (1983), Günümüzde yetişen 300'e yakın bitki familyasından yaklaşık 1/3' ünün uçucu yağ içermekte olduğunu ve uçucu yağ taşıyan bitkilerin daha çok sıcak iklim bölgelerinde yetiştiğini söylemiştir. Ayrıca ülkemizi de içine alan Akdeniz Bölgesi'nin ise uçucu yağ taşıyan bitkiler bakımından en zengin bölgelerden birini oluşturduğunu bildirmiştir.

Ancak ne yazık ki Türkiye uçucu yağ bitkilerince zengin olmasına rağmen Dünya ticaretinde önemli bir yere sahip değildir (Bektaşoğlu, 2001).

3 MATERYAL VE METOD

3.1.Materyal

3.1.1.Ham Deri

Bu araştırmada tuzlu yaş konservelenmiş yerli ırk koyun ham derileri kullanılmıştır. Ham derilerin konservasyonu sırasında herhangi bir biosid kullanılmamıştır.

3.1.2.Funguslar:

Araştırmada kullanılan fungus türleri ASTM 4576/86-91 standartlarında bulunan ve literatürde deri endüstrisinde geliştiği bildirilen fungus türlerinden seçilmiştir. Bunlardan ***Trichoderma viride*** **(NRRL 1608)** ve ***Alternaria alternata*** **(NRRL 10593)** Yrd.Doç.Dr.İhsan Yaşa'dan, ***Penicillium rubrum*** Prof. Dr.Gülay Turhan'dan, ***Aspergillus niger*** ise E.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji A.D. (T.E.M) kültür stoklarından temin edilmiştir.

3.1.3. Besi yeri

Mikrobiyolojik çalışmalarda test funguslarının üretimi ve stoklanması amacıyla Malt Ekstrat Agar (M.E.A)(Merck) kullanılmıştır.

48 gram M.E.A. 1 litre saf suda çözüldükten sonra , otoklavda 121 °C' de 1.1 Atmosfer basınçta 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir (ASTM 4576-86/91). M.E.A hem antimikrobiyal bileşiklerin etkinlik tayinlerinde hem de stok kültürlerin muhafazasında kullanılmıştır.

3.1.4. Çözeltiler

Test küflerine ait spor solüsyonlarının hazırlanmasında NaCl-Tween 80 solüsyonu kullanılmıştır ve bu çözelti sayesinde sporların homojenizasyonu sağlanmıştır. Söz konusu çözelti içeriği aşağıdaki gibidir:

NaCl- Tween 80 solüsyonu:

NaCl	9 g
Tween 80	0.3 g
Saf su	1000 ml.

Yukarıdaki solüsyon fungus monokültürlerinin çalkalanmasında kullanıldıktan sonra, çalkalanmış fungus süspansiyonunu sulandırmada NaCl solüsyonu kullanılmıştır. Bu çözeltinin içeriği aşağıda verilmiştir:

NaCl solüsyonu:

NaCl	9 g
Saf su	1000 ml.

Her iki çözelti test uygulamasından en az bir gün öncesinden hazırlanmış bulunmaktadır (ASTM 4576-86/91).

3.1.5. Uçucu Yağlar ve Genel Bilgiler

Araştırmada uçucu yağ olarak ***Laurus nobilis*** *(defne),* ***Origanum minutiflorum*** *(kekik),* ***Schinus molle*** *(yalancı karabiber)* ve ***Foeniculum vulgare*** *(rezene)* uçucu yağları kullanılmıştır. Bunun yanında iki farklı uçucu yağ karışımı da hazırlanarak kullanılmış ve uçucu yağların sinerjik etkilerine bakılmıştır.

3.1.5.1. Defne (*Laurus Nobilis)*

Lauraceae familyasından, Akdeniz kökenli herdem yeşil 3-8 metre boylu, sarı-beyaz çiçekli küçük ve oval siyah meyveli, dioik ağaç veya ağaççıklardır. Bütün Akdeniz ve Karadeniz kıyılarında yabani olarak yetişirler. Defne diğer ılıman ve sıcak iklimli bölgelere adapte olmuştur, buralarda da yetiştirilir. Alt tür ve çeşitleri bulunur, çelik veya tohumla üretilebilir. Türkiye, Yunanistan, İspanya, Yugoslavya, Portekiz, İtalya, Fransa, Fas, Çin kaynak ülkelerdir.

Uçucu yağ bitkinin yapraklardan su buharı damıtımıyla elde edilen renksiz-açık sarı sıvıdır. Yaprağınkine benzer daha yoğun tat ve kokusu vardır. Özgül ağırlık (25 °C) 0.905 -0.925, optik çevirme (20 °C)

–10°/ -19°, kırılma indisi (20 °C) 1.465-1.470, çözünürlük (%80 etanol) 1 hacimdir. Başlıca bileşenleri 1,8 sineol, α terpinil asetat, öjenol+ metil öjenol, α terpineol, terpinen-4-ol, α pinen, β pinen, sabinendir. Kullanım alanları ise gıda, eczacılık, parfümeri ve kozmetikdir (Akgül, 1993).

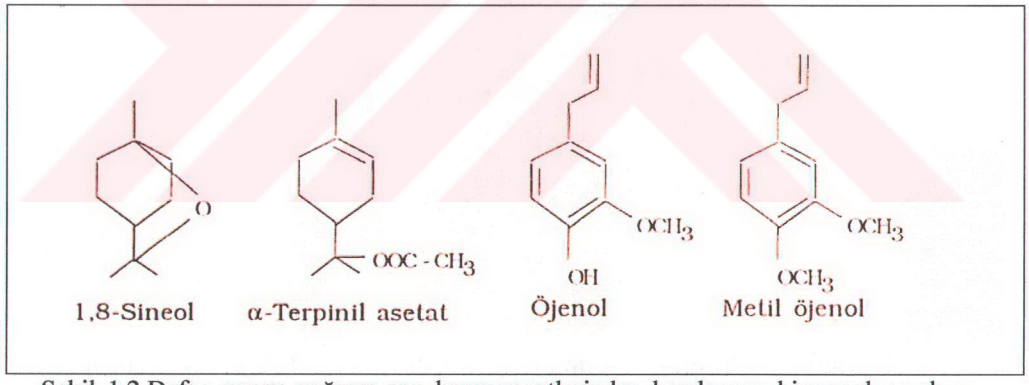


Şekil1.1.Defne ***(Laurus nobilis)***

Çalışmada kullanılan uçucu yağ Türel Tarım'dan (TT) temin edilmiştir. Bu yağ TBAM (Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi)' inde test edilmiş ve ana bileşikleri çizelge 1'de verilmiştir .

Çizelge 1.Defne yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (TBAM 017/2000)

Bileşik	Defne Yaprağı Yağı
1,8- sineol	56.7
α-terpineol / terpenil asetat	7.0
sabinen	6.8
α-pinen	4.9
β-pinen	3.6
terpinen-4-ol	2.5
p-simen	1.6
trans-pinokarveol	1.4
γ-terpinen	1.0



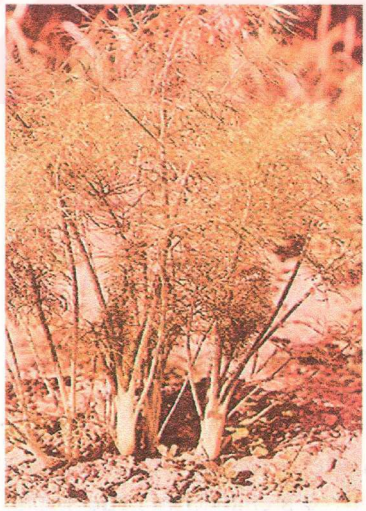
Şekil 1.2.Defne uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları (Akgül, 1993)

3.1.5.2. Rezene (*Foeniculum vulgare)*

Umbelliferae familyasındandır. Başlıca iki varyetesi önemlidir bunlar; var. vulgare (acı rezene) ve var. dulce (tatlı rezene)dir. Acı rezene Akdeniz kökenli, iki veya çok yıllık otsu, 1-2 m. boylu, silindirik

gövdeli, iplik şeklinde çok parçalı yapraklı, küçük sarı çiçekli; ılıman ve sıcak iklimlerde yabani ve bazen kültür, tohumla üretimi yapılabilir. Tatlı rezene de aynı özelliklerde; ancak boy daha küçük, kültürü yapılanlar yıllık veya iki yıllık, çoğunlukla kültür bitkisidir. Kaynak ülkeler ise İtalya, Almanya, Fransa, Japonya, Bulgaristan, Romanya, Türkiye, Yugoslavya'dır.

Uçucu yağ kurutulmuş meyvelerden su buharı damıtmayla , tatlıda %2-4 ve acıda %3-6 verimde alınan, renksiz- açık sarı sıvıdır. Baharatlı, hoş, anetolsü koku; acımsı, yakıcı lezzetlidir. Özgül ağırlık (25 °C) 0.953-0.973, optik çevirme (20 °C) +12°/+24°, kırılma indisi (20 °C) 1.528-1.538, toplam fenol en az %40, çözünürlük (% 90 etanol) 1 hacimdir. Yağlar oda sıcaklığında kristallenir, donar (anetol miktarına bağlı olarak). Tatlı rezene yağında bütün değerler daha yüksek ve aroma daha yumuşaktır (Akgül, 1993).

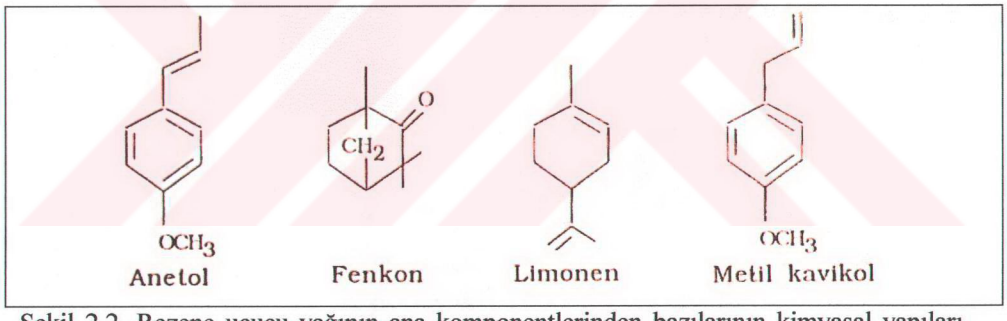


Şekil 2.1.Rezene (***F.vulgare***)

Çalışmada kullanılan rezene uçucucu yağı Türel Tarım'dan (TT) temin edilmiştir. Bu yağ TBAM (Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi)'inde test edilmiş ve ana bileşikleri çizelge 2'de verilmiştir .

Çizelge 2. Rezene yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (TBAM 015/2000)

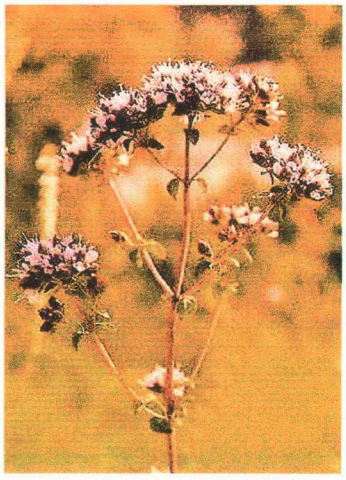
Bileşik	**Rezene Yağı**
(E)- anetol	73.7
limonen	9.5
karvon	6.5
Metil kavikol	3.2
anisaldehit	1.7



Şekil 2.2. Rezene uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları (Akgül, 1993)

3.1.5.3.Kekik (*Origanum minutiflorum.)*

Labiatae familyasındandır. Avrupa kökenli,çok yıllık,çalımsı,30-50 cm boylu, sık dallı gri-yeşil renkli, küçük yapraklı, pembe –beyaz sık çiçekli bir bitkidir. Ilıman ve sıcak iklimlerde yabani olarak yetişir ya da yetiştirilir. Tohum, ayırma ya da çelikle üretilir. Kaynak ülkeler: Türkiye, İspanya, Fransa, Fas, Suriye, Lübnan, Romanya, Polonya, Yugoslavya, Rusya, Tunus, Yunanistan, Cezayir, Mısır, Bulgaristan'dır.



Şekil 3.1. Kekik (***Origanum sp.***)

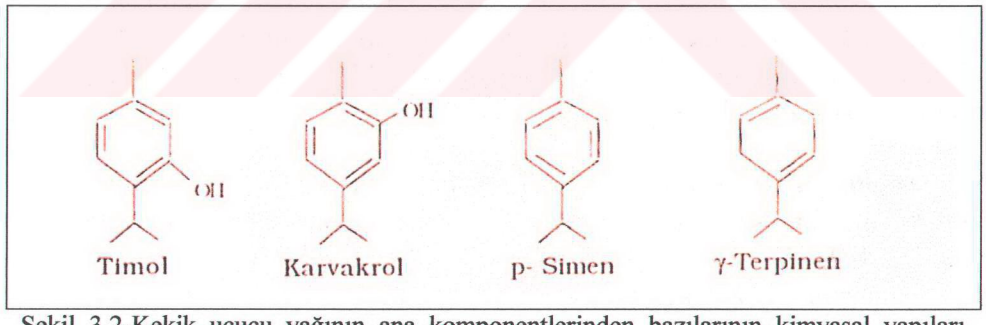
Uçucu yağ tüm bitkiden, su buharı damıtmayla kaynak ülkeye göre % 0.5-3 verimle elde edilen, sarı- kırmızı –kahve renkli sıvıdır. Kokusu baharatınkinden daha yoğun ve keskindir. Özgül ağırlık (25 °C) 0.910-0.935, optik çevirme (20 °C) 0°/-3°, kırılma indisi (20 °C) 1.495-1.505, toplam fenol en az %40, çözünürlük (% 80 etanol) 2 hacimdir. Başlıca bileşenler; timol, karvakrol, p-simen, γ terpinen, lindol, kamfendir. Timol kuvvetli bir antimikrobiyaldir. Gıda, eczacılık, kozmetik ve parfümeride kullanılır (Akgül,1993).

Origanum minutiflorum, Batı Torosların Isparta ve Antalya arasındaki dar bir şeridinde yayılış gösteren endemik, yani dünyada sadece bu bölgede yetişen bir kekik türüdür. Özellikle Isparta'nın Sütçüler kazasına bağlı köylerde ve Antalya'nın Saklıkent yöresinde 1500 m'nin üzerindeki yüksek yaylalarda bulunur. %1-4 arasında elde edilen uçucu yağda karvakrol oranı %42-84 arasındadır (Başer, 2001).

Çalışmada kullanılan kekik uçucucu yağı Türel Tarım'dan (TT) temin edilmiştir. Bu yağ TBAM (Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi)'inde test edilmiş ve ana bileşikleri çizelge 3'de verilmiştir .

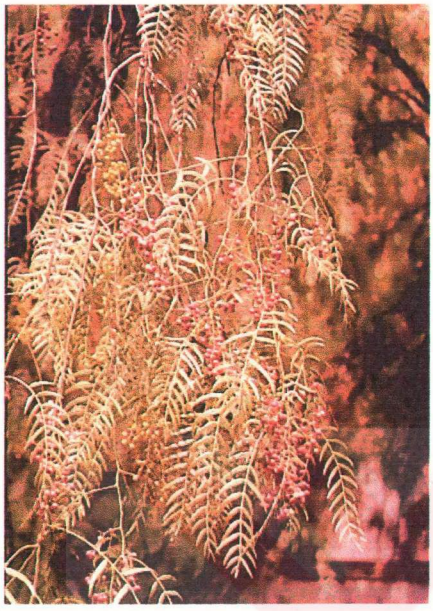
Çizelge 3- ***Origanum minutiflorum*** uçucu yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (TBAM 005/2001)

Bileşik	***O.minutiflorum*** **uçucu yağı** **%**
Karvakrol	78.8
γ -terpinen	3.7
p-simen	3.5
β-karyofillen	1.9
α-pinen	1.3
Mirsen/ α-fellandren	1.1
α-terpineol/ borneol	1.1
timol	1.1



Şekil 3.2-Kekik uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları (Akgül, 1993)

3.1.5.4. **Yalancı Karabiber (*Schinus molle)***

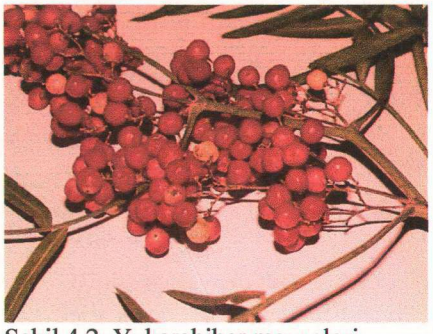


Anacardiaceae familyasındandır. Kaliforniya biber ağacı ya da Peruvian mastik ağacı olarak da isimlendir.7m veya daha fazla boylanabilen her dem yeşil ağaçlardır. Genel görünüşleri yuvarlak ve zariftir.Dalları sarkık, yaprakları tüysü, 20 cm. ya da daha uzun, yaprakçıklar 3-5 cm. uzunluğundadır. Çiçekleri konik salkımlarda sarımsı beyaz, meyveleri karabiber büyüklüğünde ve pembe renklidir. Amerika, Türkiye, Yunanistan vs. kaynak ülkelerdir.

Şekil 4.1.Yalancı karabiber (***S. molle***)

Uçucu yağ meyve ve yapraklardan su buharı damıtma ile elde edilir. Meyveye göre oldukça yoğun kokulu ve koyu sarı renklidir.Başlıca bileşenler: α- Fellandren, β- Fellandren, limonen, α-konidol vs. (Başer vd., 1997). İçinde yüksek oranda terpenoidler bulunduğundan ağızda yaralara yol açar.

Çizelge 4'de ***Schinus molle*** uçucu yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri ve şekil 4.3'de yalancı karabiber uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları gösterilmektedir.

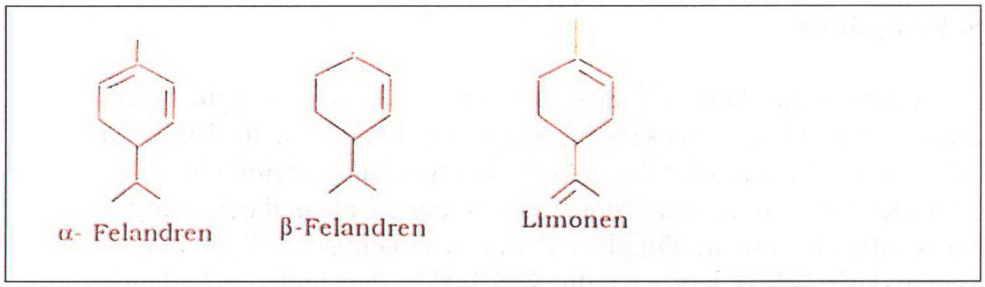


Şekil 4.2. Y. karabiber meyveleri

Çalışmada kullanılan ***Schinus molle*** uçucu yağı için Ege Üniversitesi kampüsü içinde bulunan ***Schinus molle*** ağaçlarından meyveleri toplanmıştır. Meyveler gölge bir yerde iyice kuruyana kadar bekletilmişlerdir. Daha sonra meyveler Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü harmanında öğütülmüşlerdir. Öğütülen örnekler EgeÜniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Tıbbi Bitkiler Araştırma Laboratuarında bulunan Neo Clevenger aparatında su buharı distilasyonuna tabi tutularak uçucu yağları elde edilmiştir.

Çizelge 4- ***Schinus molle*** uçucu yağının ana bileşikleri ve bileşiklerin relatif yüzdeleri (Başer vd.,1997)

Bileşik	***Schinus molle*** **uçucu yağı (meyve) %**
α- Fellandren	22.1-38.1
β- Fellandren	10.4-11.8
limonen	9.6-11.6
α- konidol	5.6-7.2



Şekil 4.3-Yalancı karabiber uçucu yağının ana komponentlerinden bazılarının kimyasal yapıları

3.1.5.5. Uçucu yağ karışımları

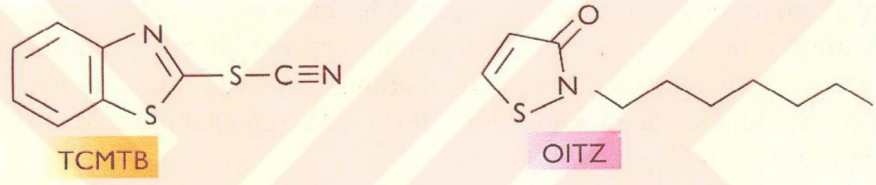
Engel teorisi olarak ifade edilen teoriye göre mikroorganizmaların kontrolünde iki veya daha fazla uygun fakat farklı tipteki antimikrobiyal madde konsantrasyonu optimal düzeyin altında kullanılırsa, bunlardan bir tanesinin optimal düzeyde kullanımına nazaran mikroorganizmalara karşı daha fazla etki sağlanabildiği ifade edilmektedir (Meriçli Yapıcı, 1998).

Bu teori göz önüne alınarak araştırmada uçucu yağların sinerjik etkilerini incelenmek için de çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada 2 farklı uçucu yağ karışımı kullanılmıştır. Bunlardan birincisi deri ağırlığı üzerinden % 0.5 kekik + % 0.5 defne + % 0.5 rezene uçucu yağ karışımıdır. İkinci karışım ise % 0.5 kekik + % 0.5 defne + % 0.5 yalancı karabiber uçucu yağlarının karışımından oluşmaktadır. Uçucu yağların bu şekilde kullanımı ile farklı komponentlerin birlikte sinerjik etkilerinin olup olmadığına bakılmıştır.

3.1.6. Fungisidler

Araştırmada kontrol amacıyla piyasada çok yaygın olarak kullanılan farklı iki aktif bileşene ait fungisidler kullanılmıştır. Bunlardan birincisi N-OITZ esaslı olan fungisitdir. Bu fungisid bileşiminde % 5 – 10 2-n-Octyl-4-isothiazolin-3-one içermektedir. Çalışmalarda Fungisid A olarak adlandırılmıştır. Fungisid B olarak adlandırılan diğer fungisid ise yapısında TCMTB içermektedir. Şekil 5'de denemelerde kullanılan fungisidlerin kimyasal yapıları gösterilmektedir.



Şekil 5. Denemelerde kullanılan fungisidlerin kimyasal yapıları

3.2.Metod

3.2.1.Derilerin İşlenmesi

Derilerin birinci grubu klasik koruma amaçlı bir pikle deri reçetesine uygun olarak işlenirken diğer gruba krom tabaklama işlemi uygulanmıştır. Bu reçeteler şöyledir:

Çizelge-5. Derilerin işlenmesi

Islatma:
% 1000 su 22 °C
% 0.05 Yağ giderme ajanı- 5 saat
Ön Etleme
Yumuşatma:
% 1000 su 22 °C
% 0.05 Yağ giderme ajanı-12 saat
Badana:
18 °Be'zırnık
28 °Be' kireç -3 saat
Yün yolma
Kireçlik:
% 300 su 22 °C
% 1 kireçlik yardımcısı
% 1.5 zırnık
% 3 kireç -15 dak.+12 saat
2.Kireçlik:
% 300 su 22 °C
% 2 kireç
% 0.5 zırnık-10 dak. 12 saat
Etleme
Kireç Giderme
% 200 su 30 °C
% 1 Amonyum sülfat -45 dak.
Sama
% 100 su 35 °C
% 0.5 Amonyum sülfat -10 dak.
% 1.5 Sama enzimi -45 dak. pH=8

Çizelge- 6. Koruma Piklesi

Yağ Giderme
% 1 Yağ giderici-20 dak.
+ % 150 su 30 °C -30 dak. Süz, yıka
Koruma Piklesi
% 80 su 12 °Be' 5 dak.
% 2 Formik asit- 30dak.
% 1 Sülfirik asit- 1.5 saat pH=1.5
Sehpala

Çizelge-7. Kromla Tabaklama

Pikle
%80 su 7 Be' 5 dak.
% 1 Formik asit- 30dak.
% 0.5 Sülfirik asit- 1.5 saat pH=3.0
Yağ Giderme
% 50 su 35 °C -10 dak.
6 °Be' tuz
% 1 sodyum asetat- 20 dak. pH=3
% 1 sodyum bikarbonat -45 dak. pH=4.2 Süz
% 10 Gaz -1 saat
% 100 su 35 °C Çalkala,süz.
% 100 su 35 °C
% 1 tuz
% 0.5 yağ giderme maddesi- 20 dak, Süz
% 300 su-3 sefer *10 dak.
Tabaklama
% 70 su 30 °C
6 °Be' tuz -5 dak.
% 1.5 formik asit-30 dak.
% 0.4 sülfürik -60 dak. pH=3
% 4 krom -45 dak.
% 4 krom- 2 saat
% 2.5 sodyum bikarbonat- 3 saat
pH=3.9 Süz,sehpala

3.2.2. Denemelerde Kullanılan Deri Örneklerinin Elde Edilmesi

Koruma piklesi ve kromlu deri örnekleri mikrobiyolojik analizlerde kullanılmak için standartlara uygun olarak paslanmaz çelikten mamul 3 cm çaplı şablonlarla kesilerek deneme numuneleri çıkartılmıştır. Şablonla derilerin çıkartılması öncesinde ve sonrasında tüm alet ve edavatlar (çalışma yüzeyi, makaslar, laboratuvar zımbası) etanol ile silinip alevle temizlenmiştir.

