

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**DERİ ÜRETİMİNDE TCMTB ESASLI  
FUNGUSİTLERİN ETKEN MADDE VE DERİDE  
KALINTI MİKTARLARININ MUKAYESELİ  
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Erdoğan Can POLATDEMİR**

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. M. Mete Mutlu**

**Deri Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu : 501.11.01**

**Sunuş Tarihi : 03.12.2010**

**Bornova-İZMİR  
2010**



Erdoğan Can Polatdemir tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “**Deri Üretiminde TCMTB Esaslı Fungusidlerin Etken Madde ve Deride Kalıntı Miktarlarının Mukayeseli Olarak 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 03.12.2010 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:****İmza**

<b>Jüri Başkanı</b>	<b>: Yrd.Doç.Dr.M. Mete MUTLU</b>	.....
<b>Raportör Üye</b>	<b>: Doç.Dr.Ahmet ASLAN</b>	.....
<b>Üye</b>	<b>: Doç.Dr.A.Nail YAPICI</b>	.....



## ÖZET

# DERİ ÜRETİMİNDE TCMTB ESASLI FUNGUSİTLERİN ETKEN MADDE VE DERİDE KALINTI MİKTARLARININ MUKAYESELİ OLARAK ARAŞTIRILMASI

POLATDEMİR, Erdoğan Can

Yüksek Lisans Tezi

Deri Mühendisliği Bölümü Tez Yöneticisi:

Yrd. Doç. Dr. M. Mete Mutlu.

Aralık 2010, 59 Sayfa

Organik bir materyal olan derinin fungal zararlardan korunmasına yönelik uygulamalar zaman içerisinde evrilerek günümüzde TCMTB (2-(Tiyosiyanometiltiyo)-benzotiyazol bazlı fungusidler kullanımını neredeyse bir endüstri standardı haline gelmiştir. Geniş spektrumlu bir antifungal ajan olarak deri sanayinde yaygın kullanım alanı bulmuş olan TCMTB bazlı fungusidler pikle, tabaklanmış ve krast derilerin işlenişinde kullanılmaktadır. Son dönem elde edilen bulgular TCMTB'nin çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini ortaya koymaktadır. TCMTB bazlı fungusidler kullanım oranları ve koşullarının yeniden değerlendirilmesi, çeşitli analiz yöntemleri ile üretim aşamalarında ve son üründe bulunduğu miktarların tespit edilerek kontrol altında tutulması bir ihtiyaç haline gelmiştir.

Bu çalışmada piyasada farklı ticari isimlerle satılan 5 farklı TCMTB bazlı fungusid ile muamele edilen wet-blue koyun derilerinde ve flottelerinde bulunan TCMTB miktarları UV spektrofotometresi ve HPLC analiz yöntemleri ile değerlendirilerek, uygulanan derilerde ve ticari ürünlerde TCMTB konsantrasyonları tespit edilmiştir. Aynı zamanda kalıntı miktarlarının derilerin fungal direncine olan etkisi tropik çember testi ve ASTM D4576 yöntemine göre, deride en sık karşılaşılan fungus türlerinden biri olan *Aspergillus niger* mikroorganizmasına karşı test edilmiştir

Anahtar Kelimeler: TCMTB, Fungusid, HPLC, UV Spektrofotometresi, Küf direnci



**ABSTRACT****A COMPERATIVE STUDY ON THE TCMTB BASED  
FUNGICIDES FOR ACTIVE CONTENT AND RESIDUE ON  
LEATHER**

POLATDEMİR, Erdoğan Can

MSc in leather engineering supervisor

Ass. Prof. Dr. Mete Mutlu

December 2010, 59 pages

Applications to protect leather against fungal damages by evolving through time the usage of TCMTB (2-(thiocyanomethylthio)-benzothiazole) based fungicides became almost an industry standard for today. TCMTB, as a broad spectrum antifungal agent has found a wide spread usage in processing pickled, wet-blue and crust leathers. Latest findings are pointing out that TCMTB has negative effects on environment and human health. Reconsidering TCMTB usage and dosage conditions, while keeping the amount of TCMTB under control by doing various analyses thorough production stages and at end product became a necessity.