3.2.3. Uçucu Yağların Kullanım Miktarları ve Derilerle Muamelesi

Çalışmada kullanılan her bir uçucu yağ pikle ve krom aşamalarında ayrı ayrı wet blue ve pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 oranlarında deriye uygulanmışlardır. Uçucu yağların sinerjik etkilerinin tespiti için ise 2 farklı yağ kombinasyonu yapılmıştır. 1.grup; % 0.5 yalancı karabiber + % 0.5 kekik + % 0.5 defneden oluşurken 2.grup; % 0.5 rezene + % 0.5 kekik + % 0.5 defneden oluşmaktadır. Uçucu yağlar suda kendi başlarına çözülme özelliğine sahip olmadıklarından bunlar elektrolit stabilitesi olan ve 1/1 (v/v) olacak şekilde ticari bir yağ içinde emülsiye edildikten sonra derilere uygulanmışlardır.

3.2.4. Fungisidlerin Kullanım Miktarları ve Derilerle Muamelesi

Araştırmada kontrol amacıyla kullanılan fungisidler pikle veya krom aşamalarında olmak üzere, fungisidleri satan ticari firmaların kullanımlarını tavsiye ettikleri oranlarda yani bileşiğin denemelerde kullanımları ile fungus gelişimini inhibe edildiği bildirilen oranlarda; deri ağırlığı üzerinden TCMTB için %0.04 ve N-OITZ için %0.02 olarak kullanılmıştır.

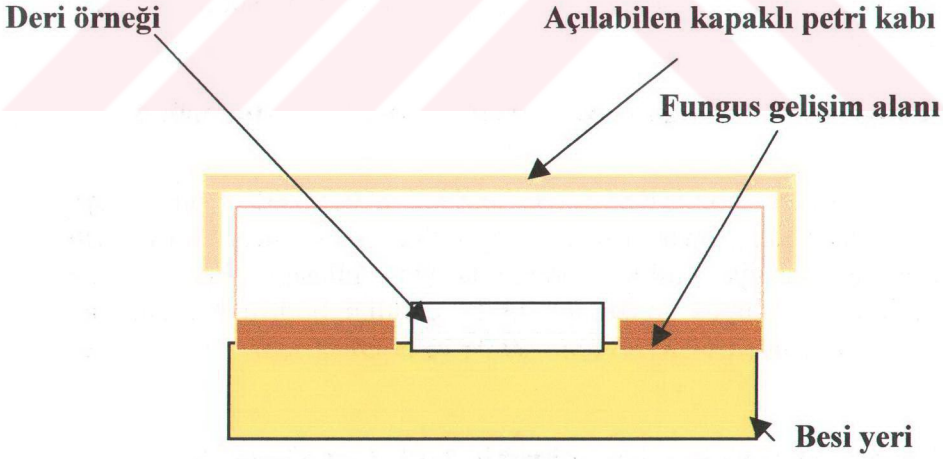
3.2.5.Denemelerde Kullanılan Mikrobiyolojik Test Yöntemleri

Yapılan araştırmalar sonucunda deri endüstrisinde antimikrobiyal aktivite testinde birbirine benzer veya farklı kriterleri bulunan değişik test yöntemleri olduğu tespit edilmiştir. Test yöntemlerinde kullanılan test

küfleri ve bunların tek başlarına yahut gruplar halinde verilişi, veriliş miktarları, inkübasyon süreleri gibi birçok farklılıklar yanında , aynı besi ortamının kullanımı, inkübasyon sıcaklıkları gibi benzer konular da bulunmaktadır.

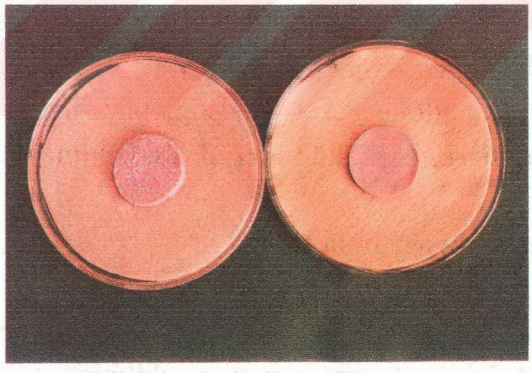
Bu araştırmada mikrobiyolojik çalışmalarda kullanmak için iki farklı test yöntemi seçilmiştir. Bunlardan birincisi günümüzde Dünya'da yaygın olarak kullanılan ve sonuçlarına güvenilen ASTM 4576-86/91 test yöntemidir. Bu yönteme göre, mikroorganizmalarca bulaştırılmış deri örnekleri agarlı besi ortamı içeren petri kutularında maksimum dört hafta inkübe edilir. Bu periyot sonunda deri örnekleri fungus gelişmemiş ya da gelişmişse inceleme yapılması yönünde değerlendirmeye alınır.

Şekil 6'da besi ortamı içeren petride deri örneğinin yerleşimi gösterilmektedir.



Şekil 6- Petri kabı yönteminde deri örneğinin yerleşimi

Denemelerde kullanılan diğer bir yöntemde yük testidir. Bu yönteme göre kolayca nem tutabilme özelliğine sahip 2 kat filtre kağıdı 9 cm'lik petri içine uygun şekilde kesilerek yerleştirilmiş ve petriler pastör fırınında 160 °C'de 45 dakika tutularak sterilize edilmişlerdir. Sonrasında steril su ile nemlendirilmiş ve üzerinlerine uçucu yağlar ve fungisidlerle muamele edilmiş olan deri numuneleri tek tek petri içinde bulunan kağıdın orta noktasına gelecek şekilde steril cımbızlarla konmuşlardır. Petri kabı içine test küflerinin 10^3 spor/ml'lik spor solüsyonlarından 0.2 ml homojen bir şekilde yayılmıştır. Funguslarla aşılanan petri kapları 4 ay süre ile inkübe edilmiş ve her hafta fungus gelişimleri incelenerek not edilmiştir. Tüm denemeler iki paralelli olarak yürütülmüştür. Buna göre birinci paralelde kesilen numunelerin et yüzü kağıt üzerine bakacak şekilde yerleştirilirken diğer paralelde cilt yüzü kağıda bakacak şekilde petrinin ortasına yerleştirilmiştir (Yapıcı ve Karaboz, 1997). Şekil 7'de kağıt üzerine yerleştirilmiş wet blue deri örneklerinin paralelleri gösterilmektedir.



Şekil 7 –Besi ortamı içermeyen petrilerdeki deriler (Orj.)

3.2.6.Test Küflerinin Seçimi

Yapılan literatür taramaları sonucunda ***Aspergillus, Penicillium, Absidia, Acremomium, Alternaria, Basipetospora, Byssochlomys, Chrysonilia, Cladosporium, Emericella, Eupenicillium, Euratum, Fusarium, Monoscus, Paecilomyces, Mucor, Moniliella, Neosortorya, Phialophora, Scopulariopsis, Stachobotrys, Trichoderma, Trichosporon ve Verticillium*** fungus cinslerinin deride geliştiği tespit edilmiştir *(Van Deren and Weiss,1978; Krishnamurthy et al., 1968; Calnan, 1985; Birbir vd., 1994; Yong and Loi, 1996; Kennedy, 2003)*

ASTM 4576-86/91 metodunda bildirildiğine göre ***Aspergillus niger, Aspergillus repens, Trichoderma viride, Hormoconis resinae*** test küfleri olarak kullanılmaktadır ve bu küflerin aktiviteleri yapılan çalışmalarla ispat edilmiştir. Ancak yöntem amaca bağlı olarak diğer test küflerinin de kullanılabilmesine müsaade etmektedir. Çalışmada farklı cinslerin kullanımı ile uçucu yağların cinslere göre antifungal etkilerinin değerlendirilmesinin de uygun olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle araştırmada metotda bildirilen ***Aspergillus niger*** ve ***Trichoderma viride*** saf kültürleri yanında literatürde deride geliştiği bildirilen ***Penicillium rubrum*** ve ***Alternaria alternata*** saf kültürleri de kullanılmıştır.

3.2.7. Test Küflerinin Aktivasyonu

3.1.2'de belirtildiği gibi temin edilen test küflerinin her biri yatık olarak hazırlanmış M.E.A'lı tüplere ayrı ayrı ekilmiş ve 27 °C deki etüvde 7 gün inkübe edilmek suretiyle aktive edilmişlerdir (Raper ve Thom, 1949).

3.2.8. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

M.E.A.'lı tüplerde aktive edilen küf türlerinin her birine NaCl-tween 80'li çözeltiden 10 ml ilave edilmiş ve steril öze yardımıyla küf

funguslarının çözeltiye geçmesi sağlanmıştır. Elde edilen spor solüsyonu ile daha rahat çalışmak amacıyla söz konusu çözeltinin ilave edilmesiyle hazırlanan bu karışım başka steril bir tüpe aktarılmak suretiyle besi yerinden ayrılmıştır. Ardından spor süspansiyonlarının spor sayımları yapılmıştır (ASTM 4576-86/91).

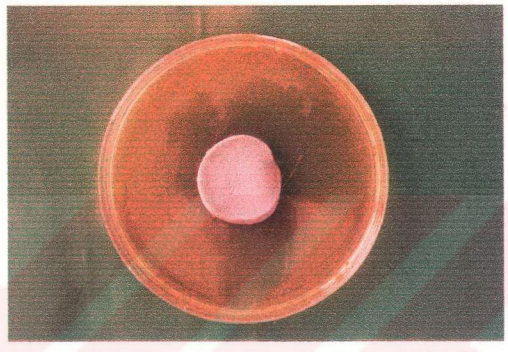
3.2.9. Spor Sayımının Yapılması ve Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Yukarıda belirtildiği gibi her bir test küfüne ait spor süspansiyonları hazırlanıp gerekli seyreltmeler NaCl çözeltisi ile yapıldıktan sonra Thoma lamı ile küf sporları sayılmıştır. Sayımlar A x SF x 10.000 formülüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Burada A: 16 büyük karede sayılan küf spor sayısını, SF: seyreltme faktörünü ve 10.000 rakamı ise 0.1 mm^3 deki sayım sonucunu 1ml'deki sayıya dönüştürmek için standart sonuç elde etmede kullanılan bir sabiti tanımlamaktadır (Karaboz vd.,2002). Denemelerde kullanılmak üzere 10^3 spor/ml olacak şekilde sayımlar yapılıp, spor miktarları ayarlanmış ve bu çözeltiden her bir petri kabına 0.2 ml verilmiştir (ASTM 4576-86/91).

3.2.10. Besiyerli Petrilerdeki Deri Örneklerine Spor Süspansiyonlarının Aşılanması

Roks şişeleri içerisinde hazırlanan M.E.A. otoklavda sterilize edildikten sonra 45 °C'ye kadar soğutulmuş ve önceden pastör fırınında sterilize edilen petrilere dökülmüştür. Besiyerinin fazla donmasına izin vermeden, 10^3'lük hazırlanmış spor süspansiyonundan pastör fırınında steril edilmiş pipetlerle her bir petri için 0.2 ml. çekilerek petri üzerine dökülmüş ve petrilerin kapakları kapatılarak elle derhal birkaç defa 8 hareketi çizilmek suretiyle spor süspansiyonunun petri içinde homojen bir şekilde yayılması sağlanmıştır. Daha sonra önceden fungisidlerle, uçucu yağlarla muamele edilmiş deri örnekleri ve kontrol amaçlı fungisidsiz deri örneklerinin her biri steril cımbızlarla petrilerin ortasına

tek tek yerleştirilmiştir. Besiyerli çalışmada da besiyersiz denemelerde olduğu gibi iki paralel yapılmış ve deri numunelerinden birinin et yüzü petrinin besi ortamının üzerine yerleştirilirken diğer paralelde cilt yüzü besi ortamının üzerine gelecek şekilde petrinin ortasına konmuştur. Şekil 8'de cilt yüzü yukarı bakan besi yeri üzerindeki derinin yerleşimi görülmektedir.



Şekil 8 : Petri kabında wet-blue deri örneği (Orj.)

3.2.11. Besiyersiz Petrilerdeki Deri Örneklerine Spor Süspansiyonlarının Aşılanması

Denemelerde kullanılan 9 cm çapındaki petrilere uygun olarak kesilen ve kolayca nem tutabilme özelliğine sahip kağıtlar iki katlı olarak petrilere yerleştirilmiş ve bu şekilde hazırlanan petriler pastör fırında sterilize edildikten sonra, steril su ile nemlendirilmişlerdir. Daha önceden steril koşullarda hazırlanan ve fungisidlerle, uçucu yağlarla muamele görmüş deri örnekleri petrilerde nemlendirilmiş kağıtların ortasına yerleştirilmişlerdir. Aynı koşullarda ancak besiyersiz ortamdaki küf gelişimini tespit edebilmek amacıyla besiyerli petrilerdeki deri örneklerine yapılan aşılamaya benzer şekilde, besiyersiz petrilere de aşılama yapılmıştır (Meriçli Yapıcı,1998). Petriler 27 °C de 4 ay süre ile inkübe edilmişlerdir. Küf gelişimleri inkübasyonun 2. gününden itibaren

4. aya kadar her hafta izlenmiş ve gerekli notlar alınmıştır. Bu sırada derilerin işletmedeki depolama koşullarına benzer şekilde nem içeriğini koruyabilmek amacıyla filtre kağıtları gerektiğinde steril su ile yeniden nemlendirilmiştir. Ayrıca kontrol amacıyla yapılan çalışmalar sırasında steril sularla nemlendirilmiş filtre kağıdı yerleştirilmiş petri kaplarına deri numunesi konulmaksızın her küf türü için ayrı ayrı belirtilen miktarlarda aşılama yapılmış ve kağıt üzerinde gelişimleri de incelenmiştir. Deri örneklerinde fungal büyümeler tespit edildiğinde fotoğraf çekimleri yapılmıştır.

3.2.12.İnkübasyon Sıcaklıklarının Tespiti

Hazırlanmış petri kutuları 27 °C de ve % 60-80 rutubette inkübe edilir. Bu amaçla metotda belirtildiği üzere inkübatör içine bir kaba su konarak yeterli rutubetin oluşması sağlanmıştır. ASTM 4576-86/91'e göre ***Trichoderma viride***'nin 24 °C de inkübe edilmesi tercih edilmektedir. Bu nedenle bu test küfü ile aşılanmış numuneler 24 °C de inkübe edilmiştir.

3.2.13.Besiyerli Petrilerde İnhibisyon Zonlarının Ölçümü ile Uçucu Yağlar ve Fungisidlerin Etkinliklerinin Tespiti

Denemelerde kullanılan derilerin çapları 3 cm'dir ve milimetrik bir cetvel deri üzerine konarak 3 cm ve 3 cm üzerinde tespit edilen her inhibisyon zonu antifungal maddenin etkinliğini belirlemede önemli bir kriter olarak kullanılmıştır. Herbir petrideki inhibisyon zonunun tespiti için dört ayrı ölçüm yapılmış ve bu ölçümlerden elde edilen değerlerin ortalaması bir petriye ait inhibisyon zon değeri olarak tanımlanmıştır. Denemeler 2 paralelli yürütüldüğünden iki petriden tespit edilen değerlerin ortalaması alınmak suretiyle ölçüm sonuçları değerlendirilmiştir.

7,10,14,17,21,24 ve 28 gün inkübasyon periyodu sonrasında örnek etrafında oluşan zon inhibisyonları şu şekilde değerlendirilir:

Büyüme	**Değerlendirme**	**Oran**
Deri fungusça kaplanmış	Yetersiz	1
Deri kenarında büyüme	Yetersiz (deri üstünde büyüme mm)	2
Kesme kenarda gelişme Zon inhibisyon yok , örnekte gelişim yok	Halen iyi (yarar sınırı)	2-3
Örnekte gelişim yok (Görülür inhibisyon zonu)	İyi (inhibisyon zon büyüklüğü)	3

3.2.14.Besiyersiz Petrilerde Süreye Bağlı Olarak Uçucu Yağlar ve Fungisidlerin Etkinliklerinin Tespiti

Besiyerli petrilerde olduğu gibi besiyersiz petrilerde de iki paralelli çalışılmış ve bir petride derinin cilt yüzü aşağıya bakarken diğerinde yukarı bakacak şekilde steril cımbızlarla kağıdın ortasına yerleştirilmiştir. Besiyersiz petriler 4 ay süre ile inkübe edilirken ilk haftadan itibaren her hafta incelenmişler ve buna göre bir çizelge hazırlanmıştır. Fungal gelişimler – ve + işaretleri ile değerlendirilmiştir (Yapıcı, 1994).

Buna göre;

- : üreme yok
1+: Az üreme
2+: Orta üreme
3+: Çok üreme
4+: Maksimum üreme olarak ifade edilirler.

4 BULGULAR VE TARTIŞMA

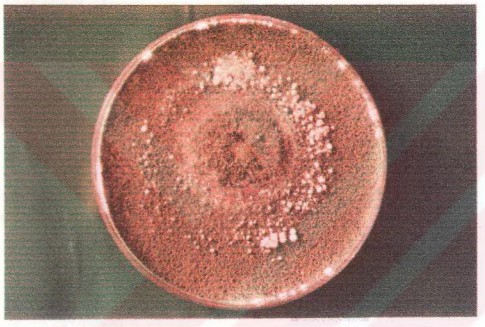
4.1. Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması ve İnhibisyon Zon Değerleri

4.1.1. *Trichoderma viride* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

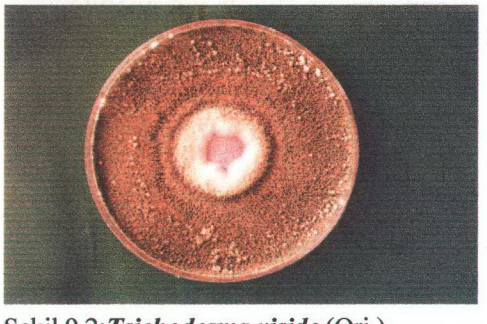
Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Trichoderma viride'nin*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları çizelge- 8 'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş pikle deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge- 8'de verilmiştir.

Çizelge-8 açıklanmaya başlamadan önce burada ifade edilen numaraların fotoğraflar ile anlatılması faydalı olacaktır. Aşağıda yeralan fotoğraflar ***Trichoderma viride*** test küfü ile yapılan denemeler sırasında çekilmiştir. Şekil-9.1'de görüldüğü gibi deri fungusça kaplanmış ise koruyucu madde yetersiz demektir ve bu durumu ifade etmek için 1 numara verilir. Fungus deri kenarında gelişmeye başlamışsa ancak deriyi tamamen kaplamamışsa bu durumda 2 numara verilerek deri üstündeki büyüme cetvelle ölçülür ve mm olarak yazılır. Şekil-9.2' de 2 numaraya örnek gösterilmiştir. Burada deri üstünde fungus gelişimi

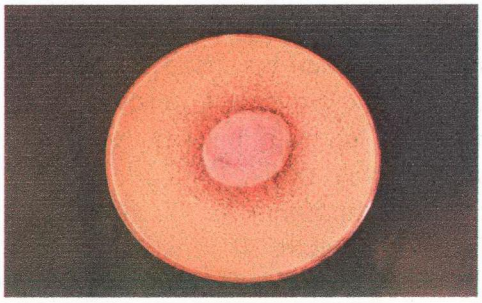
olduğu için verilen koruyucu maddenin yetersiz geldiği anlaşılır ve deri üzerindeki gelişim milimetrik bir cetvel vasıtasıyla ölçülerek mm cinsinden deride fungus gelişimi belirtilir. Fungus deri kenarına kadar yanaşmış ancak deri üstünde gelişmeye başlamamışsa bu durumu ifade eden 2-3 numara verilir . Şekil-9.3' de yarar sınırı gösterilmiştir. Bu durumda kullanılan koruyucu işe yarar anlamı taşımaktadır. Şekil 9.4'de 3 numara ile ***Trichoderma viride*** gelişimine karşı inhibisyon zonu gösterilmiştir. Bu durumda kullanılan koruyucu etkili demektir ve inhibisyon zon değerleri milimetrik bir cetvel vasıtasıyla ölçülerek, mm cinsinden inhibisyon zon değerleri olarak yazılır.



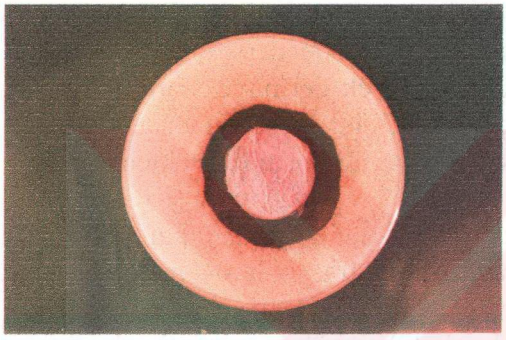
Şekil 9.1:***Trichoderma viride*** (Orj.)



Şekil 9.2:***Trichoderma viride*** (Orj.)



Şekil 9.3:***Trichoderma viride*** (Orj.)



Şekil 9.4: ***Trichoderma viride*** (Orj.)

Trichoderma viride ile aşılanmış kekik (***Origanum minutiflorum***) içeren pikle deri örnekleri bulunan petriler ile yapılan denemeler sonucunda genel olarak uçucu yağın konsantrasyonu arttıkça fungusa karşı koruyuculuk dolayısıyla inhibisyon zon çaplarında artma gözlenmiştir. Ancak yapılan denemeler sırasında 7,10,14,17,21,24 ve 28. günlerdeki periyot süreleri boyunca inhibisyon değerleri ölçüldüğünde zamanla inhibisyon zon çaplarının küçüldüğü hatta belli bir süreden sonra derinin üzerinde fungus gelişminin başladığı gözlenmiştir.

Kekik uçucu yağ konsantrasyonu % 0.5 olduğunda 7 günlük periyot sonunda 45 mm'lik bir zon oluşmuş, 10. günde bu zon fungus tarafından aşılmış ve fungus deriye yaklaşmış hatta 14. günlük inkübasyon periyodunda derinin kesme kenarına kadar gelmiş ve deriye kenardan yanaşmış ancak deri üstünde gelişmeye başlamamışken 17. günde derinin 5 mm kadar üstüne kadar çıkmış ve 21.günden itibaren de deriyi tamamen kaplamıştır. Uçucu yağ konsantrasyonu iki kat

arttırıldığında yani pikle deri ağırlığı üzerinden % 1 verildiğinde ise fungusa karşı daha başarılı sonuçlar alınmasına rağmen bu başarı sadece 17 günlük inkübasyon süresi boyunca geçerli olmuştur. Söz konusu küf 7 günlük inkübasyon periyodu sonunda sadece petrinin bir kenarında gelişmeye başlamışken 10. günde fungus deriye yaklaşmış, 14.günde ise kesme kenara kadar gelmiş ve derinin kenarına tutunmuştur. 17. günde deri üzerinde gelişmeye başlayarak derinin kenarından 10 mm içeriye doğru girmiştir. 21, 24 ve 28. günlük inkübasyonlarda deri üzerinden 14 mm içeriye girdiği yani hemen hemen deriyi kapladığı tespit edilmiştir. Kekik uçucu yağ konsantrasyonu yine iki kat daha arttırıldığında ise daha da başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu denemeye göre inkübasyon periyodunun 17. gününe kadar petride küf gelişememiş, 21. günde petrinin bir kenarında gelişmeye başlamış, 24. günde deriye yanaşmış, 28.günde ise derinin kesme kenarına kadar gelerek derinin kenarlarında deriye değmeye başlamasına rağmen çizelge-8' de 2-3 ile ifade edilen değere göre uçucu yağın koruyuculuğu hala geçerliğini sürdürmektedir.

Çizelge-8 incelendiğinde anlaşıldığı gibi defne, yalancı karabiber ve rezene bitkilerinin uçucu yağ konsantrasyonları arttırarak kullanılmasına rağmen bu grup denemelerde söz konusu küfe karşı başarılı sonuçlar alınamamış ve daha 7 günlük inkübasyon periyoduna ulaşmadan küf derileri tamamen kaplamıştır.

Hiçbir koruyucu içermeyen pikle deri örnekleride küf aşılanmasından sonra daha 7 günlük inkübasyon süresine gelmeden derilerin küf tarafından tamamen kaplandığı gözlenmiştir.

Pikle ağırlığı üzerinden tavsiye edilen miktar olan %0.02 oranında kullanılmış Fungisid A (N-OITZ aktif bileşenli) ve %0.04 oranında kullanılmış Fungisid B (TCMTB aktif bileşenli) iki fungisid içeren pikle deri örnekleri ile yapılan denemeler sonucunda 7 günlük inkübasyon süresine ulaşamadan derilerin fungus tarafından tamamen kaplandığı tespit edilmiştir. Bu bulguları destekler şekilde, Kennedy (2003) yaptığı çalışmalar sonucunda ***Trichoderma viride'nin*** TCMTB esaslı fungisidlere karşı oldukça dirençli olduğunu belirterek bu direncin sonradan kazanılmadığını mikroorganizmanın kendi yapısında var

Çizelge-8: *T. viride'nin* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME		GÜNLER						
Koruyucular:	%	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
O. minutiflorum	0,5	3 (45 mm)	3	2-3	2 (5 mm)	1	1	1
	1	3 *	3	2-3	2 (10 mm)	2 (14 mm)	2 (14 mm)	2 (14 mm)
	2	1	3*	3*	3*	3 **	3	2-3
L. nobilis	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1
F. vulgare	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1
S. molle	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	3 (35 mm)	1	1	1	1	1	1
Karışım(F+L+O)	1,5	3 (30 mm)	3 (35 mm)	3	2-3	2 (10 mm)	1	1
Karışım (S+L+O)	1,5	1	2 (10 mm)	2 (10 mm)	1	1	1	1
Fungisid A	0,02	1	1	1	1	1	1	1
Fungisid B	0,04	1	1	1	1	1	1	1
Pikle	-		1	1	1	1	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

olduğunu bildirmiştir. N-OITZ'inde bu test küfüne karşı yetersiz kaldığını yaptığı çalışmalarda tespit etmiştir.

İki farklı uçucu yağ karışımı içeren derilerde de şu durumlar gözlenmiştir: çizelge-8 incelendiğinde rezene-kekik-defne uçucu yağı içeren karışım 7 ve 10 günlük inkübasyon periyodu sonucunda 35 mm'lik bir zon oluşturmuşken 14. günde bu zon kaybolmuş, 17. günde küf deri örneğinin kenarına kadar iyice yanaşmış ve 21. günde deri üzerinde 10 mm kadar gelişmiştir. 24. günde ise fungus deriyi tamamen kaplamıştır. Yalancı karabiber-kekik ve defne uçucu yağlarından oluşan ikinci karışımın pikle derilerdeki koruyuculuğu incelendiğinde 7 günlük inkübasyon periyodu sonunda 30 mm' lik bir zon oluşumu tespit edilmesine rağmen 10. günde küf deri üzerinde gelişmeye başlamış ve deri kenarından 10 mm'lik bir gelişim göstermiştir. 14. günde de gelişim aynı şekilde kalmış olmasına rağmen 17 günlük inkübasyon süresinde fungus deriyi tamamen kaplamıştır. İki karışım karşılaştırıldığında söz konusu küfe karşı rezene-kekik-defne uçucu yağı içeren karışımın daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Çizelge-8 incelendiğinde koruma süresine bakılırsa bu yağ karışımında %0.5 kekik olmasına rağmen sadece % 5 kekik yağına göre biraz daha başarılı bir sonuç elde edildiği söylenebilir.

Bu grupta yapılan denemelerin sonucu olarak ASTM 4576-86/91'e göre ***Trichoderma viride*** test küfüne karşı 28 günlük deneme periyodu boyunca başarılı olan tek maddenin %2 oranında kullanılmış olan kekik yağı olduğu çizelge-8'de de açıkça görülmektedir.

4.1.2. *Aspergillus niger* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Aspergillus niger'in*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan 0.2 ml aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları çizelge-9 'da gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla

Çizelge-9: *A. niger'in* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME		GÜNLER						
Koruyucular	%	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
O. minutiflorum	0,5	2-3	2 (2 mm)	1	1	1	1	1
	1	3 (40 mm)	2 (1mm)	1	1	1	1	1
	2	3	3	3	3	3	3	3 *
L. nobilis	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1
F. vulgare	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1
S. molle	0,5	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1
Karışım(F+L+O)	1,5	2-3	2	1	1	1	1	1
Karışım (S+L+O)	1,5	2-3	2	1	1	1	1	1
Fungisid A	0,02	2 (10 mm)	2 (10 mm)	2 (13 mm)	1	1	1	1
Fungisid B	0,04	2 (13 mm)	2 (13 mm)	2 (14 mm)	1	1	1	1
Pikle	-	1	1	1	1	1	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş pikle deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge-9'da verilmiştir.

Çizelge-9'da görüldüğü gibi sonuçlar elde edilmiştir. Tablo ilk bakışta küfün oldukça bulaşıcı olduğunu yansıtmaktadır. Buna göre fungisid veya uçucu yağ içermeyen ve koruma amacıyla işlenmiş pikle deri örnekleri içeren petri kabında 7 günlük inkübasyon periyodu sonunda petrinin tamamen küfle kaplandığı gözlenmiştir.

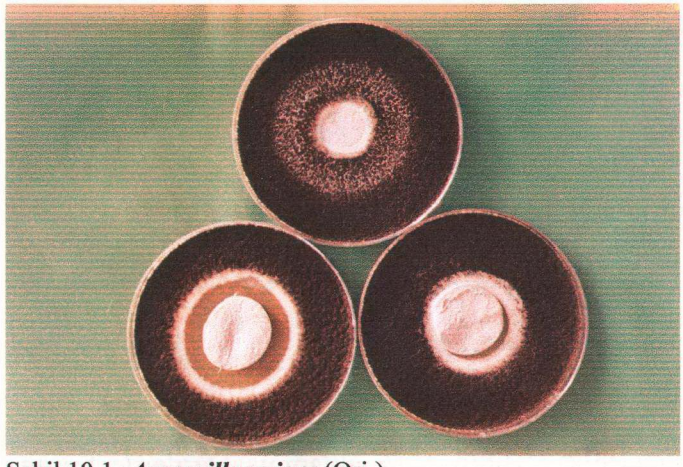
Uçucu yağlar kullanılarak yapılan çalışmalar incelendiğinde çizelge-9' danda görüleceği gibi en etkili uçucu yağın kekiğe ait olduğu bulunmuştur. Kekik uçucu yağının konsantrasyonu arttıkça koruma etkisininde arttığı çizelgeden açıkça görülmektedir. Buna göre %0.5 kekik uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petri kaplarında 14 günlük inkübasyon periyodu süresinde küfün derinin kesme kenarına kadar iyice yanaştığı gözlenirken, 10. günde derinin üstünü 2 mm kaplamış ve 14 günlük inkübasyon periyodu sonunda da derilerin küf tarafından tamamen kaplandığı tespit edilmiştir. Uçucu yağ konsantrasonu iki kat arttırıldığında , 7 günlük inkübasyon periyodu süresinde petri kabında deri etrafında 40 mm'lik bir zon oluşmasına rağmen 10. günde zon tamamen ortadan kalkmış ve hatta test küfü deri üzerini 1 mm kadar kaplamıştır. Çizelge-9 da da görüldüğü üzere %2 oranında kekik uçucu yağı içeren pikle derilerin numunelerinin bulunduğu petrilerde test küfüne karşı son derece başarılı bir sonuç elde edilmiş ve test küfü 28 günlük inkübasyon periyodu sonunda petride üremeyi dahi başaramamış, test bitiminde petri kabı tertemiz kalmıştır.

Uçucu yağ karışımları incelendiği zaman ise çizelge-9' da görüldüğü üzere her iki karışımında ***Aspergillus niger*** 'e karşı aynı etkiyi verdiği gözlenmiştir. Buna göre %0.5 kekik, %0.5 defne ve %0.5 rezene içeren uçucu yağ karışımı ile %0.5 kekik, %0.5 defne ve %0.5 yalancı karabiber içeren uçucu yağ karışımı ile muammele edilmiş derilerin küfle aşılama yapılmasının ardından 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda şu sonuçlar bulunmuştur: Her iki karışım içeren derilere test küfü iyice yanaşmış ve kesme kenarlarında gelişmeye başlamıştır. 10. günde ise deri üzerinde 1mm'lik gelişmeler göstermişler ve 14.günde deriler tamamen fungusça kaplanmışlardır.

%0.02 oranında kullanılmış (N-OITZ aktif bileşenli) ve %0.04 oranında kullanılmış Fungisid B (TCMTB aktif bileşenli) iki fungisid içeren pikle deri örneklerine ***Aspergillus niger*** test küfü aşılanarak yapılan denemelerde ise bulunan sonuçlar şöyledir: Fungisid A içeren deri örneklerinin 7 ve 10 günlük inkübasyon periyodu sonucunda üzerlerinde 10 mm küf geliştiği gözlenmiş , 14. günde derinin üzerinde küf 13 mm'ye kadar büyümüş ve 17. günde ise derinin üzeri tamamen fungusça kaplanmıştır. Fungisid B içeren deri örneklerinin ise 7 ve 10 günlük inkübasyon periyodu sonucunda üzerlerinde 13 mm küf geliştiği gözlenmiş , 14. günde 14 mm'ye kadar büyümüş ve 17. günde ise derinin üzeri tamamen fungusça kaplanmıştır.

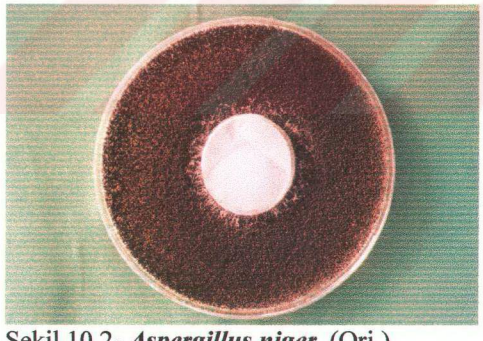
Meriçli Yapıcı (1998), 'Bitkisel Tabaklanmış Derilerde Sorun Oluşturan Küf Enfeksiyonlarının Bazı Fungisidlerle Kontrolü' başlıklı doktora çalışmasında denemelerde kullandığı fungisidlere karşı ***Aspergillus*** türlerinin ise daha dirençli olduğunu tespit etmiştir. Bununla birlikte aynı genus içinde istisnai olarak yaygın büyüme özelliğine sahip bazı türlerin örneğin ***Aspergillus*** genusuna ait özellikle de ***Aspergillus niger***'e karşı daha yüksek dozlarda fungisid kullanımının gerekli olduğunu bildirmiştir.

Şekil 10.1. incelendiği zaman ***Aspergillus niger*** test küfünde 2 ve 3 numaralı gelişimler görülmektedir. Üstteki deride koruma yetersiz alttakilerde ise koruma yeterlidir.



Şekil 10.1- ***Aspergillus niger*** (Orj.)

Şekil 10.2'de ise ***Aspergillus niger*** test küfünde 2-3 numaralı gelişim gösterilmektedir. Buna göre kullanılan koruyucu madde halen yarar sınırındadır.



Şekil 10.2- ***Aspergillus niger*** (Orj.)

4.1.3. *Penicillium rubrum* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-

defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Penicillium rubrum'un*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan 0.2 ml aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları çizelge-10'da gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş pikle deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge-10'da verilmiştir.

Penicillium rubrum test küfü aşılanarak yapılan denemelerde çizelge-10'da görüldüğü gibi fungisid veya uçucu yağ içermeyen deri örnekleri içeren petri kabında 7 gün inkübasyon periyodu sonunda petrinin bir kenarında gelişim gözlenmiş, 10. günde ise küf derinin kesme kenarlarına kadar gelerek deriye iyice yanaşmış, 14 günlük inkübasyon periyodunda da deriyi tamamen kaplamıştır.

Uçucu yağlar kullanılarak yapılan çalışma incelendiğinde çizelge 10'danda görüleceği gibi yine en etkili uçucu yağın kekiğe ait olduğu bulunmuştur. Ayrıca tüm uçucu yağların konsantrasyonları arttıkça etkilerinin de arttığı saptanmıştır. Buna göre kekik uçucu yağı ile yapılan denemeler de % 0.5 oranında pikle deriye uygulandığı zaman 21. günlük inkübasyon periyodu boyunca petri kabında küf gelişimi görülmezken, 24. günde test küfü derinin kesme kenarlarına kadar petriyi kaplayarak deriye yanaşmış, 28. günde ise deriyi tamamen kaplamıştır. Kekik uçucu yağ konsantrasyonu iki katına çıkarıldığında yani pikle deri ağırlığı üzerinden %1 kullanıldığında ise yine 21. güne kadar petri kabında fungus gelişimi olmamıştır ancak 24. günde derinin kenarına kadar gelmiş ve 28. günde de deri üzerinde gelişmeden deri kesme kenarında kalmıştır. Uçucu yağ konsantrasyonu %2 ye çıkarıldığında ise 24. güne kadar petride küf gelişimi olmazken 28. günde küf ancak petrinin bir kenarında gelişebilmiştir. Bu da %2 kekik uçucu yağı içeren pikle derilerin ***Penicillium rubrum'***a karşı son derece etkili olduğunu göstermektedir.

Defne (***Laurus nobilis***) uçucu yağı içeren pikle deriler incelendiğinde uçucu yağ konsantrasyonlarının arttıkça test küfüne karşı koruyuculuğun az da olsa etkilendiği gözlenmiştir. % 0.5 defne uçucu yağı içeren pikle derilerle yapılan denemelerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonunda petride test küfünün gelişimi olmazken 10. günde test küfü deri numunelerinin kesme kenarlarına kadar gelmiş, 14. günde

derinin üstünde 2 mm kadar çıkmış, 17 günde ise deriyi tamamen kaplamıştır. Defne uçucu yağ konsantrasyonu % 1' e çıktığında 14. güne kadar petri içinde küf gelişimi olmazken, 17. günde deri üzerinde 1 mm'lik bir büyüme gözlenmiş ve 21. günde ise küf deriyi tamamen kaplamıştır. %2 uçucu yağ içeren deri numunelerinde ise 10 güne kadar petride küf gelişimi olmazken 14. günde petrinin bir yanında küf gelişimi olmuş, 17. günde küf derinin yanına kadar gelmiş ancak deriyle temas etmemiş , 21. günde ise derinin üzerinde 10 mm'lik bir gelişim gösterirken, 24. günde deriyi tamamen kaplamıştır.

Rezene uçucu yağı içeren derilerle yapılan çalışmada ise Çizelge-10 da görüldüğü gibi üç farklı konsantrasyonda deneme yapılmasına rağmen oldukça benzer sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre % 0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda herhangi bir gelişim olmazken, 10. günde petrinin bir kenarında küf gelişimi başlamış, 14. günde derinin üstünde küf 6 mm gelişirken 17. günde deriyi tamamen kaplamıştır. %1 ve %2 rezene uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerde aynı sonuçlar elde edilmiştir. % 0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde olduğu gibi, 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda küf gelişimi olmazken, 10. günde petrinin bir kenarında küf gelişimi başlamış, 14. günde derinin üstünde küf 5 mm büyürken 17. günde deriyi tamamen kaplamıştır.

Yalancı karabiber (***Schinus molle***) uçucu yağı içeren derilerle yapılan çalışmalarda Çizelge-10 danda görüldüğü gibi şu sonuçlar bulunmuştur: % 0.5 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda herhangi bir gelişim olmazken, 10. günde petrinin bir kenarında küf gelişimi başlamış 14. günde küf derinin kesme kenarına kadar gelmiş ve 17. günde deriyi tamamen kaplamıştır. Tamamen aynı durum % 1 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde de görülmüştür. %2 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 14. güne kadar %0.5 ve %1'lik y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde gözlenen durum geçerliğini sürdürmüş ve 17. günde küf yine derinin kesme kenarlarında kalmış ve deri üstünde gelişememiştir. Ancak 21. günde derinin küf tarafından tamamen kaplandığı tespit edilmiştir.

Çizelge-10: *P. rubrum'un* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME		GÜNLER						
Koruyucular	%	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
O. minutiflorum	0,5	3*	3*	3*	3*	3*	2-3	1
	1	3*	3*	3*	3*	3*	2-3	2-3
	2	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3**
L. nobilis	0,5	3*	2-3	2 (2 mm)	1	1	1	1
	1	3*	3*	3*	2 (1 mm)	1	1	1
	2	3*	3*	3**	3	2 (10 mm)	1	1
F. vulgare	0,5	3*	3**	2 (6 mm)	1	1	1	1
	1	3*	3**	2 (5 mm)	1	1	1	1
	2	3*	3**	2 (5 mm)	1	1	1	1
S. molle	0,5	3*	3**	2-3	1	1	1	1
	1	3*	3**	2-3	1	1	1	1
	2	3*	3**	2-3	2-3	1	1	1
Karışım(F+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3*	3*	3**	3**
Karışım (S+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3*	3*	3**	3**
Fungisid A	0,02	3*	3*	3	2-3	2-3	1	1
Fungisid B	0,04	3*	3*	3*	3*	3*	3**	3**
Pikle	-	3**	2-3	1	1	1	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

Uçucu yağ karışımları incelendiği zaman ise Çizelge-10'da da görüldüğü üzere her iki karışımda ***Penicillium rubrum***'a karşı aynı etkiyi verdiği gözlenmiştir. Buna göre 21 günlük inkübasyon periyodu boyunca petri kabında küf gelişememiş, 24. günde ancak petrinin bir kenarında gelişmeyi başarmış ve 28.günde de ancak petrinin bir yanında gelişmiş olduğu tespit edilmiştir.

Pikle ağırlığı üzerinden tavsiye edilen miktar olan %0.02 oranında kullanılmış Fungisid A (N-OITZ aktif bileşenli) ve %0.04 oranında kullanılmış Fungisid B (TCMTB aktif bileşenli) iki fungisid içeren pikle deri örnekleri ile yapılan denemeler sonucunda Fungisid B'nin Fungisid A ya oranla daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Fungisid B uçucu yağ karışımlarıyla yapılan denemeler sonucundaki aynı bulguları vermiştir yani küf 21 günlük inkübasyon periyodu boyunca petri kabında gelişememiş, 24. günde ancak petrinin bir kenarında gelişmeyi başarmış ve 28.günde de ancak petrinin bir yanında gelişmiş olduğu gözlenmiştir. Fungisid A içeren pikle derilerin bulunduğu petri kaplarında ise 10 günlük deneme periyodu boyunca petride küf gelişimi olmamış, 14. günde küf deriye yanaşmış ve 17. günde kesme kenarlara kadar ilerlemiş, 21. günde aynı şekilde kalırken 24. günde derileri tamamen kaplamışlardır.

Meriçli Yapıcı (1998), 'Bitkisel Tabaklanmış Derilerde Sorun Oluşturan Küf Enfeksiyonlarının Bazı Fungisidlerle Kontrolü' başlıklı doktora çalışmasında denemelerde kullandığı fungisidlere karşı ***Penicillium*** türlerinin daha duyarlı olduğunu tespit etmiştir.

Besi ortamı içeren petri kaplarında ***Penicillium rubrum*** test küfü aşılanarak yapılan denemelerin kendi içinde genel bir karşılaştırmasını yapacak olursak bu test küfüne karşı en iyi sonucun %2 kekik uçucu yağı içeren pikle derilerde alındığını söyleyebiliriz. Bununla beraber %0.04 Fungisid B ve %1.5 lik her iki uçucu yağ karışımı içeren pikle derilerin %2 kekik uçucu yağı içeren pikle derilere çok yakın sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. 28 günlük test periyodu göz önüne alındığında ise %1, %2 kekik uçucu yağı , %1.5 uçucu yağ karışımlarının ve Fungisid B'nin ASTM 4576-86/91'e göre başarılı olduğu çizelge-10'u incelendiğinde de açıkça görülmektedir.

4.1.4. *Alternaria alternata* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Alternaria alternata'nın*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan 0.2 ml aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları çizelge-11'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş pikle deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge-11'de verilmiştir.

Alternaria alternata test küfü aşılanarak yapılan denemelerde çizelge-11'de görüldüğü gibi fungisid veya uçucu yağ içermeyen pikle deri örnekleri içeren petri kabında 7 gün inkübasyon periyodu sonunda küfün derinin kesme kenarına kadar geldiği gözlenmiş ve aynı durum 10 günlük inkübasyon periyodu süresince devam etmiştir. 14. günde küf deri üzerine doğru 4 mm' lik bir büyüme gerçekleştirmiştir. Bu gelişim 17. günde 15 mm'ye ulaşırken 21. günde aynı şekilde kalmış ve küf 24 günlük inkübasyon periyodunda da deriyi tamamen kaplamıştır.

Pikle derilerde besi ortamlı petrilerde ***Alternaria alternata*** test küfü ile yapılan denemelerde test küfüne karşı yine en iyi sonuç %2 oranında kekik uçucu yağı içeren pikle deri örneklerinde tespit edilmiştir. Kekik uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça test küfüne karşı koruyuculuğunun da arttığı gözlenmiştir. %0.5 kekik uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petri kaplarında 14 günlük inkübasyon periyodu süresince petri kabında küf gelişimi olmazken, 17.günde petrinin bir kenarında küf gelişimi olmuş ve 21.günde derinin üstünü 1 mm kaplamış, küf gelişimi 24. günde 15 mm.'ye çıkarken, 28. günde bu şekilde kalmıştır. Uçucu yağ konsantrasyonu iki kat arttırıldığında ise 17 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petri kabında küf gelişimi gözlenmezken 21. günde küf petrinin bir kenarında gelişmeye başlamış, 24. günde aynı şekilde kalmış, 28. günde ise derinin kesme kenarına kadar yanaşmıştır. çizelge-11'de de görüldüğü üzere %2 oranında kekik uçucu yağı içeren pikle derilerin numunelerinin bulunduğu petrilerde test küfüne karşı son derece başarılı bir sonuç elde edilmiş ve test küfü 28 günlük inkübasyon

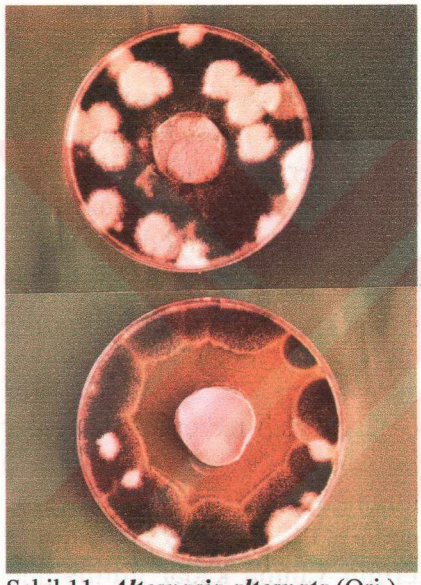
Çizelge-11: *A. alternata'nın* Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME		GÜNLER						
Koruyucular	%	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
O. minutiflorum	0,5	3*	3*	3*	3**	2 (1 mm)	2 (15 mm)	2 (15mm)
	1	3*	3*	3*	3*	3**	3**	2-3
	2	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3 *
L. nobilis	0,5	3**	3	2-3	2 (3 mm)	2 (6 mm)	2 (6 mm)	2 (10 mm)
	1	3**	3	2-3	2 -3	2 -3	2-3	2 (5 mm)
	2	3**	2-3	2-3	2 -3	2 -3	2 (3 mm)	2 (3 mm)
F. vulgare	0,5	3**	2-3	2-3	2 (5 mm)	2 (7 mm)	2 (7 mm)	1
	1	3**	3	2-3	2 (5 mm)	2 (7mm)	2 (7 mm)	1
	2	3**	3	2-3	2-3	2-3	2 (7 mm)	1
S. molle	0,5	3**	2-3	2-3	2 (3 mm)	2 (3 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)
	1	3**	2-3	2-3	2 (2 mm)	2 (2 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)
	2	3**	2-3	2-3	2 -3	2 (2 mm)	2 (5mm)	2 (5 mm)
Karışım(F+L+O)	1,5	3*	3*	3**	3**	2-3	2 (15 mm)	2 (15 mm)
Karışım (S+L+O)	1,5	3*	3*	3**	2 (2 mm)	2 (3 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)
Fungisid A	0,02	3*	3*	3*	3*	3 (35 mm)	2-3	2-3
Fungisid B	0,04	3**	3**	3**	3 (45 mm)	3 (35 mm)	3 (32 mm)	2-3
Pikle	-	2-3	2-3	2 (4 mm)	2 (15 mm)	2 (15 mm)	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

periyodu sonunda petride üremeyi dahi başaramamış, test bitiminde petri kabı tertemiz kalmıştır.

Şekil 11'de ***Alternaria alternata*** küfünün besi ortamı içeren petrilerde deri etrafında gelişimi görülmektedir.Üstteki petride yetersiz koruma ve altta yeterli koruma (inhibisyon zonu)'na örnek olarak gösterilmektedir.

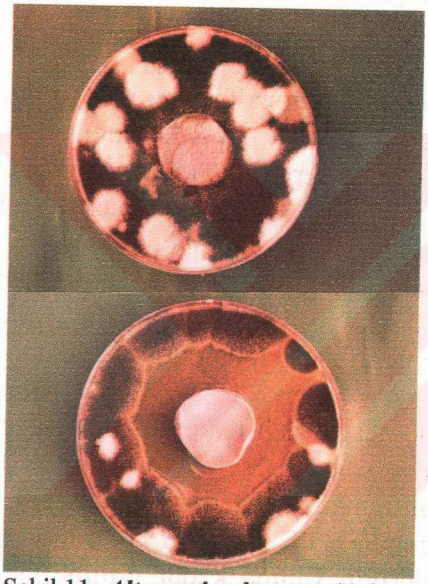


Şekil 11: ***Alternaria alternata*** (Orj.)

Defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilere ***Alternaria alternata*** test küfünün aşılanması ile yapılan çalışmalarda ise şu bulgular elde edilmiştir: % 0.5 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 7 günlük inkübasyonu boyunca petrinin bir kenarında küf gelişimi tespit edilmiştir.10. günde küf derinin yanına kadar gelmekte ancak deriye değmemektedir. 14. günde ise derinin kesme kenarına iyice yanaşmış olduğu gözlenmiş, 17. günde derinin üstünde 3mm'lik bir gelişme gösterirken bu gelişim 21. günde 6 mm'ye çıkmış ve 24. günde aynı şekilde kalmış, 28. günde ise 10 mm'ye kadar artış göstermiştir. % 1 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu

periyodu sonunda petride üremeyi dahi başaramamış, test bitiminde petri kabı tertemiz kalmıştır.

Şekil 11'de ***Alternaria alternata*** küfünün besi ortamı içeren petrilerde deri etrafında gelişimi görülmektedir.Üstteki petride yetersiz koruma ve altta yeterli koruma (inhibisyon zonu)'na örnek olarak gösterilmektedir.



Şekil 11: ***Alternaria alternata*** (Orj.)

Defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilere ***Alternaria alternata*** test küfünün aşılanması ile yapılan çalışmalarda ise şu bulgular elde edilmiştir: % 0.5 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 7 günlük inkübasyonu boyunca petrinin bir kenarında küf gelişimi tespit edilmiştir.10. günde küf derinin yanına kadar gelmekte ancak deriye değmemektedir. 14. günde ise derinin kesme kenarına iyice yanaşmış olduğu gözlenmiş, 17. günde derinin üstünde 3mm'lik bir gelişme gösterirken bu gelişim 21. günde 6 mm'ye çıkmış ve 24. günde aynı şekilde kalmış, 28. günde ise 10 mm'ye kadar artış göstermiştir. % 1 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu

petrilerin 7 günlük inkübasyonu boyunca petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenmiştir.10. günde küf derinin yanına kadar gelmekte ancak deriye değmemektedir.14. günde ise derinin kesme kenarına iyice yanaşmış olduğu ve 24.güne kadar bu şekilde kaldığı ancak 28. günde derinin üstünde 5 mm geliştiği gözlenmiştir. % 2 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 7 günlük inkübasyonu boyunca petrinin bir kenarında küf gelişimi tespit edilmiştir.10. günde küf derinin yanına kadar gelmekte ancak deriye değmemektedir.14. günde ise derinin kesme kenarına iyice yanaşmış olduğu gözlenmiş ve bu durum 21. güne kadar devam etmiştir.24. günde ise küf derilerin üzerinde 3 mm gelişirken 28 günlük periyot sonunda bu şekilde kalmıştır.

Rezene uçucu yağı içeren derilerle yapılan çalışmada ise Çizelge-11'de de görüldüğü üç farklı konsantrasyonda deneme yapılmasına karşın, deneme periyodu sonunda tüm derilerin küfce tamamen kaplandığı gözlenmiştir. Buna göre % 0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petrinin bir kenarında gelişim olurken, 10. günde küf derinin kesme kenarına kadar iyice yanaşmış ve 14 günlük periyot süresince bu şekilde kalmıştır. 17. günde derinin üstünde küf 5 mm gelişirken 21. günde 7 mm.'ye çıkmış, 24. günde aynı şekilde kalmış ve 28. günde deriyi tamamen kaplamıştır. %1 ve %2 rezene uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerde 17. güne kadar aynı sonuçlar elde edilmiştir. % 0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde olduğu gibi, 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda küf gelişimi petrinin bir kenarında başlarken, 10. günde küf derinin yanına kadar gitmiş ancak deriye tam yanaşamamış, 14. günde derinin kesme kenarına iyice yanaşmıştır. % 1 rezene uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 17. günde derinin üstünde küf 5 mm gelişirken 21. günde 7 mm.' ye çıkmış, 24. günde aynı şekilde kalmış ve 28. günde deriyi tamamen kaplamıştır. % 2 rezene uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde ise 21.güne kadar küf derinin kesme kenarına yanaşmış bir şekilde kalıp deriye çıkamazken 24. günde deri üzerinde 7 mm gelişmiş ve 28. günde ise deriyi tamamen kaplamıştır.

Alternaria alternata test küfü aşılanmasıyla yalancı karabiber (***Schinus molle***) uçucu yağı içeren derilerle yapılan çalışmalarda Çizelge-11' dende görüldüğü gibi şu sonuçlar bulunmuştur: % 0.5 y.

karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petrinin bir kenarında gelişim olurken, 10. günde küf derinin kesme kenarına kadar gelmiş ve 14. günde aynı şekilde kalmıştır. 17. günde deri üstünde 3 mm kadar gelişmiş ve 21. günlük periyotta yine aynı şekilde kalmış, 24 ve 28. günlük inkübasyon periyotlar sonucunda da deri üzerinde 5 mm kadar geliştiği tespit edilmiştir. % 0.5 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde olduğu gibi %1 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petrinin bir kenarında gelişim olurken, 10. günde küf derinin kesme kenarına kadar gelmiş ve 14. günde aynı şekilde kalmıştır. 17. günde ise deri üstünde 2 mm kadar küf gelişmiş ve 21. gün sonunda aynı şekilde kalmıştır. Yine % 0.5 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde olduğu gibi 24 ve 28 günlük inkübasyon periyotlar sonucunda da deri üzerinde 5 mm kadar geliştiği tespit edilmiştir. %2 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petrinin bir kenarında gelişim olurken, 10. günde küf derinin kesme kenarına kadar gelmiş ve 17. güne kadar bu şekilde kalmıştır. 21. günde ise derinin üzerinde 2 mm kadar gelişirken 24. günde gelişim 3 mm daha artarak 5 mm kadar çıkmıştır. 28. deneme periyodu sonunda ise derinin üstünde küf gelişiminin 5 mm olarak kaldığı tespit edilmiştir.

Gundidza, (1993) yaptığı çalışmalar sonucunda ***Schinus molle***'nin taze yapraklarından elde edilen yağın ***Alternaria alternata***'ya karşı etkili olduğunu bulmuştur. Ancak yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular pikle derilerde kullanılan uçucu yağ miktarlarının belirlenen süre içinde yeterli korumayı sağlayamadığını göstermektedir.

İki farklı uçucu yağ karışımı içeren derilerde de şu durumlar gözlenmiştir: Çizelge 11 incelendiğinde %1.5 rezene-kekik-defne uçucu yağı içeren karışım 7. ve 10. günlük inkübasyon periyodu sonucunda petride küf gelişimi gözlenmezken, 14 ve 17. günlerde küf petrinin bir kenarında gelişmeye başlamıştır. 21 günlük inkübasyon periyodunda ise küfün derinin kesme kenarına kadar iyice sokulduğu gözlenmiştir.24. günde deri üzerinde 15 mm.'lik bir gelişim gösterirken bu gelişim 28. günde de aynı şekilde kalmıştır. %1.5 y. karabiber-kekik-defne uçucu yağı içeren diğer karışımı içeren derilerin bulunduğu petrilerde ise yine 7. ve 10. günlük inkübasyon periyodu sonucunda petride küf gelişimi

gözlenmezken 14. günde küf petrinin bir kenarında gelişmeye başlamıştır. 17 günlük inkübasyon periyodunda küf deri üzerinde 2 mm'lik gelişim gösterirken bu gelişim 21. günde 3mm'ye çıkmış ve 24. günde deri üzerinde 5 mm.'lik bir gelişim gösterirken bu gelişim 28. günde de aynı şekilde kalmıştır.

Pikle ağırlığı üzerinden tavsiye edilen miktar olan %0.02 oranında kullanılmış Fungisid A (N-OITZ aktif bileşenli) ve %0.04 oranında kullanılmış Fungisid B (TCMTB aktif bileşenli) iki fungisid içeren pikle deri örnekleri ile yapılan denemeler sonucunda ise birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre Fungisid A içeren deri numunelerinin bulunduğu petri kaplarında ilk 17 günlük inkübasyon periyodu boyunca petri kabında küf gelişimine rastlamamıştır. 21. günde deri etrafında 35 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşmuş ancak 24. günde bu zon kaybolarak test küfü derinin kesme kenarına kadar yanaşmış ve 28. gün sonunda da bu şekilde kaldığı tespit edilmiştir. Buna göre pikle ağırlığı üzerinden %0.04 oranında kullanılmış Fungisid B içeren deri numunelerinin bulunduğu petri kaplarında ise ilk 14 gün petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenirken, 17. günde deri etrafında 45 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşmuş, bu zon 21. günde küçülerek 35 mm düşmüş yani küf deriye daha da yaklaşmaya başlamış ve 24. günde de 32 mm'ye gerilemiştir. 28. günlük inkünbasyon periyodu sonunda ise küfün derinin kesme kenarına kadar iyice sokulduğu ancak deri üzerinde gelişime başlamadığı ve fungisidin hala yarar sınırı içinde kaldığı söylenebilmektedir. Buna göre her iki fungisidde ***Alternaria alternata*** test küfüne karşı yönteme göre yarar sınırı içinde bulunmaktadırlar.

4.1.5. Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Yapılan Denemelerin Bulguları ve Tartışma

ASTM 4576-86/91 test yöntemine göre besi ortamı bulunan petrilerde deri örneklerine kontrol maksadıyla hiçbir küf sporu aşılanmaksızın denemeler gerçekleştirilir. İnkübasyon süresi boyunca tüm deri örnekleri sanki küf ekimi yapılmış gibi kontrol edilir. Yapılan bu denemelerdeki amaç derilerin işlentisi sırasında yahut sonrasında derilerde bir kontaminasyon oluşup oluşmadığını yahut olmuşsa bile

kullanılan koruyucu maddelerin bu kontaminasyon küflerine karşı gösterdikleri davranışların kontrol edilmesidir. Steril çalışmaya ne kadar gayret edilirse edilsin en azından deri işlentisi sırasında kullanılan dolaplardan yahut malzemelerden hatta havadan bile küf sporunun kontamine olması yüksek olasılık dahilindedir. Yapılan araştırmalar sonucunda havada 10^5 spor/ m^3 olduğu tespit edilmiştir (Ustaçelebi,1999).

Birbir vd. (1994), tropikal iklim koşullarında küf enfeksiyonları sebebiyle deri ve deri ürünleri kalitesinin çoğu kez zarar gördüğünü, ılık sıcaklık ve yüksek nemin küf büyümesinde etkili rol oynadığını, bundan dolayı da derilerde meydana gelebilecek fungal büyümeyi önlemek için deri işleme sırasında fungisid kullanımının büyük önem taşıdığını belirtmişlerdir.

Şen ve Asan (2003), Edirne'de sebze ekim alanlarında havayla taşınan fungusları inceledikleri çalışmalarında 12 fungal genus bulmuşlardır. Bunlar; ***Absidia, Alternaria, Aspergillus, Botryotricum, Chlamydomyces, Cladosporium, Endocochlus, Fusarium, Nematochtonus, Penicillium, Trichoderma ve Torula***'dır. ***Cladosporium*** ve ***Alternaria*** sıcaklıkla pozitif korelasyon gösterirken, nisbi nem ile negatif korelasyon göstermişlerdir. ***Cladosporium carpophilum*** türü Mayıs, Temmuz ve Eylül aylarında maksimum konsantrasyonda tespit edilirken, ***Alternaria alternata*** türü sadece Ağustos ayında maksimum tespit edilmiştir.

Çizelge-12'de gösterildiği gibi fungisid veya uçucu yağ içermeyen pikle deri örnekleri bulunan petri kabında 7 günlük inkübasyon periyodu sonunda kontaminasyon küfünün derinin kesme kenarına kadar geldiği gözlenmiş ve bu küf 10 günlük inkübasyon sonunda da deriyi tamamen kaplamıştır.

Kekik uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilere hiçbir test küfü aşılanmadan yapılan çalışmalarda ise şu bulgular elde edilmiştir: %0.5 kekik uçucu yağı ile muammele görmüş pikle derileri

içeren petrilerde 14 günlük inkübasyon periyodu sonucu petri kabında herhangibir küf gelişimine rastlanmazken 17.günde petri kabının kenarında bir küf gelişimi gözlenmiş ve 21. günde deriyi tamamen kaplamıştır. %1 kekik uçucu yağı ile muammele görmüş pikle derileri içeren petrilerde ise 17. güne kadar petri kabında herhangibir küf gelişimi gözlenmezken 21. günde gelişen bir küf derinin kesme kenarına kadar iyice yanaşmış ve 24. günde deriyi tamamen kaplamıştır. %2 kekik uçucu yağı ile muammele görmüş pikle derileri içeren petrilerde 28 günlük inkübasyon periyodu boyunca herhangi bir küf gelişimi gözlenmemiş ve petri tamamen temiz kalmıştır.

Defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilere küf ekimi yapılmadan gerçekleştirilen çalışmalarda ise şu bulgular elde edilmiştir: % 0.5 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 10 günlük inkübasyonu boyunca petrilerde herhangi bir küf gelişmezken, 14. günde gelişen bir küf derinin kesme kenarına kadar yanaşmış ve 17. günde deriyi tamamen kaplamıştır. % 1 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 17 günlük inkübasyonu boyunca petrilerde herhangi bir küf gelişmezken 21. günkü kontrolde derilerin kontamine funguslarla tamamen kaplandığı tespit edilmiştir. % 1 defne uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerde ise 10 günlük inkübasyon boyunca petrilerde herhangi bir küf gelişmezken 14. günde gelişen küfler derilerin üzerini tamamen kaplamışlardır.

Rezene uçucu yağı içeren derilerle yapılan çalışmada ise Çizelge 12'de de görüldüğü gibi sonuçlar bulunmuştur. Buna göre % 0.5 rezene uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 7 günlük inkübasyonu boyunca petrilerde herhangi bir küf gelişmezken 10. günde gelişen bir küf derinin kesme kenarına kadar yanaşmış ve 14. günde deriyi tamamen kaplamıştır. % 1 rezene uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 10 günlük inkübasyonu boyunca petrilerde herhangi bir küf gelişmezken 14. günkü kontrolde derilerin kontamine funguslarla tamamen kaplandığı tespit edilmiştir. % 2 rezene uçucu yağı içeren pikle derilerin bulunduğu petrilerin 10 günlük inkübasyonu boyunca petrilerde herhangi bir küf gelişmezken 14. günde gelişen bir küf derinin kesme kenarına kadar yanaşmış ve 17. günde deriyi tamamen kaplamıştır.

Yalancı karabiber (***Schinus molle***) uçucu yağı içeren derilerle küf ekimi yapılmadan gerçekleştirilen çalışmalarda Çizelge-12'dende

Çizelge-12: Besiyerli Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Fungus Aşılanması Yapılmadan Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME		GÜNLER						
Koruyucular	% Oran	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
O. minutiflorum	0,5	3*	3*	3*	3**	1	1	1
	1	3 *	3*	3*	3*	2-3	1	1
	2	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3 *
L. nobilis	0,5	3*	3*	2-3	1	1	1	1
	1	3*	3*	3*	3*	1	1	1
	2	3*	3*	1	1	1	1	1
F. vulgare	0,5	3*	2-3	1	1	1	1	1
	1	3*	3*	1	1	1	1	1
	2	3*	3*	2-3	1	1	1	1
S. molle	0,5	3*	3*	3*	3*	1	1	1
	1	3*	3*	1	1	1	1	1
	2	3*	3*	1	1	1	1	1
Karışım(F+L+O)	1,5	3*	3*	3*	1	1	1	1
Karışım (S+L+O)	1,5	3*	3*	3*	1	1	1	1
Fungisid A	0,02	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3 *
Fungisid B	0,04	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3 *
Pikle	-	2-3	1	1	1	1	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

görüldüğü gibi şu sonuçlar bulunmuştur: % 0.5 y. karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde 17 günlük inkübasyon periyodu sonucunda herhangi bir gelişim olmazken, 21 günlük inkübasyon periyoduna kadar olan sürede gelişen küfler deriyi tamamen kaplamıştır. % 1 ve % 2 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerin bulunduğu petrilerde aynı sonuçlar bulunmuştur . Buna göre 10 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petride herhangi bir küf gelişimi olmazken, 14. günlük inkübasyon periyodunda deriler incelendiğinde küflerin derileri tamamen kapladığı tespit edilmiştir.

%0.02 oranında kullanılmış Fungisid A (N-OITZ aktif bileşenli) ve %0.04 oranında kullanılmış Fungisid B (TCMTB aktif bileşenli) iki fungisid içeren pikle deri örnekleri ile küf ekimi olmaksızın yapılan denemeler sonucunda her iki fungisidde de aynı sonuçlar gözlenmiştir. Bu sonuçlar aynı zamanda %2 kekik uçucu yağı ile muammele görmüş pikle derileri içeren petrilerde de elde edilen bulguların aynısıdır. Buna göre 28 günlük inkübasyon periyodu boyunca petrilerde herhangi bir küf gelişimi gözlenmemiş ve petri kapları tamamen temiz kalmıştır.

Denemeler sırasında sadece küflerin değil mayaların da derilere kontamine olabildiği tespit edilmiştir.

4.2. Besiyersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması, Deneme Bulguları ve Tartışma

4.2.1. *Trichoderma viride* Spor Süspansiyonlarının Besi Yersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasındaki Fungal Büyümeler

Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Trichoderma viride'nin*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan 0.2 ml aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmış ve çizelge 13'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş pikle deri örnekleri de teste tabi tutulmuşlar, ayrıca derileri daha nemli

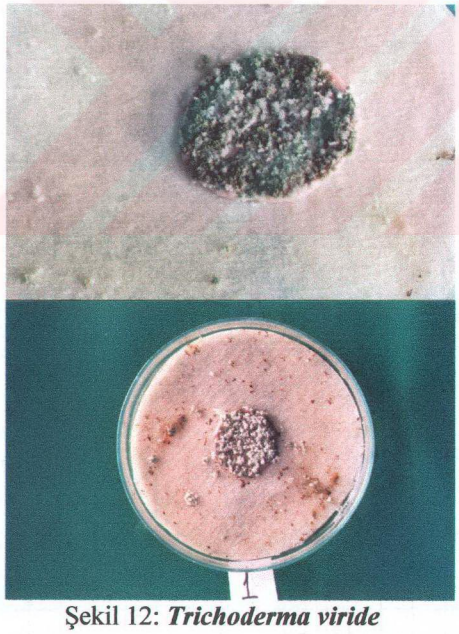
tutabilmek ve pratikte yapılan sehpalama işlemindeki derilere benzer çalışma koşullarını sağlamak amacıyla derilerin altına konan filtre kağıtları da deriler konmaksızın aynı denemelere tabi tutulmuşlardır.

Şekil 12'de ***Trichoderma viride*** tarafından maksimum düzeyde kaplanmış pikle deri örneği gösterilmektedir.

Trichoderma viride aşılanarak yapılan denemelerde 1.hafta sonunda deri içermeyen filtre kağıdında fungus üremesi gözlenirken normal pikle deri dahil hiçbir deri numunesinde küf üremesi olmamıştır.

2. hafta sonunda yalancı karabiber ve normal pikle derilerde az miktarda küf üremesi gerçekleşmiştir. Kağıtta orta üreme vardır.

3. haftada yalancı karabiber orta derecede ürerken, normal pikle de küf gelişimi çok fazla olmuştur. Kağıtta da üreme çok fazlalaşmıştır.



Şekil 12: ***Trichoderma viride***

Çizelge 13-Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *Trichoderma viride* ile yapılan denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
O. minutiflorum	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L. nobilis	0,5	-	-	-	-	1+	1+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	3+	4+	4+
F. vulgare	0,5	-	-	-	-	1+	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
S. molle	0,5	-	1+	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	1+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	1+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pikle kontrol	-	-	1+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Derisiz kontrol	-	1+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

4. haftada % 0.5 yalancı karabiberle işlem gören derilerde küf gelişimi maksimuma çıkarken diğer oranlarında çok fazalalaşmıştır. Pikle deri ve kağıdı ise maksimum düzeyde kaplamıştır.

2. aya gelindiğinde 1.hafta sonunda % 0.5 defne ve rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi az da olsa başlamışken, yalancı karabiberle işlem gören derilerde tüm oranlar için küf gelişimi maksimuma çıkmıştır.

2. ayın 2. haftasında % 0.5 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi yine az kalırken, % 1 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi orta durumdadır. Rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi tüm konsantrasyonları için orta derecededir.

2. ayın 3.haftasında % 0.5 ve % 1 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi maksimuma çıkmıştır. Rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi de tüm konsantrasyonları için maksimum düzeye ulaşmıştır. Bu haftadan sonra 4. ayın 1. haftasına kadarki sürede 2.ayın 3. haftasında tespit edilen üremeler durumunu korumuştur.

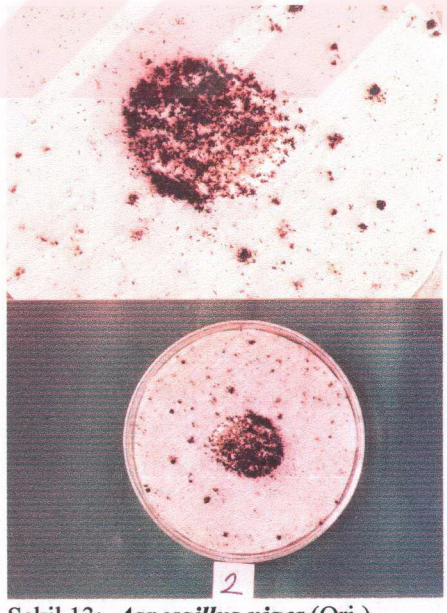
4. ayın 1. haftasında % 2 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi orta düzeyde karşımıza çıkarken, 4.ayın 2. haftasında orta düzeye ulaşmıştır. 4. ayın 3. haftasında ise maksimum düzeye ulaşmıştır. 4. ayın 3. haftasında % 0.5 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi yeni başlamıştır ve 4. ayın 2. haftasında da az üreme olarak kalmıştır. ***Trichoderma viride*** spor süspansiyonlarının besiyerisiz petrilerdeki pikle deri örneklerine aşılanması ile yapılan denemelerde 4 ay müddetince Fungisid A ve Fungisid B içeren pikle derilerde, her iki uçucu yağ karşımı içeren pikle derilerde ve %1 ve %2 kekik uçucu yağı ile muamele gören derilerde küf üremesi gözlenmemiştir. Bu denemeye göre bu maddeler test küfüne karşı pikle derileri 4 ay müddetince korumuşlardır. %0.5 kekik uçucu yağı ile muamele gören deriler ise bu küf gelişimine 3 ay 15 gün izin vermemiştir.

Deri numunesi içermeyen spor aşılanmış ve steril suyla ıslatılmış petri kaplarında 27 ^{o}C lik inkübasyon süresince bir hafta sonunda

Trichoderma viride'nin geliştiği tespit edilmiştir. Bu da bize ***Trichoderma viride***'nin selülaz enzimine sahip olduğunu göstermektedir. Telefoncu (1995), selülaz üretiminde en çok ***Trichoderma viride***'nin kullanıldığını bildirmiş ve enzim oluşumunun selüloz tarafından indüklendiğini belirtmiştir.

4.2.2. *Aspergillus niger* Spor Süspansiyonlarının Besiyerisiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler

Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Aspergillus niger***'in 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan 0.2 ml aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmış ve çizelge-14'de gösterilmiştir. Ayrıca anlatıma başlamadan önce Şekil 13'de ***Aspergillus niger*** tarafından maksimum düzeyde kaplanmış pikle deri örneği gösterilmektedir.



Şekil 13: ***Aspergillus niger*** (Orj.)

Aspergillus niger aşılanarak yapılan denemelerde 1.hafta sonunda normal pikle deri dahil hiçbir deri numunesinde küf üremesi olmamıştır. 1. ayın 2.haftasında ise pikle deride küf gelişimi orta düzeyde olurken deri olmayan filtre kağıtlarında da üreme yeni başlamıştır.

1. ayın 3. haftasında koruma pikle derilerinde söz konusu test küfünün gelişimi maksimum düzeye ulaşırken kağıtta çok üreme gözlenmiştir. Kağıt üzerinde ki küf gelişimi 2. ayın 1. haftasında maksimuma çıkmıştır.

2. ayın 3. haftasında % 2 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi orta derecede gözlenirken % 0.5 rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi çok fazla olarak tespit edilmiştir.

2. ayın 4. haftasında % 0.5 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi orta derecedeyken %1 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi yeni başlamıştır. Bunun yanında % 1 ve 2 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesinin ise maksimum düzeyde gerçekleştiği tespit edilmiştir.Aynı şekilde % 0.5 ve 1 rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde de küf üremesinin maksimum düzeye ulaştığı gözlenmiştir. % 2 rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde ise çok fazla küf gelişimi tespit edilmiştir.

3. ayın 1. haftasında % 0.5 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi çok fazla dereceye çıkarken, % 1 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi orta dereceye çıkmıştır. % 0.5 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde ise küf üremesi yeni başlamıştır. Bu haftada %0.5 ve 1 y. karabiber uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde de küf üremesinin orta düzeyde iken %2 y. karabiber uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde de küf üremesinin yeni başladığı gözlenmiştir.