In this study; 5 different TCMTB based fungicides sold under different trade names are applied to wet-blue sheep skins. Than the skins and the baths are evaluated for their TCMTB content by using UV Spectrofotometer and HPLC analyses to determine the concentration of the active content in fungicides and residue on leather. Meanwhile the effect of the amount of the residue on the leathers fungal resistance are tested in tropical chamber and against *Aspergillus niger* as one of the most commonly found on leather according to ASTM D4576 comperatively.

Key Words: TCMTB, Fungicide, HPLC, UV Spectrophotometer, fungal resistance



## TEŞEKKÜR

Enstrümental analizler ve mikrobiyolojik testler konularındaki yardımlarını ve tezin yazımı sırasında değerli zamanını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Arife Candaş Adıgüzel Zengin başta olmak üzere; ham derileri, işlenti kimyasallarını ve fungusid örneklerini sağlayan Odak Kimyevi Mad. Dış Tic. San. Ltd. Şti'ne; Tropik Çember Testini gerçekleştiren Zenith Industrial Chemicals Pvt Ltd'ine; tüm maddi, fiziksel, analitik ve personel imkanları ile hazırlanabilmesini sağlayan Ege Üniv. Müh. Fak. Deri Müh. Bölümü'ne ve ilaveten tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. M. Mete Mutlu'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca HPLC başta olmak üzere enstrümental analiz altyapısı için 2007 K 120 780 nolu DPT “Tekstil ve Deri Sanayi Doktora Programı” projesine ve sarf malzemeleri için Ege Üniversitesi 09-MÜH-022 nolu BAP projesine teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	v
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 TCMTB.....	2
1.1.1 TCMTB'NİN TANIMLANMASI.....	2
1.1.2 DERİ TEKNOLOJİSİ AÇISINDAN TCMTB.....	3
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
2.1. HAM DERİDE MİKROORGANİZMA FAALİYETLERİ.....	5
2.2 DERİ İŞLENTİSİNDE KARŞILAŞILAN FUNGUS TÜRLERİ.....	5
2.3. DERİ İŞLENTİSİNDE FUNGUS FAALİYETLERİ.....	6
2.4 FUNGUSLARLA MÜCADELEDE GÖRÜŞLER.....	7
2.5. TCMTB'NİN ZARARLARI.....	9
2.6 TCMTB TAYİN YÖNTEMLERİ.....	10

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1 MATERYAL.....	12
3.1.1 DERİ MATERYALİ.....	12
3.1.2 FUNGUSİD ÖRNEKLERİ.....	12
3.2 YÖNTEM.....	12
3.2.1 HAM DERİLERİN İŞLENMESİ.....	12
3.2.2. FUNGUSİDLERİN UYGULANMASI.....	14
3.2.3 UV SPEKTROFOTOMETRESİ İLE TÜKETİMİN BELİRLENMESİ.....	14
3.2.4 HPLC YÖNTEMİ İLE DERİDE TCMTB TAYİNİ.....	15
3.2.5 WET-BLUE DERİLERDE KÜF GELİŞİMİ DİRENCİ İÇİN STANDART TEST METODU (ASTM D4576).....	16
3.2.6 TROPİK ÇEMBER TESTİ.....	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
4.1. TCMTB KONSANTRASYONLARINA YÖNELİK ANALİZLER.....	19
4.1.1. UV SPEKTROFOTMETRESİ VERİLERİ.....	19
4.1.2. HPLC YÖNTEMİ VERİLERİ.....	21
4.2 FUNGAL DİRENÇ ÖLÇÜMLERİNE YÖNELİK VERİLER.....	23

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.2.2 ASTM D4576 TEST METODU SONUÇLARI.....	23
4.2.1 TROPİK ÇEMBER TESTİ SONUÇLARI.....	37
4.2.3 TROPİK ÇEMBER VE ASTM D4576 YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI .....	38
5. SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİŞ.....	46
EKLER .....	.....
Ek 1 T1 HPLC ANALİZ VERİLERİ.....	.....
Ek 2 T2 HPLC ANALİZ VERİLERİ.....	.....
Ek 3 T3 HPLC ANALİZ VERİLERİ.....	.....
Ek 4 T4 HPLC ANALİZ VERİLERİ.....	.....
Ek 5 T5 HPLC ANALİZ VERİLERİ.....	.....