3. ayın 2. haftasında %0.5 ve %1 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi aynı şekilde kalırken, % 0.5 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde ise küf üremesi orta düzeye çıkmıştır.

Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi ise yeni başlamıştır.

3. ayın 4. haftasında % 0.5 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi maksimuma ulaşırken, %1 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi çok fazlalaşmıştır. % 0.5 defne uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde ise küf üremesi de maksimuma ulaşmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi çok fazla düzeyde artış gösterirken diğer karışım olan kekik + defne + rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi yeni başlamıştır.

4. ayın 1.haftasında %1 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi çok fazlalaşmış, bunun yanında %2 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi yeni başlamıştır. Aynı durum Fungisid A ve Fungisid B içeren derilerde de görülmüştür. Kekik + defne + rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi de bir önceki hafta ile aynı kalmıştır.

4. ayın 2.haftasında %1 ve %2 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi bir önceki hafta ile aynı durumda kalmıştır. Bu durum Fungisid A ve Fungisid B içeren derilerde de aynıdır. Kekik + defne + rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi biraz artmıştır.

4. ayın 3.haftasında %1 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi maksimum düzeye ulaşmış, bunun yanında % 2 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi orta seviyelere ulaşmıştır. Fungisid A ve Fungisid B içeren pikle derilerde % 2 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde elde edilen sonuçların aynısı elde edilmiştir, yani üreme orta düzeydedir. Kekik + defne + rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde de orta düzeyde üreme ile bir önceki bulguların aynısı elde edilmiştir.

4. ayın son haftasında Fungisid A ve Fungisid B içeren pikle deriler, %2 kekik uçucu yağıyla işlem gören pikle deriler ve kekik + defne + rezene uçucu yağıyla işlem gören pikle derilerde küf üremesi orta bir gelişim göstererek hepsinde aynı düzeyde kalmıştır. Geri kalan tüm derilerde maksimum bir gelişim görülmüştür.

Çizelge 14- Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *A. niger* ile Yapılan Denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
O. minutiflorum	0,5	-	-	-	-	-	-	-	2+	3+	3+	3+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+
L. nobilis	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
F. vulgare	0,5	-	-	-	-	-	-	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	-	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
S. molle	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+	2+
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	3+	4+	4+	4+	4+
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+
Pikle kontrol	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Derisiz kontrol	-	-	1+	3+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+

1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme -: üreme yok

Pikle derilerde besi ortamı olmadan ***Aspergillus niger*** aşılanması ile yapılan çalışmalar sonucunda % 0.02 Fungisid A, % 0.04 Fungisid B ve %2 kekik uçucu yağının derileri 3 ay müddetçe bu küfün gelişiminden koruduğu, ancak 4. ayın başında küf üremesi başlayarak derileri yavaş yavaş kapladığı tespit edilmiştir. Bu maddelerden sonra bu küfe karşı pikle derileri en uzun koruyan diğer bir madde 3 ay 3 hafta ile % 1.5'lik kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımı olarak tespit edilmiştir.

Deri numunesi içermeyen spor aşılanmış ve steril suyla ıslatılmış petri kaplarında 27 °C lik inkübasyon süresince 2 hafta sonunda ***Aspergillus niger***'in kağıt üzerinde geliştiği tespit edilmiştir. Bu da bize ***Trichoderma viride***'de olduğu gibi bu küfün de selülaz enzimi ürettiğinin bir göstergesidir. Nitekim, *Covington et al. (1999),* küçükbaş ve büyükbaş derilerin üzerinde bulunan yabancı maddeleri enzimatik olark uzaklaştırarak yaptıkları çalışmalar sırasında deri üzerinde kıllara yapışmış tezek gibi maddelerin büyük oranda lignosellülotik maddeler (selüloz, hemiselüloz ve lignin) içerdiğini belirtmişlerdir. Bu maddelerin kıllar üzerinden ayrılmasında ***Coriolus versicolor***, ***Trichoderma reesei*** ve ***Aspergillus niger***'den üretilen enzimler ile bu maddelerin çözünürlüğünü hızlandırmaya ve ıslatma- yumuşatma süresini kısaltmaya çalışmışlardır.

4.2.3. *Penicillium rubrum* Spor Süspansiyonlarının Besiyerisiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler

Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Penicillium rubrum'un*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonu ile aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmıştır.

Çizelge-15 incelenecek olursa ***Penicillium rubrum*** ile aşılanmış pikle derilerde 2. ayın 2. haftasına kadar herhangi bir gelişim

gözlenmeken bu haftada koruma amaçlı pikle deri ve % 0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde küf üremesi başlamıştır.

2. ayın 3.haftasında koruma amaçlı pikle deri ve % 0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde küf üremesi aynı oranda kalırken %1 ve % 2 rezene uçucu yağı içeren derilerde ve Fungisid A içeren derilerde küf üremesi başlamıştır. Tüm bu anlatılan derilerdeki üreme bir hafta sonra yani 2. ayın 4. haftasında orta düzeye ulaşırken yalancı karabiberin tüm konsantrasyonlarında uçucu yağı içeren pikle derilerde küf gelişimi başlamıştır.

3. ayın 1. haftasında 2. ayın 4. haftasında elde edilen bulgular aynı olup, üreme sabit bir şekilde seyretmiştir. Aynı durum 3. ayın 2. haftası için de geçerliğini korumuştur.

3. ayın 3. haftasında Fungisid A, rezene uçucu yağının tüm konsantrasyonlarını içeren derilerde ve normal koruma amaçlı pikle derilerde küf üremesi çok fazlalaşmıştır. Yalancı karabiberin tüm konsantrasyonlarında uçucu yağı içeren pikle derilerde küf gelişimi ise başlangıç düzeyde kalmıştır. Bir hafta sonrası için de tüm deriler için 3. ayın 3. haftasındaki bulgular geçerliğini korumuştur.

4. ayın 1. haftasında rezene uçucu yağının tüm konsantrasyonlarını içeren derilerde, Fungisid A'da ve normal koruma amaçlı pikle derilerde küf üremesi çok fazla düzeyde kalırken yalancı karabiberin tüm konsantrasyonlarında uçucu yağ içeren pikle derilerde ise orta düzeye çıkmıştır.

4. ayın 2. haftasında 4. ayın 1. haftasındaki üremeler sabit bir şekilde kalmıştır.

4. ayın 3. haftasında varolan küf gelişimlerinin hepsi çok fazla düzeyde olmakla beraber maksimum düzeye çıkmadan 4. ayın 4. haftasında da aynı derecede kalmışlardır. 4. ayın 4. haftasında üremesi fazla olan deriler rezene ve yalancı karabiberin tüm konsantrasyonlarında uçucu yağ içeren pikle derilerde, Fungisid A içeren ve normal koruma amaçlı pikle derilerdir. % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde küf üremesi ise yeni başlamıştır.

Çizelge 15: Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *P. rubrum* ile yapılan denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	1	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	2	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
Schinus m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+	1+	1+	2+	2+	3+	3+
	1	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+	1+	1+	2+	2+	3+	3+
	2	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+	1+	1+	2+	2+	3+	3+
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pikle kontrol	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
Derisiz kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

Bu denemeler sonucunda ***Penicillium rubrum***'un diğer denenen test küfleri ile karşılaştırıldığı zaman koruma amaçlı pikle deriye en duyarlı küf olduğu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kullanılan küf türünün %0.02 oranında Fungisid A içeren derilere karşı etkili olmaması bu fungusun N-OITZ içerikli fungisidlere dirençli olduğu fikrini oluşturmaktadır. Bunun yanında kekik uçucu yağını içeren pikle deriler, %1 ve %2 defne uçucu yağını içeren deriler, iki farklı karışımı içeren pikle deriler ve Fungisid B içeren deriler 4 ay boyunca küf üremesi göstermemişlerdir. Bu maddelerin pikle derileri 4 ay koruduğu tespit edilmiştir.

Guynot et al. (2003), yaptığı çalışmalar sonucunda tarçın yaprağı, karanfil, defne, limonotu ve kekik uçucu yağlarının ***Penicillium*** genusunun olduğu türlere karşı antifungal potansiyellerinin olduğunu belirtmiştir. Bu sonuç da elde edilen bulguları destekler niteliktedir.

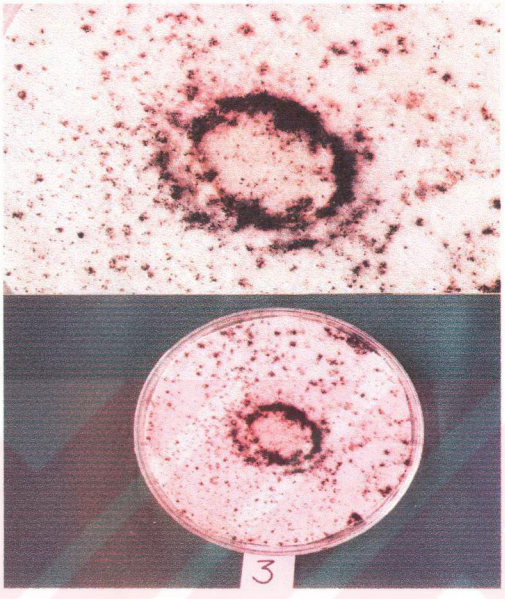
Penicillium rubrum'un deri örnekleri olmaksızın filtre kağıdına aşılanarak 4 ay süresince inkübe edilerek yapılan denemelerde, kağıtta küfün gelişim göstermediği tespit edilmiştir.

4.2.4. *Alternaria alternata* Spor Süspansiyonlarının Besiyersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler

Pikle ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Alternaria alternata***'nın 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan 0.2 ml aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmış ve çizelge-16'da gösterilmiştir. Ayrıca şekil 14'de ***Alternaria alternata*** tarafından maksimum düzeyde kaplanmış pikle deri örneği gösterilmektedir.

Çizelge-16 incelendiği zaman ***Alternaria alternata***'nın pikle deri örnekleri olmaksızın filtre kağıdına aşılanarak 4 ay süresince inkübe edilmesiyle yapılan denemelerde, kağıtda küfün 1. ayın 3. haftasında

gelişim göstermeye başladığı ve bir hafta içinde de kağıdı tamamen kapladığı tespit edilmiştir.



Şekil 14: ***Alternaria alternata***

1. ayın 3. haftasında pikle deri örnekleri orta derecede gelişim gösterirken bir hafta sonra küf çok fazla üreme göstermiştir. 1. ayın 4. haftasında %2 yalancı karabiber uçucu yağını içeren deriler, orta derecede üreme göstermişlerdir.

2. ayın 1. haftasında koruma amaçlı normal pikle deriler ve % 2 yalancı karabiber uçucu yağını içeren deriler bir önceki haftada olduğu gibi yine aynı derecede üreme gösterirlerken %0.5 defne uçucu yağını içeren derilerde küf üremesi başlamıştır.

2. ayın 2. haftasında % 0.5 defne uçucu yağını içeren derilerde küf üremesi orta düzeye çıkarken, % 0.5 rezene uçucu yağını içeren derilerde küf üremesi başlamıştır. % 2 yalancı karabiber uçucu yağını içeren derilerde ve normal pikle derilerde üreme çok fazla olarak tespit edilmiştir.

2. ayın 3. haftasında % 0.5 defne, % 0.5 rezene, % 2 defne uçucu yağlarını içeren derilerde küf üremesi orta düzeyde gözlenirken, % 0.5 ve % 1 yalancı karabiber uçucu yağını içeren derilerde çok üreme tespit edilirken % 2 yalancı karabiber uçucu yağını içeren derilerde üreme maksimuma çıkmıştır. Bunun yanı sıra kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında küf gelişimi başlamıştır. Koruma piklesi yapılmış derilerde de önceki haftalarda olduğu gibi fazla düzeyde küf gelişimi olmuştur.

2. ayın 4. haftasında % 0.5 defne ve % 2 defne uçucu yağlarını içeren derilerde küf üremesi orta düzeyde gözlenirken, % 0.5 rezene uçucu yağını içeren derilerde küf üremesi fazlalaşmış ve % 1 rezene uçucu yağını içeren derilerde küf üremesinin orta düzeyde olduğu gözlenmiştir. Yalancı karabiber uçucu yağını içeren tüm derilerde küf üremesi maksimum düzeye çıkmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında küf gelişimi orta düzeyde ve koruma piklesi yapılmış deriler de de önceki haftalarda olduğu gibi fazla düzeyde küf gelişimi olmuştur.

3. ayın 1. haftasında % 0.5 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme başlamışken, yine % 1 defne uçucu yağını içeren derilerde üreme gözlenmiştir. % 0.5 ve 2 defne uçucu yağını içeren derilerde üreme ise fazla düzeyde tespit edilmiştir. % 0.5 ve 1 rezene uçucu yağını içeren derilerde üreme maksimuma ulaşırken % 2 rezene uçucu yağını içeren derilerde üreme yeni başlamıştır. Hiçbir koruyucu içermeyen pikle derilerde de küf gelişimi maksimuma çıkmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında küf gelişimi orta düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

3. ayın 2. haftasında % 0.5 ve %1 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme orta düzeyde tespit edilmiştir. % 0.5 defne uçucu yağını içeren derilerde üreme ise fazla düzeyde tespit edilirken, % 2 defne uçucu yağını içeren derilerde üreme maksimuma çıkmıştır. % 2 rezene uçucu yağını içeren derilerde üreme başlangıç düzeyde kalmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında küf gelişiminin arttığı tespit edilmiştir.

Çizelge 16: Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde *A. alternata* ile yapılan denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	2+	3+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	2+	2+	3+	3+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	2+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	1+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	3+	4+	4+	4+	4+	4+
Schinus m.	0,5	-	-	-	-	-	-	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	2+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+	2+	3+	3+
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	4+
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	3+	3+
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+	2+	2+	2+
Pikle kontrol	-	-	-	2+	3+	3+	3+	3+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Derisiz kontrol	-	-	-	1+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

3. ay 3. haftada, % 0.5 ve %1 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme orta düzeyde kalmıştır. % 2 rezene uçucu yağını içeren derilerde aynı şekilde üreme çok artmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında küf gelişimi aynı şekilde kalırken diğer karışımda yani kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımında küf gelişimi yeni başlamıştır.

3. ay 4. haftada % 0.5 ve % 1 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme orta düzeyde kalmıştır. % 0.5 defne uçucu yağını içeren derilerde üreme ise fazla düzeyde tespit edilip bir önceki haftayla aynı durumda iken, % 1 defne uçucu yağını içeren derilerde ve % 2 rezene uçucu yağını içeren derilerde aynı şekilde üreme maksimuma çıkmıştır. Her iki uçucu yağ karışımında küf gelişimi aynı şekilde kalmıştır. Fungisid A ve Fungisid B içeren pikle derilerde küf gelişimi yeni başlamıştır.

4.ay 1. haftada % 0.5 ve % 1 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme çok artmıştır. % 0.5 defne uçucu yağını içeren derilerde üreme maksimuma çıkmıştır. Her iki uçucu yağ karışımında küf gelişimi aynı şekilde kalmıştır. Fungisid A ve Fungisid B içeren pikle derilerde ise küf orta derece üreme göstermiştir.

4. ay 2. haftada % 0.5 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme maksimuma ulaşırken, % 1 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme aynı şekilde kalmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında olduğu gibi kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımında da küf gelişimi aynı şekilde kalmıştır. Fungisid A ve Fungisid B içeren pikle derilerde ise küf orta derecede kalmıştır.

4. ay 3. haftada % 0.5 ve % 1 kekik uçucu yağını içeren derilerde üreme maksimuma çıkmıştır. Kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımında da küf gelişimi çok artmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında ise küf gelişimi aynı şekilde kalmıştır. Fungisid B içeren pikle derilerde ise küf orta derece üreme göstermiştir. Fungisid A'da ise artarak çok üremeye geçmiştir.

4. ay 4. haftada kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımında da küf gelişimi aynı şekilde kalmıştır. Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımında ise küf gelişimi maksimuma çıkmıştır. Fungisid

B içeren pikle derilerde ise küf üremesi orta derecede, Fungisid A'da ise çok üremiş bir şekilde bir önceki haftayla aynı şekilde kalmışlardır.

Deri numunesi içermeyen spor aşılanmış ve steril suyla ıslatılmış petri kaplarında 27 °C lik inkübasyon süresinin 3. haftasında kağıt üzerinde geliştiği tespit edilmiştir. Buradan yola çıkarak bu küfün de selülaz enzimi ürettiği söylenebilir. Das et al.,(1997) ***Alternaria alternata***'nın doğal selülozik bir fungus olduğundan bahsetmişlerdir ve fungusun her mevsimde gelişebileceğini bildirmişlerdir.

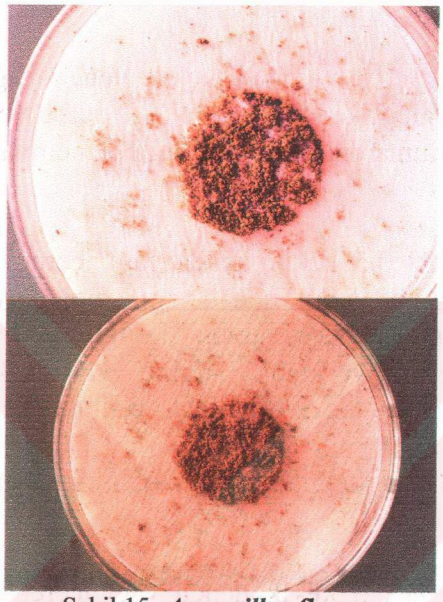
Alternaria alternata gelişimine karşı en başarılı koruyucunun % 2 oranındaki kekik uçucu yağı olduğu denemeler sonucunda tespit edilmiştir. Buna göre 4 aylık inkübasyon periyodu süresince deride ***Alternaria alternata*** gelişimine mani olan tek madde olmuştur.

4.2.5. Besiyersiz Petrilerdeki Pikle Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Oluşan Fungal Büyümeler

Kontrol amacıyla yapılan denemelere göre küf sporu aşılaması olmaksızın yapılan çalışmalarda derilerin işlem sırası yahut sonrasında küflerce kontamine olup olmadığına bakılmaktadır. Bunun yanında kontaminasyon oluyorsa kontamine olmuş test küfüne karşın fungisidlerin ve antimikrobiyal maddelerin davranışları da incelenmektedir. Şekil 15'de çalışmalar sırasında koruma piklesi yapılmış derilere kontamine olan önce yeşil renkte üremeye başlayıp daha sonrasında kahverengine dönüşen küfün çok fazla kontamine olabildiği gözlenmiştir. Bu fungusun teşhisi T.E.M. tarafından yapılmış ve fungusun ***Aspergillus flavus*** olduğu teşhis edilmiştir.

Annamalai et al (1997), 1.3 Oxazine analog birleşiklerinin fungisidal etkinliğini çeşitli test organizmaları üzerinde denemiş ve çalışılan fungal türlere karşı ortaya konulan antifungal aktivitelerin farklılıklar gösterdiğini bildirmiştir. ***Mucor*** ve ***Penicillium*** türlerinin bu bileşiklere oldukça duyarlı, ***Aspergillus flavus*** 'un ise test edilen bütün

bileşiklere karşı oldukça dayanıklı olduğunu ifade etmişlerdir. Bu sonuç da yukarıda anlatılan gözlemleri doğrular niteliktedir.



Şekil 15- ***Aspergillus flavus***

Çizelge-17 incelendiği zaman şu sonuçlar ortaya çıkmaktadır: Normal pikle derilerde 2. ayın 2. haftasına kadar bir küf gelişimi gözlenmezken bu haftada orta derecede küf gelişimi olmuş ve bu gelişim 3. ayın 1. haftasına kadar sabit kalmış sonrasında da maksimum düzeye çıkmıştır.

1. ayın 2. haftasında, % 0.5 yalancı karabiber uçucu yağını içeren derilerde kontaminasyon bir küf üremesi başlamıştır. 3. haftada ise orta düzeyde gelişim olmuştur.

1. ayın 4. haftasında, % 0.5 yalancı karabiber uçucu yağını içeren derilerde kontaminasyon küf üremesi çok artarken, %1 ve % 2 yalancı karabiber uçucu yağını içeren derilerde kontaminasyon küf üremesi yeni

başlamıştır. Bir hafta sonrasında da maksimum düzeye erişerek derinin tamamını kaplamışlardır.

2. ayın 3. haftasında % 0.5 kekik uçucu yağı içeren derilerde üreme yeni başlarken, defne ve rezene uçucu yağlarının tüm konsantrasyonlarını içeren derilerde üremenin orta düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

2. ayın 4. haftasında % 0.5 ve % 1 kekik uçucu yağı içeren derilerde üreme az düzeyde gözlenirken, % 0.5 ve % 1 defne uçucu yağı içeren derilerde üreme maksimuma çıkmış, % 2 defne uçucu yağı içeren derilerde ise çok artmıştır.

3. ayın 1. haftasında, % 0.5 kekik uçucu yağı içeren derilerde üreme orta düzeye yükselirken, % 1 kekik uçucu yağı içeren derilerde ise aynı kalmıştır. % 2 defne uçucu yağı içeren derilerde maksimuma çıkmıştır. Kekik + defne + rezene ve kekik + defne +yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde küf gelişimi yeni başlamıştır.

3. ayın 2. haftasında, tüm gelişimler bir önceki ay ile aynı şekilde kalmıştır.

3. ayın 3. haftasında, % 0.5 kekik uçucu yağı içeren derilerde üreme çok artmış, % 1 kekik uçucu yağı içeren derilerde ise başlangıç düzeyde kalmıştır. Kekik + defne + rezene ve kekik + defne +yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde küf gelişimi orta dereceye çıkmıştır.

3. ayın 4. haftasında, % 0.5 kekik uçucu yağı içeren derilerde üreme aynı şekilde kalırken, % 1 kekik uçucu yağı içeren derilerde ise orta düzeye çıkmıştır. Kekik + defne + rezene ve kekik + defne +yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarında küf gelişimi bir önceki haftayla aynı şekilde kalmıştır.

4. ayın 1. haftasında, % 0.5 ve % 1 kekik uçucu yağı içeren derilerde üreme çok artmış biçimdedir. Kekik + defne + rezene ve kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarında küf gelişimi bir önceki haftayla aynı şekilde kalmıştır.

Çizelge 17: Besiyersiz Petrilerde Pikle Derilerde Fungus Ekimi Olmadan Yapılan Denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+	3+	3+	3+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+	1+	2+	3+	3+	3+	3+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	-	-	-	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Schinus m.	0,5	-	1+	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	1	-	-	-	1+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
	2	-	-	-	1+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	2+
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	2+
Pikle kontrol	-	-	-	-	-	-	2+	2+	2+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Derisiz kontrol	-																

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

4. ayın 1. haftasında, % 0.5 kekik uçucu yağı içeren derilerde üreme maksimuma çıkarken, % 1 kekik uçucu yağı içeren derilerde ise önceki haftayla aynı şekilde kalmıştır. Kekik + defne + rezene ve kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarında küf gelişimi bir önceki haftayla aynı şekilde kalmıştır.

4. ayın 2. haftasında, 4. ayın 1. haftasındaki üremelerin aynısı mevcudiyetini korumuştur. 4. ayın 3. haftasında bunlara ilaveten Fungisid A ve Fungisid B içeren derilerde orta derecede üreme gözlenmiştir. 4. ayın 4. haftasında da aynı gelişimler geçerliklerini korumaktadırlar.

Mamta et al.(2002), rezene (***Foeniculum vulgare)*** uçucu yağıyla yaptığı çalışmalar sonucunda ***Aspergillus flavus, A. ustus***'un miselyal gelişimini inhibe ettiklerini bulmuşlardır. Yapılan çalışmada verilen rezenenin tüm uçucu yağ oranlarında 2. ayın 3. haftasından itibaren derilerde kontamine küflerin gelişimi bu denemelerde yeterli korunmanın sağlanamadığını göstermektedir.

Bu denemeler sonucunda % 2 kekik uçucu yağı içeren derilerde 4 ay müddetince herhangi bir kontamine fungus gelişimi olmamıştır. Bu nedenle kullanılan tüm bu maddeler içinde kontamine funguslara karşı en etkili maddenin % 2 oranında kullanılmış olan kekik uçucu yağı olduğu söylenebilir.

4.3. Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması ve İnhibisyon Zon Değerleri

4.3.1. *Trichoderma viride* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

Kromlu deri ağırlığı üzerinden % 0.5, % 1 ve % 2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, % 1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve % 0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Trichoderma viride'nin*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları Çizelge-18'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla

hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge 18'de verilmiştir.

Trichoderma viride ile aşılanmış kekik (***Origanum minutiflorum***) içeren wet blue deri örnekleri bulunan petriler ile yapılan denemeler sonucunda genel olarak uçucu yağın konsantrasyonu arttıkça fungusa karşı koruyuculuk dolayısıyla inhibisyon zon çaplarında artma gözlenmiştir.

Kekik uçucu yağ konsantrasyonu % 0.5 olduğunda 7 günlük periyot sonunda 35 mm'lik bir zon oluşmuş , 10. günde bu zon çapı yine aynı şekilde kalmış, 14 günlük inkübasyon periyodunda deriye kenardan yanaşmış ve deri üstünde 2 mm. büyüme göstermiş, 17. günde derinin 7 mm. kadar üstüne kadar çıkmış ve 21.günden itibaren de deriyi tamamen kaplamıştır. Uçucu yağ konsantrasyonu iki kat arttırıldığında yani pikle deri ağırlığı üzerinden % 1 verildiğinde ise fungusa karşı daha başarılı sonuçlar alınmıştır. 24 günlük inkübasyon süresi boyunca küf sadece petrinin bir kenarında üremiş şekilde kalmış deriye yanaşamamıştır. Söz konusu küf 28 günlük inkübasyon periyodunda ise 35 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşturmuştur. Kekik uçucu yağ konsantrasyonu yine iki kat daha arttırıldığında ise daha da başarılı sonuçlar alınmıştır. İnkübasyon periyodunun 21. gününe kadar petride küf gelişememiş, 21. günde petrinin bir kenarında gelişmeye başlamış ve 28. gün bitimine kadar da bu şekilde kalmıştır.

Çizelge-18 incelendiğinde anlaşıldığı gibi defne, yalancı karabiber ve rezene bitkilerinin uçucu yağ konsantrasyonları arttırarak kullanılmasına rağmen bu grup denemelerde söz konusu küfe karşı hiçbir koruyucu içermeyen wet blue deriden daha iyi sonuçlar alınmasına rağmen bu fungusa karşı yeterli korumayı sağladıklarına dair tam bir sonuç bulunamamıştır.

Defne uçucu yağının denemeler sırasında uygulanan tüm konsantrasyonlarda, inkübasyon periyotları boyunca, kromlu deriyi bu küf türüne karşı yeterli şekilde koruyamadığı tespit edilmiştir. % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününden 24. gününe kadar deri üstünde 5 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 28. günde bu gelişim 8 mm kadar çıkmıştır. % 1 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününden 17. gününe

kadar deri üstünde 3 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir.Bu gelişim 17. günde 4 mm çıkmış, 21 günde 5 mm olmuş ve 28. günde de aynı kalmıştır. % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde sadece derilerin kesme kenarlarında küf gelişimi tespit edilirken, 10 günlük inkübasyon periyodu sonucunda bu gelişim derinin üzerinde 4 mm'ye kadar çıkmıştır ve 21 gün boyunca bu şekilde kalmıştır. 24. günde ise 5 mm'lik bir gelişm gözlenirken, 28. günde gelişim 8 mm'ye çıkmıştır.

Rezene uçucu yağında da defne uçucu yağının denemeler sırasında uygulanan tüm konsantrasyonlarda olduğu gibi, inkübasyon periyotları boyunca, kromlu deriyi bu küf türüne karşı yeterli şekilde koruyamadığı tespit edilmiştir. %0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun daha 7. gününden itibaren deri üzerinde küf gelişmi tespit edilmiş ve bu gelişim deri üstünde 15 mm olarak bulunmuştur. % 0.5 ve % 1 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 14. gününde ise deriler küfce tamamen kaplanmışlardır. % 2 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 10. gününde küf tarafından tamanen kaplanmışlardır.

Yalancı karabiber uçucu yağında da defne ve rezene uçucu yağlarının denemeler sırasında uygulanan tüm konsantrasyonlarında olduğu gibi, inkübasyon periyotları boyunca, kromlu deriyi bu küf türüne karşı yeterli şekilde koruyamadığı tespit edilmiştir. %0.5 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününden 24. gününe kadar deri üstünde 5 mm'lik küf gelişimi olduğu, % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününden 24. gününe kadar deri üstünde 5 mm'lik küf gelişimi bulunduğu tespit edilmiştir. 28. günde bu gelişim 8 mm kadar çıkmıştır. % 1 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününden 14. gününe kadar deri üstünde 3 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir.Bu gelişim 17. günde 4 mm çıkmış, 21 günde 5 mm olmuş ve 28. günde de aynı kalmıştır. % 2 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde sadece derilerin kesme kenarlarında küf gelişimi tespit edilirken, 10 günlük inkübasyon periyodu sonucunda bu gelişim derinin üzerinde 4 mm.'ye kadar çıkmıştır ve 21 gün boyunca bu şekilde kalmıştır. 24. günde ise 5 mm'lik bir gelişim gözlenirken, 28. günde gelişim 8 mm.'ye çıkmıştır.

Çizelge-18: *T. viride'nin* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME-11		GÜNLER						
Koruyucular	%	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
Origanum m.	0,5	3 (35 mm)	3 (35 mm)	2 (2 mm)	2 (7 mm)	1	1	1
	1	3 **	3**	3**	3**	3**	3**	3 (35 mm)
	2	3 *	3 *	3 *	3 *	3 **	3 **	3 **
Laurus n.	0,5	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (8 mm)
	1	2 (3 mm)	2 (3 mm)	2 (3 mm)	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)
	2	2-3	2 (4 mm)	2 (4 mm)	2 (4 mm)	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (8 mm)
Foenicum v.	0,5	2 (15 mm)	2 (15 mm)	1	1	1	1	1
	1	2 (15 mm)	2 (15 mm)	1	1	1	1	1
	2	2 (15 mm)	1	1	1	1	1	1
Schinus m.		2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (8 mm)
		2 (3 mm)	2 (3 mm)	2 (3 mm)	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)
		2-3	2 (4 mm)	2 (4 mm)	2 (4 mm)	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (8 mm)
Karışım (F+L+O)	1,5	3 (38 mm)	3 (35 mm)	2 (4 mm)	2 (6 mm)	2 (10 mm)	1	1
Karışım (S+L+O)	1,5	3 (40 mm)	3 (35 mm)	3	2-3	2 (10 mm)	1	1
Fungisid A	0,02	2 (7.5 mm)	2 (7.5 mm)	2 (10 mm)	2 (14 mm)	2 (14 mm)	2 (14 mm)	1
Fungisid B	0,04	2 (1 mm)	2 (10 mm)	2 (10 mm)	2 (13 mm)	2 (14 mm)	2 (14 mm)	1
Wet Blue	-	1	1	1	1	1	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

Kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda, söz konusu test küfüne karşı 38 mm.'lik bir inhibisyon zonunun oluştuğu ve bu zonun 10. günde 35 mm'e düştüğü, 14. günde tamamen yok olduğu hatta deri üzerinde 4 mm.'lik küf gelişiminin olduğu, bu gelişmin 17. günde 6mm'ye, 21 günde ise 10mm çıkarak 24. günde derilerin fungus tarafından tamamen kaplandığı tespit edilmiştir.

Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda, söz konusu test küfüne karşı 40 mm.'lik bir inhibisyon zonunun oluştuğu ve bu zonun 10. günde 35 mm'e düştüğü, 14. günde tamamen yok olduğu, 17. günde ise derinin kesme kenarına kadar yanaştığı, 6mm'ye, 21 günde ise 10mm çıktığı ve 24. günde derilerin fungus tarafından tamamen kaplandığı tespit edilmiştir.

Hiçbir koruyucu içermeyen pikle deri örnekleride küf aşılanmasından sonra daha 7 günlük inkübasyon süresine gelmeden küf tarafından kaplanmışlardır.

Fungisid A ve Fungisid B içeren kromlu derilerde ise Çizelgede de görüldüğü gibi bulgular ilgi çekicidir. Buna göre % 0.02 Fungisid A içeren kromlu derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününden 10. gününe kadar deri üstünde 7.5 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 10 mm kadar çıkmıştır. 17 ve 24. günler arasında da 14.6 mm olarak deri üstünde gelişim göstermiş ve 28. günde derileri tamamen kaplamıştır. % 0.04 Fungisid B içeren kromlu derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde deri üstünde 1 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilirken bu gelişim 10. günde 10 mm.'ye çıkmış ve 14. güne kadar aynı şekilde kalmış, 17. günde 13 mm olmuş, 21. günde 14 mm çıkmış, 24. günde büyüme 14.5 mm. olarak tespit edilirken, 28. günde deri fungusça tamamen kaplanmıştır.

Besi ortamlı yapılan denemeler sonunda kullanılan her iki fungisidin de piyasada tavsiye edilmiş olan ve denemelerde kullanılan konsantrasyonlarda ***Trichoderma viride***'ye karşı derileri korumada pek başarılı olamadığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuç pikle derilerde elde edilen bulguları destekler niteliktedir. *Kennedy (2003)* tarafından da aynı sonuçlar tespit edilmiştir.

4.3.2. *Aspergillus niger* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

Tancous (1961), ***Aspergillus***'un deride en yaygın fungus cinsi olduğunu bildirmiştir.

Kromlu deri ağırlığı üzerinden % 0.5, % 1 ve % 2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Aspergillus niger'in*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları çizelge 19'da gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge 19'da verilmiştir.

Aspergillus niger ile aşılanmış kekik (***Origanum minutiflorum***) içeren wet blue deri örnekleri bulunan petriler ile yapılan denemeler sonucunda genel olarak uçucu yağın konsantrasyonu arttıkça fungusa karşı koruyuculuk dolayısıyla inhibisyon zon konsantrasyonlarında artma gözlenmiştir.

Kekik uçucu yağ konsantrasyonu % 0.5 olduğunda 7 günlük periyot sonunda 31 mm'lik bir zon oluşmuş , 10. günde bu zon çapı tamamen kaybolarak küf derinin kesme kenarına kadar yanaşmış, 14. günlük inkübasyon periyodunda deriye kenardan yanaşmış ve deri üstünde 3 mm büyüme göstermiş, 17. günde derinin 5 mm kadar üstüne kadar çıkmış ve 21. günde deri üstünde 11 mm.lik bir büyüme göstermiş, 24. günden itibaren de deriyi tamamen kaplamıştır. Uçucu yağ konsantrasyonu iki kat arttırıldığında yani pikle deri ağırlığı üzerinden % 1 verildiğinde ise fungusa karşı daha başarılı sonuçlar alınmıştır. 7 günlük periyot sonunda 35 mm'lik bir zon oluşmuş, 10. günde bu zon çapı tamamen kaybolmuş ancak küf derinin kesme kenarına kadar yanaşamamış, 14. günlük inkübasyon periyodunda aynı şekilde kalmış, 17. günde derinin 2 mm kadar üstüne kadar çıkmış, 21. günde deri üstünde 5 mm'lik bir büyüme göstermiş ve 28. güne kadar da küf gelişimi bu şekilde kalmıştır. Kekik uçucu yağ konsantrasyonu yine iki kat daha arttırıldığında ise daha da başarılı sonuçlar alınmıştır.

İnkübasyon periyodunun 7. gününde 50 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşmuş, 17. güne kadar da bu zon çapı büyüklüğünü korumuştur. 21. günde ise 40 mm düşmüş, 24. günde 35 mm kadar gerilemiş ve 28. günde de bu şekilde kalmıştır.

Daouk et al.(1995), ***Origanum syriacum***'dan elde edilen bitki ekstraktında bulunan karvakrol ve timol bileşiklerinin ***Aspergillus niger*** üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Bardoux (2001), ***Origanum compactum***'dan elde eldilen uçucu yağın **Aspergillus niger**'e karşı antifungal etkisinin bulunduğunu bildirmiştir. Bu veriler araştırmada elde edilen bulguları destekler niteliktedir.

Çizelge-19 incelendiğinde anlaşıldığı gibi defne, yalancı karabiber ve rezene bitkilerinin uçucu yağ konsantrasyonları arttırarak kullanılmasına karşın bu grup denemelerde söz konusu küfe karşı hiçbir koruyucu içermeyen wet blue deriden daha iyi sonuçlar alınmıştır. Ancak bu durum deneme periyotları boyunca fungusa karşı yeterli korumayı sağladıklarına dair tam bir netice vermemiştir. *Mamta et al.,(2002)* rezenenin ***Aspergillus niger***'e karşı antifungal özelliğe sahip olduğunu tespit etmiştir. Bu nedenle bu yağların oranları arttırıldığında daha fazla etkinlik sağlanabilirliği söz konusu olabilir.

Defne uçucu yağının derilere uygulanmasıyla denemeler sırasında elde edilen bulgular çizelge-19'da gösterilmiştir. %0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir. 10. günde ise deri üstünde 5 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 10 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır. % 1 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir. 10. günde ise deri üstünde 4 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 10 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır. % 2 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir. 10. günde ise deri üstünde 4 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu

gelişim 5 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır.

Rezene uçucu yağının derilere uygulanmasıyla denemeler sırasında elde edilen bulgular çizelge-19 'da gösterilmiştir. %0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür. 14. günde ise küf deri üstünü tamamen kaplamıştır. % 1 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir. 10. günde ise deri üstünde 3 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 24. günde bu gelişim 10 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır. % 2 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür. 10. günde ise deri üstünde 3 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 5 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır.

Yalancı karabiber uçucu yağında yapılan denemeler çizelge-19' da gösterilmiştir. % 0.5 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir. 10. günde ise deri üstünde 5 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 10 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır. % 1 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür. 10. günde ise deri üstünde 4 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 10 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır. % 2 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür. 10. günde ise deri üstünde 5 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 5 mm olarak kalmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır.

Kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda, söz konusu test küfüne karşı 32 mm.'lik bir inhibisyon zonunun oluştuğu ancak 10. günde bu zonun kaybolduğu ve deri üstünde 4 mm'lik bir üreme olduğu, 14. günde bu

Çizelge-19: *A. niger'in* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME-12		GÜNLER						
Koruyucular	%	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
Origanum m.	0,5	3 (31 mm)	2-3	2 (3 mm)	2 (5mm)	2 (11mm)	1	1
	1	3 (35 mm)	3	3	2 (2mm)	2 (5mm)	2 (5mm)	2 (5mm)
	2	3 (50 mm)	3 (50 mm)	3 (50 mm)	3 (50 mm)	3 (40 mm)	3 (35 mm)	3 (35 mm)
Laurus n.	0,5	2-3	2 (5 mm)	2 (10 mm)	1	1	1	1
	1	2-3	2 (4 mm)	2 (10 mm)	1	1	1	1
	2	2-3	2 (4 mm)	2 (5 mm)	1	1	1	1
Foenicum v.	0,5	2-3	2 (5 mm)	1	1	1	1	1
	1	2-3	2 (3 mm)	2 (10 mm)	1	1	1	1
	2	2-3	2 (3 mm)	2 (5 mm)	1	1	1	1
Schinus m.	0,5	2-3	2 (5 mm)	2 (10 mm)	1	1	1	1
	1	2-3	2 (4 mm)	2 (10 mm)	1	1	1	1
	2	2-3	2 (5 mm)	2 (5 mm)	1	1	1	1
Karışım (F+L+O)	1,5	3 (32 mm)	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	1	1	1
Karışım (S+L+O)	1,5	3 (30 mm)	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	1	1	1
Fungisid A	0,02	2-3	2 (4 mm)	2 (10 mm)	1	1	1	1
Fungisid B	0,04	2 (3 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	1	1	1	1
Wet Blue	-	2 (2 mm)	2 (5 mm)	2 (10 mm)	2 (12 mm)	1	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

üremenin 5 mm çıktığı ve 17. güne kadar aynı şekilde kaldığı, 21. günde derilerin fungus tarafından tamamen kaplandığı tespit edilmiştir.

Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda, söz konusu test küfüne karşı 30 mm.'lik bir inhibisyon zonunun oluştuğu ve bu zonun kaybolduğu ve deri üstünde 4 mm lik bir üreme olduğu, 14. günde bu üremenin 5 mm çıktığı ve 17. güne kadar aynı şekilde kaldığı, 21. günde derilerin fungus tarafından tamamen kaplandığı tespit edilmiştir.

Hiçbir koruyucu içermeyen kromlu deri örnekleride küf aşılanmasından sonra 7 günlük inkübasyon süresinde deri üstünde 2 mm'lik bir gelişme gözlenmiş, 10. günde bu 5 mm iken, 14.günde 10 mm'e çıkmış, 17. günde 12 mm olmuş ve 21. günde deriler küf tarafından kaplanmışlardır.

Fungisid A içeren kromlu derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde küfün derinin kesme kenarına kadar yanaştığı tespit edilmiştir ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir.10. günde ise deri üstünde 4 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 14. günde bu gelişim 10 mm kadar çıkmıştır. 17. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır.

Fungisid B içeren kromlu derilerde ise çizelge-19'da görüldüğü gibi bulgular ilgi çekicidir. % 0.04 Fungisid B içeren kromlu derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde deri üstünde 3 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilirken bu gelişim 10. günde 5 mm.'ye çıkmış ve 14. güne kadar aynı şekilde kalmış, 17. günde ise deri fungusça tamamen kaplanmıştır.

Besi ortamlı yapılan denemeler sonunda kullanılan her iki fungisidin de piyasada tavsiye edilmiş olan ve denemelerde kullanılan konsantrasyonlarda ***Aspergillus niger***'e karşı derileri korumada pek başarılı olamadığı sonucuna varılmıştır.

4.3.3. *Penicillium rubrum* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

Kromlu deri ağırlığı üzerinden % 0.5, % 1 ve % 2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Penicillium rubrum'un*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları çizelge 20'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge 20'de verilmiştir.

Kekik uçucu yağ konsantrasyonu % 0.5 olduğunda 17 günlük periyot sonuna kadar petride küf gelişimi olmazken, 21. günde petrinin bir kenarında küf gelişmiş ve ancak 28. günde deriye kadar ilerleyebilmiş lakin bir zon oluşturmadan kalmıştır. Kekik uçucu yağ konsantrasyonları %1 ve % 2 olduğunda ise 28 günlük inkübasyon süresi boyunca petride küf gelişimi gözlenmemiştir.

Defne uçucu yağının derilere uygulanmasıyla denemeler sırasında elde edilen bulgular çizelge-20'de gösterilmiştir. % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petride küf gelişimi yokken, 10. günde petri kenarında küf gelişimi başlamış, 14 günde ise deri etrafında 8 mm'lik bir zon gözlenmiştir. 17. günde bu zon kaybolmuş ama deriler 28. günde bile küf tarafından saldırıya uğramamışlardır. % 1 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petride küf gelişimi yokken, 10. günde petri kenarında küf gelişimi başlamış, 14 günde ise deri etrafında 5 mm'lik bir zon gözlenmiştir. 17. günde bu zon kaybolmuş ama deriler 28. günde bile küf tarafından saldırıya uğramamışlardır. % 2 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. ve 21. güne kadar küf deriye yanaşamamıştır. Bu günden sonra deriye yanaşmış ama 28. güne kadar deri üstünde büyüme göstermemiştir.

Rezene uçucu yağının derilere uygulanmasıyla denemeler sırasında elde edilen bulgular çizelge-20'de gösterilmiştir. %0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petride

Çizelge-20: *P. rubrum'un* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME-13		GÜNLER						
Koruyucular	%	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
Origanum m.	0,5	3*	3*	3*	3*	3**	3**	3
	1	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
	2	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3 *
Laurus n.	0,5	3*	3**	3 (8 mm)	3	3	3	3
	1	3*	3**	3 (5 mm)	3	3	3	3
	2	3*	3**	3**	3**	3	3	3
Foenicum v.	0,5	3*	3 (40 mm)	3 (5 mm)	3	3	3	3
	1	3*	3 (40 mm)	3 (6 mm)	3	3	3	3
	2	3*	3**	3 (6 mm)	3	3	3	3
Schinus m.	0,5	3*	3**	3	3	3	3	3
	1	3*	3**	3	3	3	3	3
	2	3*	3**	3	3	3	3	3
Karışım(F+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
Karışım (S+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
Fungisid A	0,02	3*	3*	3*	3*	3 *	3**	3**
Fungisid B	0,04	3*	3*	3*	3*	3**	3**	3**
Wet Blue	-	3**	3	3	3	3	3	3

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

küf gelişimi yokken, 10. günde deri etrafında 40 mm'lik bir zon ve 14 günde ise deri etrafında 5 mm'lik bir zon gözlenmiştir. 17. günde bu zon kaybolmuş ama deriler 28. günde bile fungus tarfından saldırıya uğramamışlardır. % 1.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petride küf gelişimi yokken, 10. günde deri etrafında 40 mm'lik bir zon, 14. günde ise deri etrafında 6 mm'lik bir zon gözlenmiştir. 17. günde bu zon günde kaybolmuş ama deriler 28. günde bile küf tarafından saldırıya uğramamışlardır.

Yalancı karabiber uçucu yağının derilere uygulanmasıyla denemeler sırasında elde edilen bulgular çizelge-20'de gösterilmiştir. % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petride küf gelişimi yokken, 10. günde petri kenarında küf gelişimi başlamış, 14 günde ise deri etrafında zon gözlenmezken, 28. günde bile küf tarafından saldırıya uğramamışlardır. Yağın diğer iki konsantrasyonunda da aynı durumlar gözlenmiştir.

Hem kekik + defne + rezene ve hem de kekik + defne+ yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde ise 28 günlük inkübasyon süresi boyunca petride küf gelişimi gözlenmemiştir.

Fungisid A içeren derilerin bulunduğu petrilerde 21 günlük inkübasyon süresi boyunca petride küf gelişimi gözlenmezken 24 ve 28. günlerde petrinin bir kenarında küf gelişimi tespit edilmiştir.

Fungisid B içeren derilerin bulunduğu petrilerde 17 günlük inkübasyon süresi boyunca petride küf gelişimi gözlenmezken 21, 24 ve 28. günlerde petrinin bir kenarında küf gelişimi tespit edilmiştir.

Hiçbir koruyucu içermeyen kromlu deri örnekleride küf aşılanmasından sonra 7 günlük inkübasyon süresinde petri kabında küf gelişimi tespit edilmezken, 10. günde küf deriye yanaşmış ancak deri üstünde bir gelişim göstermemiştir. 28. günün sonuna kadar bu şekilde kalmıştır.

Daouk et al. (1995), ***Origanum syriacum***'dan elde edilen bitki ekstrakında bulunan timol ve karvakrol bileşiklerinin ***Penicillium sp.*** Üzerinde etkili olduğunu tespit etmiştir. Bu sonuç araştırma bulgularını destekler niteliktedir.

Penicillium rubrum ile yapılan denemelerde bu küfün kromlu derilerde verilen maddelere karşı en duyarlı test küfü olduğu sonucuna varılmıştır.

4.3.4. *Alternaria alternata* Spor Süspansiyonlarının Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

Kromlu deri ağırlığı üzerinden % 0.5, % 1 ve % 2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Alternaria alternata'nın*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyerli petrilerde elde edilen inhibisyon zon çapları çizelge-21'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutularak çizelge-21'de verilmiştir.

Alternaria alternata ile aşılanmış kekik (***Origanum minutiflorum***) içeren wet blue deri örnekleri bulunan petriler ile yapılan denemeler sonucunda genel olarak uçucu yağın konsantrasyonu arttıkça fungusa karşı koruyuculuk dolayısıyla inhibisyon zon çaplarında artma gözlenmiştir.

Kekik uçucu yağ konsantrasyonu % 0.5 olduğunda 17 günlük periyot boyunca petride küf gelişimi olmazken, 21. günde küf deriye yanaşmış ama üzerinde gelişmeye başlamamıştır. 24. günde ise kesme-kenarına tutunmuş, 28. günde deri üstünde 5 mm gelişmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonu iki kat arttırıldığında yani pikle deri ağırlığı üzerinden % 1 verildiğinde ise fungusa karşı daha başarılı sonuçlar alınmıştır. 21 günlük inkübasyon periyodu sırasında petride küf gelişimi olmazken, 24. günde petrinin bir kenarında küf gelişmiş ve 28. günde ise deri etrafında 32 mm'lik bir zon oluşturmuştur. Kekik uçucu yağ konsantrasyonu yine iki kat daha arttırıldığında ise daha da başarılı sonuçlar alınmıştır. İnkübasyon periyodunun 28. günü boyunca petri kabında küf gelişimi gözlenmemiştir.

Defne uçucu yağının derilere uygulanmasıyla denemeler sırasında elde edilen bulgular çizelge-21'de gösterilmiştir. % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenirken, 10. günde derinin kenarına yanaşmış ama deriye değmemiş, 14. günde ise derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir. 17. günde ise deri üstünde 1 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 21. günde bu gelişim 2 mm kadar çıkmıştır. 24. günde 3 mm olmuş ve 28. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır. % 1 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenirken, 10 günde derinin kenarına yanaşmış ama deriye değmemiş, 14. günde ise derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür ve bu durumda koruyucunun halen etkin olduğundan bahsedilebilir. 17. günde ise deri üstünde 1 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 21. günde bu gelişim 2 mm kadar çıkmıştır. 24. günde 3 mm olmuş ve 28. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır. % 2 defne uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenirken, 10. günde derinin kenarına yanaşmış ama deriye değmemiş, 14. günde ise yine aynı şekilde kalmıştır. 17. günde ise deri üstünde 1 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 21. günde bu gelişim 2 mm kadar çıkmıştır. 24. günde 3 mm olmuş ve 28. günde ise derinin üstünü tamamen kaplamıştır.