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 TCMTB molekülü.....	3
Şekil.2.1 Deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan fungusidlerin aktif maddeleri.....	8
Şekil 3.1. HPLC yöntemi için TCMTB kalibrasyon grafik.....	15
Şekil 3.2 Tropik çember test kabini.....	18
Şekil 3.3 tropik çember uygulama .....	18
Şekil 3.4 tropik çemberdeki deri örneklerinin görünümü.....	18
Şekil 4.1 T1 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik.....	19
Şekil 4.2 T2 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik.....	20
Şekil 4.3 T3 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik.....	20
Şekil 4.4 T4 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik.....	20
Şekil 4.5 T5 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik.....	21
Şekil 4.6 HPLC kalibrasyon grafiği ve üzerinde örneklere ait ölçüm değerlerinin yerleşimi.....	22
Şekil 4.7 ASTM D4576 yöntemi 3. gün ölçüm fotoğrafları.....	27
Şekil 4.8 ASTM D4576 yöntemi 7. gün ölçüm fotoğrafları.....	30
Şekil 4.9 ASTM D4576 yöntemi 14. gün ölçüm fotoğrafları.....	34
Şekil 4.10 ASTM D4576 yöntemi 21. gün ölçüm fotoğrafları.....	37

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Deri numunelerinin işlenti reçetesi.....	12
Çizelge 4.1 UV Spektrofotmetresi Sonuçları .....	21
Çizelge 4.2 TCMTB için HPLC kalibrasyon verileri.....	22
Çizelge 4.3 Fungusid örneklerine ait HPLC ölçüm değerleri ve karşılık gelen derişimler.....	22
Çizelge 4.4 Fungusid örneklerindeki TCMTB derişimlerine yönelik veriler.....	23
Çizelge 4.5 ASTM D4576 yöntemi 3. gün ölçüm sonuçları.....	24
Çizelge 4.6 ASTM D4576 yöntemi 7. gün ölçüm sonuçları.....	27
Çizelge 4.7 ASTM D4576 yöntemi 14. gün ölçüm sonuçları.....	31
Çizelge 4.8 ASTM D4576 yöntemi 21. gün ölçüm sonuçları.....	34
Çizelge 4.9 Tropik çember küf direnci testi verileri.....	38
Çizelge 4.10 Tropik çember ve ASTM D 4576 test verileri karşılaştırmalı çizelgesi.....	39
Çizelge 4.11 Fungal direnç ve TCMTB içeriklerinin karşılaştırılması .....	41

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
$^{\circ}C$	santigrat derece
$pH$	hidrojen konsantrasyonunun kologaritması
$nm$	nanometre
$ml$	mililitre
$kg$	kilogram
$g$	gram
$mg$	miligram
$ppm$	toplam madde miktarının milyonda bir birimlik kısmı
<u>Kısaltmalar</u>	
CMC	para-chloro-meta-cresol
OPP	ortho-phenylphenol
TCP	2, 4, 6-trichlorophenol
TCMTB	2-(thiocyanomethylthio) benzothiazole
OITZ	2-n-octylisothiazolin-3-one
BMC	2-benzimidazolyl-methylcarbamate
DIMTS	diiodomethyltolyl-sulphone
PMA	phenyl mercuric acetate

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
PCP	pentachloro phenol
HPLC	High Performance Liquid Chromotography
UV	ultra violet
USEPA	United States Environmenal Protection Agency
CAS	Chemical Abstracts Service
OPP	EPA Office of Pesticide Programs
MBT	2-mercaptobenzothiazol
DNA	Deoxyribonucleic acid
PCMC	4-Chloro-m-Cresol
ISO	International Organization for Standardization
BLC	British Leather Council
NPE	Nonyl Phenol Etoxylate
LVU	Lohleyn – Volhard Unit



## 1. GİRİŞ

Canlıların sınıflandırılmasında fungi alemine dahil edilen küfler hif veya hüf denilen çok hücreli filamentler şeklinde gelişen canlılardır. Yaşamaları için gerekli olan enerjiyi içinde buldukları organik maddeden sağlayan bu canlılar hiflerin uçlarından salgıladıkları hidrolitik enzimlerle içinde buldukları ortamda bulunan kompleks organik polimerleri parçalayarak daha basit yapılara indirger ve kullanırlar.