Rezene uçucu yağının derilere uygulanmasıyla denemeler sırasında elde edilen bulgular çizelge-21'de gösterilmiştir. %0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde derinin üstünde bir gelişim olmazken 10. günde derinin kesme kenarında bir gelişim görülmüştür. 14. günde ise deri üstünde 4 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 17. günde bu gelişim 5 mm kadar çıkmıştır. 21. günde aynı şekilde kalmıştır. 24. günde ise küf deri üstünü tamamen kaplamıştır. % 1 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petri kabının bir kenarında gelişim gözlenirken, 10. günde derinin kenarına kadar küf gelmiş ama deriyle temas etmemiş durumdadır. 14. günde ise deri üstünde 4 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 17. günde bu gelişim 5 mm kadar çıkmıştır. 21. günde aynı şekilde kalmıştır. 24. günde ise 7 mm olmuştur. 28 günde ise küf deri üstünü tamamen kaplamıştır. % 2 rezene uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 17. gününe kadar petride küf gelişimi

Çizelge-21: *A. alternata'nın* Besiyerli Petrilerdeki Wet-Blue Deri Örneklerine Aşılanması Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME-14		GÜNLER						
İsim-Alt-K	% Oran	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
Origanum m.	0,5	3*	3*	3*	3*	3	2-3	2 (5 mm)
	1	3*	3*	3*	3*	3*	3**	3 (32 mm)
	2	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3 *
Laurus n.	0,5	3**	3	2-3	2 (1 mm)	2 (2 mm)	2 (3 mm)	1
	1	3**	3	2-3	2 (1 mm)	2 (2 mm)	2 (3 mm)	1
	2	3**	3	3	2 (1 mm)	2 (2 mm)	2 (3 mm)	1
Foenicum v.	0,5	3	2-3	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	1	1
	1	3**	3	2 (4 mm)	2 (5 mm)	2 (5 mm)	2 (7 mm)	1
	2	3*	3*	3*	3*	2-3	2 (1 mm)	1
Schinus m.	0,5	3**	3	2-3	2 (2 mm)	2 (2 mm)	2 (6 mm)	1
	1	3**	3	2-3	2 (2 mm)	2 (2 mm)	2 (5 mm)	1
	2	3**	3	3	2 (1 mm)	2 (1 mm)	2 (4 mm)	1
Karışım(F+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3*	3**	2-3	2 (1 mm)
Karışım (S+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3**	2-3	2-3	1
Fungisid A	0,02	3*	3*	3*	3*	3 (40 mm)	2-3	2-3
Fungisid B	0,04	3*	3*	3*	3*	3*	3**	2-3
Wet Blue	-	3**	3	2 (4 mm)	2 (4 mm)	2 (10 mm)	1	1

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

olmazken, 21. günde küf derinin kesme kenarına kadar yanaşmıştır. 24. günde deri üstünde 1mm kadar gelişim göstermiş ve 28. günde ise deriyi tamamen kaplamıştır.

Yalancı karabiber uçucu yağında yapılan denemeler çizelge-21'de gösterilmiştir. % 0.5 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petri kabının bir kenarında gelişim gözlenirken, 10. günde derinin kenarına kadar küf gelmiş ama deriyle temas etmemiş durumdadır. 14. günde ise deri kesme kenarına kadar yanaşmıştır. 17. günde deri üstünde 2 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 21. günde aynı şekilde kalmıştır. 24. günde bu gelişim 6 mm kadar çıkmıştır. 28 günde ise küf deri üstünü tamamen kaplamıştır. % 1 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petri kabının bir kenarında gelişim gözlenirken, 10. günde derinin kenarına kadar küf gelmiş ama deriyle temas etmemiş durumdadır. 14. günde ise deri kesme kenarına kadar yanaşmıştır. 17. günde deri üstünde 2 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 21. günde aynı şekilde kalmıştır. 24. günde bu gelişim 5 mm kadar çıkmıştır. 28 günde ise küf deri üstünü tamamen kaplamıştır. % 2 yalancı karabiber uçucu yağı içeren derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününde petri kabının bir kenarında gelişim gözlenirken, 10. günde derinin kenarına kadar küf gelmiş ama deriyle temas etmemiş durumdadır. 14. günde ise aynı şekilde kalmıştır. 17. günde deri üstünde 1 mm'lik küf gelişimi olduğu tespit edilmiştir. 21. günde aynı şekilde kalmıştır. 24. günde bu gelişim 4 mm kadar çıkmıştır. 28 günde ise küf deri üstünü tamamen kaplamıştır.

Kekik + defne + rezene uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde 17 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petri kabında küf gelişimi olmazken, 21. günde petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenmiş ve 24. günde derinin kesme kenarına kadar yanaşmıştır. 28. günde ise deri üstünde 1 mm gelişim göstermiştir.

Kekik + defne + yalancı karabiber uçucu yağ karışımlarını içeren derilerde ise 14 günlük inkübasyon periyodu sonucunda petri kabında küf gelişimi olmazken, 17. günde petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenmiş ve 21. günde derinin kesme kenarına kadar yanaşmıştır. 24. günde aynı şekilde kalmış ve 28. günde ise deri üstünü tamamen kaplamıştır.

Hiçbir koruyucu içermeyen kromlu deri örnekleride küf aşılanmasından sonra 7 günlük inkübasyon süresinde deri üstünde petrinin bir kenarında küf gelişimi gözlenirken, 10. günde küf deriye yanaşmış, 14. günde deri üstünde 4 mm'lik bir gelişme gözlenmiş, 17. günde aynı kalmış, 21. günde 10 mm çıkmış, 24. günde deriler küf tarafından kaplanmışlardır.

Fungisid A içeren kromlu derilerde inkübasyon periyodunun 7. gününden inkübasyon periyodunun 17. gününe kadar petride küf gelişimi olmazken, 21. günde deri etrafında 40 mm'lik bir zon oluşmuştur. 24. günde ise küf derinin kesme kenarına kadar iyice yanaşmış ve 28. günde de bu şekilde kalmıştır.

Fungisid B içeren kromlu derilerde inkübasyon periyodunun 21. gününe kadar petride küf gelişimi gözlenmezken, 24. günde petrinin bir kenarında küf gelişimi tespit edilmiş ve 28. günde kesme kenara kadar küfün yanaştığı gözlenmiştir.

4.3.5. Besiyerli Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Yapılan Denemelerin Bulguları

Yapılan denemeler sonucunda çizelge-22'de görüldüğü gibi kromlu derilerde küf gelişimi gözlenmemiştir.

Meriçli Yapıcı (1998), küf spor sayısı arttıkça değişik konsantrasyonlarda fungisid içeren derilerde besiyersiz petrilerde gerek spor süspansiyonlarındaki spor sayısı artışının ve gerekse inkübasyon süresinin uzamasının deri örnekleri üzerindeki küf gelişimini desteklediğini ortaya koymuştur.

Kennedy (2003), tabakhaneler yahut derilerin depolandığı yerlerin temiz olmasını tavsiye etmiştir. Ortamda yüksek oranda spor bulunması pikle ve wet blue derilere saldırı oranını arttırdığını belirterek küflü wet blue ve piklelerin ortamdan uzaklaştırıldığında yeni derileri enfekte edemeyeceklerini belirtmiştir.

Çizelge-22: Besiyerli Petrilerdeki Wet Blue Deri Örneklerine Fungus Aşılanması Yapılmadan Oluşan İnhibisyon Zon Değerleri

DENEME-15		GÜNLER						
Koruyucular	% Oran	7 Gün	10 Gün	14 Gün	17 Gün	21 Gün	24 Gün	28 Gün
Origanum m.	0,5	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
	1	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
	2	3 *	3*	3*	3*	3*	3*	3 *
Laurus n.	0,5	3*	3*	3 *	3**	3**	3**	3**
	1	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
	2	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
Foenicum v.	0,5	3*	3 *	3*	3*	3*	3**	3**
	1	3*	3 *	3*	3*	3*	3*	3*
	2	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
Schinus m.	0,5	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
	1	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
	2	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
Karışım(F+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
Karışım (S+L+O)	1,5	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*
Fungisid A	0,02	3*	3*	3*	3*	3 *	3*	3*
Fungisid B	0,04	3*	3*	3*	3*	3**	3**	3**
Wet Blue	-	3*	3*	3*	3*	3*	3*	3*

*:Petride hiçbir gelişim gözlenmedi. **: Petrinin bir kenarında gelişim

Karaboz (2001), özellikle krom gibi ağır metallerin oligodinamik etkisinin var olduğunu ve bunların fungus gelişimini inhibe edici etkisinin bulunduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmalar sonunda elde edilen bulgular pikle derilerin kromlu derilere oranda daha kolay fungus saldırısına uğradıkları dolayısıyla kromun deride belli bir dereceye kadar koruma sağlayabildiği tespit edilmiştir.

4.4. Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Test Küflerinin Aşılanması, Deneme Bulguları ve Tartışma

4.4.1. *Trichoderma viride* Spor Süspansiyonlarının Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler

Kromlu deri ağırlığı üzerinden % 0.5, % 1 ve % 2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, % 1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, % 0.02 Fungisid A ve % 0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Trichoderma viride'nin*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmış ve çizelge 23'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutulmuşlar, ayrıca derileri daha nemli tutabilmek ve pratikte yapılan sehpalama işlemindeki derilere benzer çalışma koşullarını sağlamak amacıyla derilerin altına konan filtre kağıtları da deriler konmaksızın aynı denemelere tabi tutulmuşlardır.

Çizelge-23'de de görüldüğü gibi denemeler sonucunda % 0.5 rezene uçucu yağı içeren derilerde 4. ayın 3. haftasında küf gelişimi başlamış, bunun dışında tüm deneme numunelerinde 4 ay müddetince söz konusu küfün kromlu deride gelişmediği tespit edilmiştir.

Karaboz vd.(2003), kromlu derilere ***Trichoderma viride*** aşılayarak yaptıkları denemelerde bu küfün deride yeşilimsi gölgesel ve çok az yüzeysel bir gelişim gösterdiğini belirterek 6 ay süresince oluşan pigmentasyonun deride kalıcı bir lekeye neden olmadığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 23: Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Trichoderma viride* ile yapılan denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schinus m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W.B. kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Derisiz kontrol	-	1+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

Hiçbir koruyucu olmaksızın işlenen wet blue derilerde bile 4 ay müddetince test küfünün gelişmemesi bu küfe karşı kromun oligodinamik etkisi olduğunun göstergesi olabilir.

4.4.2. *Aspergillus niger* Spor Süspansiyonlarının Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler

Kromlu deri ağırlığı üzerinden % 0.5, % 1 ve % 2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, % 1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, % 0.02 Fungisid A ve % 0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Aspergillus niger'in*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmış ve çizelge-24 'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutulmuşlar, ayrıca derileri daha nemli tutabilmek ve pratikte yapılan sehpalama işlemindeki derilere benzer çalışma koşullarını sağlamak amacıyla derilerin altına konan filtre kağıtları da deriler konmaksızın aynı denemelere tabi tutulmuşlardır.

Çizelge-24'de görüldüğü gibi denemeler sonucunda hiçbir koruyucu olmaksızın işlenen wet blue derilerde 4. ayın 4. haftasında söz konusu küfün gelişmeye başladığı tespit edilmiştir. Bunun dışında hiçbir deri numunesinde 4 ay süresince küf gelişimi görülmemiştir. Buna göre hiçbir koruyucu verilmese bile bu test küfüne karşı deriyi 4 aya yakın bir süre muhafaza edilebileceği düşüncesi ortaya çıkmaktadır.

Karaboz vd.(2003), kromlu derilere ***Aspergillus niger*** aşılayarak yaptıkları denemelerde bu küfün deride siyah pigmentasyon ve misel aşılanan kısımlarda yoğun bir gelişim gösterdiğini belirterek 6 ay süresince oluşan pigmentasyonun deride kalıcı bir lekeye neden olmadığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 24: Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Aspergillus niger* ile yapılan denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schinus m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W.B. kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+
Derisiz kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+	3+	3+

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

4.4.3. *Penicillium rubrum* Spor Süspansiyonlarının Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Fungal Büyümeler

Kromlu deri ağırlığı üzerinden % 0.5, % 1 ve % 2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, % 1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, % 0.02 Fungisid A ve % 0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Penicillium rubrum***'un 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmış ve çizelge-25'de gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutulmuşlar, ayrıca derileri daha nemli tutabilmek ve pratikte yapılan sehpalama işlemindeki derilere benzer çalışma koşullarını sağlamak amacıyla derilerin altına konan filtre kağıtları da deriler konmaksızın aynı denemelere tabi tutulmuşlardır.

Çizelge 25'de de görüldüğü gibi denemeler sonucunda % 0.5 defne uçucu yağı içeren derilerde 4. ayın 2. haftasında küf gelişimi başlamış, bunun dışında tüm deneme numunelerinde 4 ay müddetince söz konusu küfün gelişmediği tespit edilmiştir.

Hiçbir koruyucu olmaksızın işlenen wet blue derilerde bile 4 ay müddetince test küfünün gelişmemesi bu küfe karşı kromun oligodinamik etkisi olduğunun göstergesi olabilir.

Karaboz vd.(2003), kromlu derilere ***Penicillium rubrum*** aşılayarak yaptıkları denemelerde bu küfün deride siyahımsı pigmentasyon ve çok az bir gelişim gösterdiğini belirterek 6 ay süresince oluşan pigmentasyonun deride kalıcı bir lekeye neden olmadığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 25: Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Penicillium rubrum* ile yapılan denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schinus m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W.B. kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Derisiz kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

4.4.4. *Alternaria alternata* Spor Süspansiyonlarının Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Aşılanması ve Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasındaki Fungal Büyümeler

Kromlu deri ağırlığı üzerinden %0.5, %1 ve %2 kekik, defne, rezene, yalancı karabiber uçucu yağları, %1.5 kekik-defne-rezene ve kekik-defne-yalancı karabiber uçucu yağ karışımları, %0.02 Fungisid A ve %0.04 Fungisid B kullanmak suretiyle elde edilen deri örneklerine ***Alternaria alternata'nın*** 10^3 spor/ml'lik spor süspansiyonundan aşılanarak yapılan denemelerde besiyersiz petrilerde 4 ay süresince her hafta izlenerek değerlendirmeler yapılmış ve çizelge-26'da gösterilmiştir. Bunun yanında kontrol amacıyla hiçbir koruyucu verilmeden işlenmiş wet blue deri örnekleri de teste tabi tutulmuşlar, aynı zamanda derileri daha nemli tutabilmek ve pratikte yapılan sehpalama işlemindeki derilere benzer çalışma koşullarını sağlamak amacıyla derilerin altına konan filtre kağıtları da deriler konmaksızın aynı denemelere tabi tutulmuşlardır.

Çizelge-26'da görüldüğü gibi denemeler sonucunda 4 ay müddetince bu küfle aşılanmış hiçbir deri numunesinde küf gelişimi olmamıştır. Buna göre hiçbir koruyucu içermeyen wet blue derilerin bile bu küfe karşı dirençli olduğunun göstergesi olabilir.

Karaboz vd.(2003), kromlu derilere ***Alternaria alternata*** aşılayarak yaptıkları denemelerde bu küfün deride siyah pigmentasyon ve çok az bir gelişim gösterdiğini belirterek 6 ay süresince oluşan pigmentasyonun deride kalıcı bir lekeye neden olmadığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 26: Besiyersiz Petrilerde Kromlu Derilerde *Alternaria alternata* ile yapılan denemeler

DENEME		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schinus m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W.B. kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Derisiz kontrol	-	-	-	-	-	-	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

4.4.5 Besiyersiz Petrilerdeki Kromlu Deri Örneklerine Herhangi Bir Spor Süspansiyonu Aşılanmadan Dört Aylık İnkübasyon Periyodu Sırasında Oluşabilecek Fungal Büyümeler

Bu gruptaki denemeler kontrol amacıyla yapılmıştır. Buna göre küf sporu aşılaması olmaksızın yapılan denemelerde derilerin işlem sırası yahut sonrasında küflerce kontamine olup olmadığına bakılmaktadır. Bunun yanında kontaminasyon oluyorsa kontamine olmuş test küfüne karşın fungisidlerin ve antimikrobiyal maddelerin davranışları da incelenmektedir.

Çizelge-27'de görüldüğü gibi 4 ay müddetince deneme numuneleri küf sporu aşılanmadan nemli ortamda inkübe edildiklerinde derilerde herhangi bir küf gelişimi gözlenmemiştir. Bu da kromlu derilere karşı bir kontaminasyon fungusunun olmadığı yahut varsa bile kromun oligodinamik etkisi yanında verilen uçucu yağların etkin olabileceğinin göstergesidir. Nitekim bu sonuç Karaboz (2001), tarafından bildirilen oligodinamik etki teziyle desteklenmektedir. Çolakoğlu (1997), herhangi bir ortamdaki mikrobiyal yük yoğunluğunun hem fiziksel hemde kimyasal çevre koşullarına bağlı olduğunu ifade etmiştir. Bu bağlamda kromun deriye bu mikroorganizmalar için uygun olmayan bir ortam özelliği kazandırdığı düşünülebilir.

Çizelge 27: Besiyersiz Petrilerde Wet-Blue Deri Örneklerine Fungus Aşılaması Olmadan Yapılan Denemeler

Deneme		1. AY				2. AY				3. AY				4. AY			
Koruyucular	%	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3 hft	4. hft	1. hft	2. hft	3. hft	4. hft
Origanum m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laurus n.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Foeniculum v.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schinus m.	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (F+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karışım (S+O+L)	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid A	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungisid B	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W.B. kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Derisiz kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: üreme yok 1+: az üreme 2+: orta üreme 3+: çok üreme 4+: maksimum üreme

5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Doğada her canlının bir yeri ve görevi vardır ve doğa bir denge içerisindedir. Bu dengeyi korumak için her canlının yaşamında yine doğa tarafından kısıtlamalar mevcuttur. Mikroorganizmalar da doğada çok önemli ve büyük bir görev üstlenmişlerdir. Azot, oksijen, fosfor, karbon gibi yaşam için gerekli olan elementlerin geri dönüşümünü sağlamaktadırlar. Ancak birçok sanayi dalında olduğu gibi deri işlentileri sırasında gelişen bazı mikroorganizmalar bu doğal görevlerinden dolayı karşımıza problem olarak çıkmaktadırlar. Yine doğanın dengesi ilkesini benimseyip deri endüstrisinde zararlı funguslarla mücadelede tamamen doğal olan uçucu yağları kullanarak yaptığımız bu çalışmada olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Bu sonuçlardan ilki, kekik uçucu yağının hem pikle ve hem de krom aşamasında fungisid olarak kullanımı ile deri endüstrisinde geliştiği bilinen ve araştırmada kullanılan funguslara karşı deriyi koruyucu özelliğe sahip olması ve dolayısıyla kekik uçucu yağının deri işlentileri sırasında fungisid olarak kullanılabileceğidir. Çalışmalar sırasında kekik uçucu yağının diğer uçucu yağlara nazaran daha kuvvetli bir antifungal etkiye sahip olduğu ve bu etkinin konsantrasyon arttıkça daha da arttığı gözlenmiştir. Tüm çalışmalar karşılaştırıldığında, %2 oranında kekik uçucu yağı ile muamele gören derilerin tüm deney funguslarına yani ***Trichoderma viride, Aspergillus niger, Penicillium rubrum*** ve ***Alternaria alternata***'ya karşı fungisid içeren deri numunelerinden bile daha fazla dayanım kazandıkları tespit edilmiştir. Hatta ***Penicillium rubrum*** ve ***Alternaria alternata*** ile yapılan denemeler sonucunda ise %1 oranında kekik uçucu yağının deride kullanılmasıyla bu küflere karşı derilerin yeterli ölçüde korunabildiği anlaşılmıştır. Bunun yanı sıra %2'lik kekik uçucu yağının uygulanan bu funguslar dışında, özellikle pikle derilerde bile işlem sırasında kontamine olan funguslara karşı da

etkili olduğu tespit edilmiştir. Deri işlentileri sırasında pikle derilere en fazla kontamine olan fungusun ***Aspergillus flavus*** olduğu anlaşılmış ve bu fungusun da %2'lik kekik uçucu yağından etkilendiği ve deride gelişemediği görülmüştür. Besi ortamı içermeyen pikle derilerde ***Trichoderma viride*** ekimi ile yapılan denemeler sonucunda %1 kekik uçucu yağının bile derileri 4 ay süresince koruduğu ve bu fungusun gelişimine izin vermediği tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan diğer uçucu yağlar incelendiği zaman defne uçucu yağının da pikle derilerde ***Penicillium rubrum'a*** karşı en az %1 uygulandığında 4 ay derileri koruduğu saptanmıştır. Bunun dışında diğer uçucu yağlarla yapılan çalışmalarda dikkate değer bir sonuç bulunamamıştır.

Uçucu yağların sinerjik etkilerini incelemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda % 0.5 kekik + % 0.5 defne + % 0.5 rezene uçucu yağ karışımı ve % 0.5 kekik + % 0.5 defne + % 0.5 yalancı karabiber uçucu yağ karışımı arasında büyük bir fark gözlenmemiştir. Karışımlar içinde yer alan yağlardan en etkili antifungal uçucu yağın kekik olduğu anlaşıldığından karışımların antifungal etkileri %0.5'lik kekik yağı ile karşılaştırıldıklarında, %0.5'lik kekik yağına oranla ***Trichoderma viride*** ve ***Penicillium rubrum***'a karşı biraz daha fazla koruyuculuk sağlayabildikleri tespit edilmiştir. Böylece uçucu yağ karışımlarının bazı funguslara karşı sinerjik etkilerinin olduğu ve daha az miktarlarda farklı uçucu yağlarla kombine edilerek kullanıldıkları zaman da yeterli derecede koruma sağlayabilecekleri anlaşılmıştır.

Fungusların uçucu yağlara ve kontrol fungisidlerine karşı gelişimleri incelendiği zaman her fungusun aynı özelliklere sahip olmadığı gözlenmiştir. ***Trichoderma viride*** ve ***Aspergillus niger***'in daha dirençli olduğu ***Penicillium rubrum*** ve ***Alternaria alternata***'nın ise daha duyarlı olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. ***Trichoderma viride*** test küfü ile yapılan çalışmalarda kullanılan TCMTB ve N-OITZ esaslı her iki fungisite rağmen pikle derilerin birkaç gün içinde küf tarafından tamamen kaplandığı ve bu fungisidlerin fungusa karşı yeterli koruma

sağlayamadığı anlaşılmıştır. Bu küf ile benzer sonuçlar kromlu derilerde de tespit edilmiş ve bu fungisidlerin ***Trichoderma viride'ye*** karşı pek etkili olamadığı anlaşılmıştır. ***Aspergillus niger*** test küfü ile besi ortamı içeren petrilerde pikle derilerde yapılan çalışmalarda kullanılan fungisid miktarlarının yetersiz geldiği görülmüştür. Aynı küf ekimi yapılan kromlu derilerde ise ilk yedi gün için N-OITZ esaslı fungisid yeterli görülürken TCMTB esaslı fungisid'nin yetersiz kaldığı yapılan denemelerde tespit edilmiştir. Pikle derilerde ***Penicillium rubrum*** ile yapılan denemelerde ise N-OITZ esaslı fungisidin yeterli koruma sağlayamadığı görülmüştür. Buradan çıkan sonuçla piyasada satılan TCMTB ve N-OITZ içerikli fungisidlerin bu oranda kullanımlarının yeterli gelmediği dolayısıyla kullanılması gereken miktarın arttırılması yahut doğal direnç sistemi olan ***Trichoderma viride*** gibi funguslara karşı başka aktif bileşenli fungisidlerin kullanılması önerilebilir.

Kromun fungus gelişimine olan etkileri incelendiğinde fungisid içermeyen koruma amaçlı pikle ve kromlu derilerin funguslara karşı koruma etkileri karşılaştırıldığında kromlu derilerin araştırmada kullanılan tüm fungus türlerine karşı daha dayanımlı olduğu, koruma amaçlı piklenin ise düşük pH'da ve yüksek tuz içermiş olmasına rağmen funguslara karşı yeterince koruma sağlayamadığı tespit edilmiştir. Buradan çıkan sonuca göre derileri fazla asitle muamele etmek funguslara karşı bir koruma sağlamayacaktır. Bu nedenle fazla miktarda asit vermenin gereksiz olduğu düşünülebilir. Kromlu derilerde ise hiçbir fungus aşılaması yapılmayan ve hiçbir koruyucu içermeyen wet blue derilerin 4 ay müddetince küf gelişiminden korunmasının tespiti temiz ortamlarda çalışıldığında ve stoklama süresi birkaç ay gibi kısa tutulacaksa kromlu deriye fungisidilerin bile verilmesinin gerekli olmadığının bir göstergesi olabilir. Ancak besi ortamı içeren petrilerde elde edilen sonuçlara göre eğer deriye ***Trichoderma viride*** ve ***Aspergillus niger*** bulaşacak olursa ve 3 aydan fazla deriler de stoklanacaksa ticarette tavsiye edilen miktarlarda TCMTB ve N-OITZ içerikli fungisidlerin kullanılması dahi koruma için yeterli gelmeyebilir. Yapılan çalışmalar

sonucunda kroma karşı en hassas küfün ***Penicillium rubrum*** olduğu saptanmıştır. Hiçbir koruyucu içermeyen wet blue derilerde bile bu küfün gelişememesi kroma olan duyarlılığının açık bir göstergesi olabilir. ***Aspergillus niger*** ise kroma karşı en dirençli küf olarak tespit edilmiştir.

Deri numunesi içermeyen spor aşılanmış ve steril suyla ıslatılmış petri kaplarında 27 °C lik inkübasyon süresince bir hafta sonunda ***Trichoderma viride***'nin, 2 hafta sonunda ***Aspergillus niger***'in 3. haftada ise ***Alternaria alternata***'nın kağıt üzerinde geliştiği tespit edilmiştir. Bu süre zarfında ***Penicillium rubrum'*** da ise bir gelişim gözlenmemesi ***Aspergillus niger***, ***Trichoderma viride*** ve ***Alternaria alternata'nın*** selülaz enzimi üretip selülozu parçalama yeteneğine sahip olduklarının bir göstergesi olabilir. Bu da selülozun var olduğu her yerde eğer rutubet ve sıcaklık da uygunsa bu funguslar rahatlıkla gelişebilip üreyebileceği düşüncesini oluşturmaktadır. Tabakhane ortamlarına baktığımızda tahta dolaplar, ahşap sehpalar, paletler ve ham maddesi selüloz olan tahta tüm materyallerin bu funguslar tarafından yerleşim mekanları olarak kullanılabileceği rahatlıkla anlaşılmaktadır. Küflerin bu alet ve ekipmanlarda gelişmesi ortama daha fazla miktarda küf sporu yayılması ve derilerin küflerle kontamine olmasına yol açabilecektir. Bu nedenle küf gelişiminden korunmada ortam dezenfeksiyonu da oldukça önemli bir yere sahiptir. Temizlik kurallarına riayet edilmeyen tabakhanelerde küf sporlarının mevcudiyeti de fazla olacaktır. Bunların deriye verdiği zarar yanında insan sağlığı açısından çeşitli şekillerde olumsuz etkileri de mevcuttur. Hiçbir küf ekimi olmaksızın kromlu derilerle yapılan mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda her iki yöntemde de deride küf gelişiminin olmayışı temiz ortamlarda çalışmanın önemini vurgulamaktadır.

Solunum yoluyla alınan sporların bazılarında güçlü allerjenler bulunur ve bunların yoğun aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olduğu bilinmektedir. En sık karşılaşılan fungus alerjileri ***Penicillium, Aspergillus, Alternaria, Micropolyspora, Aerobasidium, Cryptostroma***

türlerince oluşturulmaktadır. Bu araştırmada kullanılan küf genuslarından ***Penicillium, Aspergillus, Alternaria'*** da görüldüğü üzere alerji yapanlar listesine girmektedirler. Bu nedenle tabakhanelerde deri üzerinde gelişen bu fungusların derilere verdikleri zarar yanında insan sağlığına olumsuz etkileri de söz konusu olabilir. Toz akarları da esas olarak alerjiye neden olurlar ve akarlarının genellikle cilt pulları ile beslendiği bilinmektedir. Ancak akar bunları insan cildinden doğrudan sindirememektedir. İnsan cildi kuru olmasının yanında, pulların üstünde çok miktarda yağ ve düşük oranda vitamin bulunur. Bu yüzden bu cilt pulları önce bakteriler ve funguslar tarafından ayrıştırılmak durumundadır. Funguslar cildin nemini arttırırlar, bu sayede yağ oranı azalmakta ve vitamin oranı yükselmektedir. Bu kısmen sindirilebilir cilt pulları daha sonra akarlar için ideal bir besin maddesine dönüşürler. Bu demektir ki bakteri ve fungusların üreyebildiği yerde alerji derişimi de yüksek olmaktadır. Şunu da belirtmek gerekir ki alerji yaratan akarların kendisi değil, bunların boşaltımları ve salgılarıdır. Bunlar astım, egzema, nefes yolları mukozasının alerjik reaksiyonları gibi hastalıkların kaynağını teşkil etmektedir *(Böhringer vd., 2002).* Anlaşıldığı gibi, bazı funguslar kendileri direkt allerjen olabildikleri gibi ayrıca akarlar gibi diğer canlılara da fırsat yaratabilmektedirler. Özellikle tabakhanelerde uzun süre bekletilen krast ya da bitmiş derilerde bile var olabilecek fungus ve akarlar, dikilen giysilerle insanlara taşınmakta yahut bekletilme sırasında havaya karışarak işçi sağlığını tehtid etmektedirler. Bu bağlamda kekik gibi bir fungisidin kullanımı, fungus gelişimine mani olmakla birlikte, akarların da gelişimini önlemiş olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmalar sonucunda denenen uçucu yağlardan bazılarının fungisid olarak kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Ülkemiz uçucu yağ bitkileri bakımından zengin bir ülke olmasına rağmen Dünya ticaretinde önemli bir yere sahip değildir. Uçucu yağ ticaretini arttırmak ancak yeni pazarlar oluşturmakla mümkün olabilecektir. Bu bağlamda deri endüstrisinde uçucu yağların fungisid olarak kullanılabilirliği uçucu yağlara alternatif bir pazar oluşturabilir. Araştırmalarda kullanılan yağlardan başka diğer bitkilerin uçucu yağlarının da denenmesi ilerki çalışmalar için önem taşıyabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Adam,K., Sivropoulou,A., Kokkini,S., Lanaras, T. and Arsenakis, M., 1998, Antifungal Activities of ***Origanum vulgare , Mentha spicata, Lavandula angustifolia*** and ***Salvia fruticosa*** essential oils against human pathogenic fungi, Journal of Agricultural and Food Chemistry,May,46(5) ,1739-1745.

Adminis, U.,Huynh, C.,Money, CA, 2001, The Need For Improved Fungicides for Wet-Blue,International Union of Leather Technologists and Chemical Societies 16 Congress, Cape Town.

Akgül A.,1993, Baharat Bilimi ve Teknolojisi;Gıda Teknolojisi Dergisi,Yayın no:15, Ankara,329 s.

Alexander KTW. , Corning, D.R., Covington, A.D., Haines B.M., Lamb N.C.J., Kemp, P.,D., Walker, M.,P. And Webster R.M.,1988,A Course or Fellmongers, British Leather Confederation,Northampton,39 p.

Aligiannis, N.,Kalpoutzakis,E., Mitaku, S. and Chinou ,I.B., 2001, Compositian and the antimicrobial activity of the essential oils of two Origanum species, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Volume 49,Issue 9,September,P: 4168-4170.

Annamalai, T., Rajkumar, G.A., Arunasri, N., Rajkumar, and Perumal,P.T., 1997, Syntheses and Fungicidal Evaluation of Compounds Analogous to 1,3-Oxazine, Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists, 81,201-203.

Anonymus, September 1997, The case of the appearing and disappearing black spots, World Leather, Speacial IULTCS Edition, 35 p.

Anonymus, 2000, Biocides used as preservatives in the leather industry, May,http://129.217.201.69/esd/bio_leather.PDF

Anonymus, February 2001, Mould-cause and prevention, Leather International, Volume: 203, No:4708 ,UK.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Anonymus,2002, http://www.universaldbase.com/cshs/annual_meeting/scientific_2002/Symposium_S06.pdf 6.sempozyum

Anonymus, 2003, www.Leather.usa.org/Bulletin0211.pdf

Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans S.G., Biondi,D.M., Ruberto, G., 1998, Chemical composition,antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils., Journal of Essential Oil Research, 10:6,618-627.

Bardoux,D.,2001,Antiviral and Antimicrobial Properties of Essential Oils, File://A:/ antimikrob-essent.htm

Başer, K. H.C.,Kürkçüoğlu, M., Demirçakmak,B.,Ülker,N. Ve Beis,S.H.,1997, Composition of the essential oil of ***Schinus molle*** L. grown in Turkey, Journal of Essential Oil Research,9:6,693-694; 9 ref.

Başer, K. H.C., 2001, Her Derde Deva Bir Bitki Kekik, Bilim ve Teknik Dergisi, Mayıs, cilt:34, sayı:402, 74-77.

Baydar, H., Sağdiç, O.,Özkan, G. ve Karadoğan, T., 2003, Antibacterial activity and composition of essential oils from ***Origanum, Tymbra*** and ***Satureja*** species with commercial importance in Turkey, ScienceDirect-Food control.

Bektaş,B., 2003, Deri Ürünleri İhraç İmkanları, İGEME, Ankara, 267 s.

Bektaşoğlu, S., 2001, Uçucu Yağlar Dış Pazar Araştırması, İGEME, Ankara, 100s.

Bell, A.A.,1977, Plant pathology as influenced by allelopathy.,In "report of the research planning conference on the role of secondary compounds in plant interactions", pp:64-69.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Birbir, M., 1991, Deri Endüstrisinde Kullanılan İşlenmiş ve İşlenmemiş Sığır Derilerinde Derinin kalitesine Etki Eden Mikroorganizmaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu, Doktora tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 112 s (yayımlanmamış).

Birbir, M.,Özyaral,O.,Johansson,C. and Ilgaz,A.,1994, Mold Strains Isolated From Unfinished and Finished Leather Goods and Shoes, JALCA, Vol:89 ,No:1,1-34.

Blach,R., 2003, New aspects of ecology in finishing, Leather International, October, p: 56-58.

Bora,T.,1975,Effect of Alfaalfa and It's Rhizosphere on Cotton With Fungus, ***Verticillium dahlie***. Kleb; J. Turkish of Phytopathol. 4, 1-8.

Bouchra, C., Achouri, M., Hassani, I. L.M. and Hmamouchi, M., 2003, Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against ***Botrytis cinera*** Pers:Fr., Journal of Ethnopharmacology 89, 165-169.

Böhringer, A. Rupp,J. and Yonenaga, A., 2002, Antimicrobial Textiles,Tekstil Maraton ,Eylül-Ekim 5, 65-73.

Calnan, C.,N.,1985, Fungicides Used on Leather ,The Leather Conservation Centre, ,Northampton, 17.

Campbell, R., 1989, Biological Control of Microbial Plant Pathogens. Campbridge Univ. Press. Pp 212.

Cavington, A.D.; Tozan, M. And EvansC.S., 1999, Enzymatic Removal of Dung From Animal Hides and Skins, Proceedings of the XXV. International Union of Leather Technologists and Chemists Societies, Congress Chennai,India, 10-14, p.355-362.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ceylan, A., 1983, Tıbbi Bitkiler-2 (Uçucu Yağ Bitkileri), Ege Ün. Ziraat Fakültesi Yayınları, No :481, Bornova, 306 s.

Coulet,M., Eeckhoutte C., LarrieuG., Sutra JF., Alvinerie M., Mace K., Pfeifer A., Zucco F., Stammati AL., De Angelis I., Vignoli AL., Galtier P., 2000, Evidence for cytochrome P4501A2-mediated protein covalent binding of thiabendazole and for its passive intestinal transport: use of human and rabbit derived cells., Chem-Biol-Interact. Jul 3; 127(2): 109-24.

Çolakoğlu,G.,1997, Fungal (Mantari) Büyüme İçin Kimyasal ve Fiziksel Çevre Koşulları, İstanbul, 272.

Daferera, D.J., Ziogas,N.,and Polissiou M.G., 2000, GC-MS analysis of essential oils from Greek aromatic plants and their fungitoxicity on ***Penicillium digitatum***, Journal of Agricultural and Food Chemistry,June 48(6).

Daferera, D.J., Ziogas,N.,and Polissiou M.G., 2003, The effectiveness of plant essential oils on the growth of ***Bothritis cinera***, ***Fusarium sp.*** and ***Clavibacter michiganensis*** subsp. michiganensis, Crop protection, 22,39- 44.

Daouk, R.K., Dagher, S.M. and Sattout, E.J., 1995,Antifungal Activity of Essential Oil of ***Origanum syriacum*** L., Journal of food protection, 58(10):1147-1149.

Das, M.K.L; Prosed, J.S. and Ahmad,S.K., 1997, Endogluconase production by paper degrading mycoflora, Letters in Applied Microbiology, Volume 25, Issue 5, P.313.

Dikshit,A. and Husain, A., 1986, Schinus molle: a new source of natural fungitoxicant, Applied and Enviroment Microbiology, Volume:51, Issue:5, May, P:1085-1088.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ecevit,O.,Mennan,H.,Aksoy M. ve Akça, İ.,1999,Tarımsal Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri,O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Samsun.

Gnanamani, A, Sekaran G, Jai Subash J and Sadulla, S., 2003, Deterioration of mechanical and lustrous properties of finished leather garments by Unreported mould species, Cancun Kongresi Bildirileri.

Göre,E., 1997, Bazı Fluoresent Pseudomonas'larla Fungisidlerin ve Etkili Antifungal Bitkilerin ***Papulaspora byssina***'ya İn-Vitro Etkileri Üzerinde Karşılaştırmalı Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 84 s. (yayımlanmamış).

Gören,A.C.,Bilsel,G., Bilsel, M., Demir,H., Kocabaş,E.E., 2003, Analysis of essential oil of ***Coridothymus capitatus*** (L.) and its antibacterial and antifungal activity, 2003, Zeitschrift Fur Naturforschung.C, Journal of Biosciences, Volume 58,ıssue9-10, p:687-690.

Gundidza,M., 1993, Antimicrobial activity of essential oil from ***Schinus molle*** Linn, The Central African Journal of Medicine, Volume:39, Issue:11, November, P:231-234.

Guynot,M.,E.,Ramos, A.,J.,Seto,L.,Purroy,P.,Sanchis,V. and Marin,S., 2003, Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products, Journal of Applied Microbiology, Vol. 94, Issue 5, P:893.

Harder,J., Heyen, U.,Probion, C. and Foss, S., 2000, Anaerobic Utilization of Essential Oils by Denitrifying Bacteria, Biodegradation, 11(1), 55-63.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Harmancıoğlu,M.,Dikmelik, Y.,1993,Ham Deri, Özen Ofset., İzmir, 343 s.

Hakimoğlu, İ., 1995, Deri Sanayinde Fungisitler, Sepici Haber, Yıl:6, İzmir.

Hausam,W.,1958, Bakterienschäden an Haut und Leder, Practischer Ratgeber über Vorkommen und Bekämpfung Dr. Sändig Verlag K-G, Weisbaden, Germany.

Hausam,W., 1963, Possibilities of Microorganisms in the Chrome Leather. Leder und Hautemarket Gerbere iwissenschaft und Praxis., 15; 120-128.

Heidemann, E., 1993,Fundamentals of Leather Manufacturing, Darmstad Eduad Roether KG, 269-657 p.

Inouye, S., Tsuruoka,T., Watanabe, M., Takeo, K., Akao, M., Nishiyama, Y. and Yamaguchi, H., 2000, Inhibitory effect of essential oils on apical growth of ***Aspergillus fumigatus*** by vapour contact,March-April ,43(1-2):17-23

Janssen, A. M.,1989, Antimicrobial activities of essential oils, Printed by I.C.G. printing, Dordrecht.

Karaboz, İ. ve Meriçli Yapıcı, B., 1996, Deri İşlemede TCMTB Esaslı Ticari Bir Fungisidin Minimal Etki Düzeyinin Mikrobiyolojik Olarak Belirlenmesi, Kükem Dergisi, 19(2):33-39 s.

Karaboz, İ., 2001,Deri Mikrobiyolojisi Ders Teksiri, Basılmamış, 36 .

Karaboz, İ., Ateş ,M., Koçyiğit, A., 2002, Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri Teori ve Uygulamaları, EBİLTEM yayınları,45s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Karaboz, İ., Gülümser, G., Eke Bayramoğlu, E., 2003, Tabakhanelerde Depolama Sırasında Gelişen Bazı Fungusların Koruma Piklesi ve Kromla Tabaklama Aşamasında Deride Oluşturdukları Pigmentasyonun İncelenmesi,Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.,40(3):129-136

Karaman, s., Digrak, M., Ravid, U. and Ilcim, A., 2001, Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of ***Thymus revolutus*** Celak from Turkey, Journal of Ethnopharmacology 76, 183-186.

Kennedy, L., 2003, more information about fungicides, www.tantec.co.nz/info.htm

King,M.V., Bryant,S.D. and Haque, M.N., 2001, Fact and Fantasy Regarding Resistance to Microbicides, JALCA, Vol.96,162-167.

Kishore, N., Dubey, N.K., Tripathi, R.D. and Singh, R.D.,1982, Fungitoxicity of the Leaf Extracts of Some Higher Plants Against ***Fusarium moniliforme***. National Academy Science Letter,5,43-45.

Kontart,O., 2001, Tekstil Endüstrisinde Antimikrobiyal Uygulamalar, file://C:\Belgelerim\izmir sempozyum\Gemsan-tr.htm

Krishnamurthy,V.S., Sen,S.N. and Bsaskaran,R.,1968, A notes on Permanent Stain on Leather Caused By Fungi,Leather Science, 88-91.

Lambert, R.J., Skandamis, P.N., Coote, P.J. and Nychos G.J., 2001, A study of the minimum inhibitory concentrationand mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol, Journal of Applied Microbiology, Volume 91, Issue 3, September, P: 453-462.

Lindner,W., May 1998, Wet Blue Preservatives-Present and Future, World Leather, 61p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mamta, P., Shahi, S.K., Midgely, G. And Anupam, D., 2002, Utilization of essential oil as natural antifungal against nail-infective fungi, Flavory and Fragrance Journal,17 (2) 91-94.

Manohar, V., Ingram, C.,Gray, J., Talpur, N.A., Echard, B.,W.,Bagchi, D. And Preuss, H.G., 2001, Antifungal activities of origanum oil against ***Candida albicans***, Molecular and Cellular Biochemistry, Volume:228, Issue 1-2, P:111-117.

Meriçli Yapıcı,B.,1998,Bitkisel Tabaklanmış Derilerde Sorun Oluşturan Küf Enfeksiyonlarının Bazı Fungisidlerle Kontrolü,Biyoloji A.B.D., Doktora Tezi.,Bornova-İzmir, 129 (yayımlanmamış).

Montes , B., and Carvajal; M., 1998, Control of ***Aspergillus flavus*** in maize with plant essential oils and their components, J-Food_Prot., May, 61(5): 616-9.

Mueller,R.F., Berger, B. and Yegen, O., 1995, Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plant growing wild in Turkey, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43(8):2262-2266.

Nath, S.C. and Bordoloi, D.N., 1986, Fungi-Toxic properties of some wild plant extracts, Rev. Plant Path.,65, No: 4695.

O'Flaherty, F., Roddy,W.T. and Lollar,R., 1958, The Chemistry and Technology of Leather, Volume1,2,3,4, Reinhold Publishing Corporation, New York.

Öner,M., 1992, Genel Mikrobiyoloji, E:Ü: Fen Fakültesi Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, E.Ü. Basımevi, Bornova,İzmir,380 s.

Pauli, A., 2001, Antimicrobial properties of essential oil constituents, International Journal of Aromaterapy, Volume 11, Issue 3, Pages 126-133

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Raper, K.B. and Thom, C., 1949, A Manual of ***Penicillia***, The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

Reed, R., 1966, Science for Studies of Leather Technology, Pergaman Press, p- 278, London

Rehbein, H., 2002, Requirements and Possibilities, Lectures, Bayer .

Ruberto,G., Baratta, M.T.,Deans, S.G., Dorman, H., 2000, Antioxidant and antimicrobial activity of ***Foeniculum vulgare*** and ***Crithum maritimum*** essential oils, Planta Med., 66(8), 687-693.

Sarı,Ö., 1999, Uygulamalı Dericilik 1 Ders Notları, (Basılmamış), E.Ü.Ziraat Fakültesi,Bornova-İzmir.

Sarı,Ö., 2003, Tabaklama Maddeleri Ders Notları (Basılmamış),E.Ü. Mühendislik Fakültesi,Bornova-İzmir, 275 s.

Sarı, Ö.,Turhan, G.,Eke Bayramoğlu, E.E., 2003, Tabakhanelerde Ortam Dezenfeksiyonunun Önemi Üzerine bir Araştırma, Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.,40(2):129-136.

Scora, K.M. and Scora, R.W., 1998, Effect of volatiles on mycelium growth of ***Penicillium digitatum***, ***P. italicum*** and ***P. ulaiense***, Journal of Basic Microbiology, 38 (5-6),404-413.

Sharphause, J.H., 1989, Leather Technician's Handbook, Leather Producers Association, Northampton, 575 p.

Shapiro,S.,Meier,A, and Guggenheim,B., 1994, The antimicrobial activity of essential oils and essential oil components towards oral bacteria, Oral- Microbiol.-Immunol., Aug.,9(4),:202-8.

Singh, S.P. and Gupta, K.C., 1993,Allelopathic effect of some essential oils of plants on phytopathogenic fungi, Rev. Plant Path., 72, No: 2481.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Smith, P.A., Stewart, J. and Fyfe, L., 1998, Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens, Lett-Appl-Microbiol.February, 26(2):118-122.

Sokovicacute, M., Tzakou, O., Pitarokili, D. and Couladis, M., 2002, Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece, Die Nahrung, Volume 46, Issue5, October,P: 317-320.

Srivastava, M.,Saxena, A. And Baby P., 1999, GC-MS Investigation and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Carum capticum* Benth and Hook, Acta- Alimentaria, Sept. 28(3): 291-295

Şen, B. ve Asan, A.,2003, Edirne Şehri Sebze Ekim Alanlarında Havayla Taşınan Funguslar, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, Cilt:1,Sayı:5,Sayfa:10-11., www.mikrobiyoloji.org/pdf/702030502.pdf

Tancous, J.J., 1961, A Study of ***Clostridium bacterium*** that Causes Severe Hide Damage, Jalca, Vol:LVI, No:3, 106-119.

Tancous, J.J., 1986, Skin, Hide and Leather Defects , USA, 363.

Telefoncu,A., 1995, Biyoteknoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, No:152, Bornova, 355 s.

Turhan,G.,2000,Mikoloji Ders Notları, Basılmamış,E.Ü. Ziraat Fakültesi,Bornova-İzmir.,130.

Ultee,A., Slump, R.A., Steging,G.and Smid, E.J., 2000, Antimicrobial activity of carvacrol toward ***Bacillus cereus*** on rice, Journal of Food Protection, May,63 (5): 620-624.

Unido, Acceptable Quality Levels in Leathers, 1976, New York, 46.

Ustaçelebi,Ş., 1999, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara,1339 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ünlütürk, A., Turantaş, F.,1998, Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, İzmir, 605 s.

Van Deren, J.M. and Weiss E.F., 1978, Controlling Fungal Growth on Leather Correlation of TCMTB Uptake and Duration of Mold Resistance, JALCA, Vol: 73,498-507.

Varel,V.H., 2002, Carvacrol and thymol reduce swine waste odor and pathogens: stability of oils, Current Microbiology, Volume 44, Isssue 1,p: 38-43.

Venkatachalam, P.S.,1962,Lecture Notes on Leather,central Leather Research Institue,Madras, India,384 p.

Viollon, C. and Chaumont, J.P.,1994, Antifungal properties of essential oils and their main components upon ***Cryptococcus neoformans***, Mycopathologia, 1994, Dec., 128 (3): 151-3.

Weltzien, H.C., and Ketterer, N., 1986, Control of ***Phytophthora infestans*** on tomato tubers through water extracts of composed organic wastes, Phytopathol.,76, 1104.

Yapıcı, B.,1994, Tabaklanmış Derilerde Sık Rastlanabilen Küflerin Gelişimi Üzerine Çeşitli Antifungal Bileşiklerin Etkisi, Biyoloji A.B.D., Yüksek Lisans Tezi.,Bornova-İzmir, 129 (yayımlanmamış).

Yapıcı,B., Karaboz, İ.,1997, The effect of Two Antifungal Compound on Growth of Moulds That Frequently Appear on Tanned Leather, JALCA, 92(2), 27-48

Yong, L.X. and Loi (Lu Xin) R., 1996, Study on Leather Complex Fungicide, The Third Asian International Conference of Leather Science and Technology, 2.bölüm, Japan, 459 p.

ÖZGEÇMİŞ

Ar.Gör.Elif Eser EKE BAYRAMOĞLU' nun Özgeçmişi

1972 yılında İstanbul'da doğdu. 1979 yılında Acıbadem İlkokuluna başlayıp, 1983 yılında Uzunada İlkokulunu bitirerek, orta ve lise eğitiminin 1.5 yılına Urla Lisesinde devam etti. 1989 yılında Suphi Koyuncuoğlu Lisesinden mezun olarak aynı yıl Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Deri ve Lif Teknolojisi Bölümünü kazandı. 1993 yılında Deri Teknolojisi Bölümünden bölüm birincisi olarak mezun oldu. Aynı sene yüksek lisans sınavını kazanarak Deri Teknolojisi Bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı ve 1994 yılında okulla birlikte bir ihracat şirketinde 9 ay süre ile kalite kontrol müfettişi olarak, daha sonrada deri kimyasalları satan özel bir şirkette yaklaşık 2.5 sene deri kimyasalları satış sorumlusu olarak çalıştı.1997 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. 1999 yılının Şubat ayında Deri Teknolojisi Bölümünde doktora eğitimine başladı. 1999 yılının Haziran ayından bu yana Deri Mühendisliği Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.