Sporlar vasıtası ile çoğalan bu organizmalar çok geniş sıcaklık, nem ve pH aralıklarına uyum sağlayabilirler ancak büyük çoğunluğu hafif asidik pH'da, %70 ve üzeri nispi nem ile 25-35 derece sıcaklıklarda optimum koşullarda üreme sağlarlar. Bu durum özellikle wet blue derilerde, nem içeriği yüksek krast derilerde ve pH'ı yeterince düşürülmemiş pikle derilerde küf üretmesi için optimum koşulların sağlandığını ifade etmektedir.

Deri üzerinde gelişen küf deri maddesinde sebep olduğu hidrolitik parçalanma neticesinde boyamada ve finisajda düzgünlüklere, ileri safhalarda ciltte daha ciddi ve giderilemez hatalara sebep olabilmekte, derinin çeşitli fiziksel özelliklerini de olumsuz etkileyebilmektedir. Uygun koşullar sağlandığında son üründe de küf gelişebilmekte kullanıcıyı rahatsız edebilecek derecede kötü koku ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir.

Deri teknolojisi açısından küf gelişiminin önlenmesi için depolama koşullarına özen gösterilmesi küf gelişimini yavaşlatsa da nihai çözüm antifungal ajanlar olarak tabir edilen aktif maddeler içeren ticari preparatların kullanılmasıyla sağlanabilmektedir.

Deri endüstrisinde kullanılan fungusidler genel olarak 2 başlık altında toplanabilirler. Bunlar;

- fenolik (CMC,OPP,TCP)
- heterosiklik (TCMTB, OITZ, BMC, DIMTS) 'dir

Bu kimyasallar spesifik olarak, hücre bölünmesini engelleyerek, bazı enzimleri inhibe ederek veya hücre duvarının fonksiyonlarını sekteye uğratarak küf gelişimini kontrol altında tutarlar.

İyi bir deri fungusidinin; yüksek aktivite, geniş antimikrobiyal spektrum, deri ve işlenti kimyasalları ile uyum, deri üstünde stabilite, renk vermeyen, çevre açısından kabul edilebilir, insanlara ve diğer sıcak kanlı hayvanlara karşı düşük toksisiteli, uygun maliyetli olması gibi özellikleri olmalıdır.

Önceleri PMA (fenil merkürük asetat) gibi fenil civa bileşikleri yoğun olarak kullanılırken, daha sonra PCP (penta kloro fenol) bileşiklerini kullanımı yaygınlaşmıştır. 80'li yılların başlarında bu ürünlerin yüksek toksisitelerinin ortaya çıkması, sebep oldukları çevresel sorunlar, vb. sebeplerle kullanımları azalırken TCMTB'li fungusidler kullanımı yaygınlaşmaya başladı.

Günümüzde TCMTB bazlı fungusidler deri endüstrisi genelinde en çok tercih edilen ve en yaygın kullanılan fungal kontrol ürünleridir. Son yapılan araştırmalar neticesinde TCMTB'nin Sınıf C insan karsinojeni olarak nitelendirilmesi, ciltte ve solunum yollarında tahrişe neden olduğu bilinen TCMTB'ye karşı tepkilerin daha da artmasına sebep olmuş, üretimde maruz kalınan ve son üründe nihai kullanıcıya ulaşan TCMTB miktarlarının kontrol ve denetimine önem verilmeye başlanmıştır.

Bu çalışmada TCMTB'nin deride ve banyoda HPLC yöntemi ile tayin edilmesi ve elde edilen sonuçların UV spektrofotometresinde belirlenen absorpsiyon değerleri ile karşılaştırılarak bağlanma miktarlarının tespit edilmesinin yanı sıra, Deri üzerinde HPLC yöntemi ile belirlenen TCMTB miktarlarının derinin fungal direnci ile olan bağlantısı incelenmiştir.

## **1.1 TCMTB**

TCMTB ilk defa bir aktif içerik olarak 21 Ocak 1980 tarihinde USEPA'ya kaydettirilmiştir. Günümüzde de teknik ve ticari amaçlarla pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.

### **1.1.1 TCMTB'nin tanımlanması**

Genel adı: TCMTB veya TCM

Kimyasal Adı: 2-(tiyosiyanometiltiyo)benzotiyazol

Kimyasal Ailesi: Tiyazol

Empirik Formül:  $C_9H_6N_2S_3$

CAS Kayıt No.: 21564-17-0

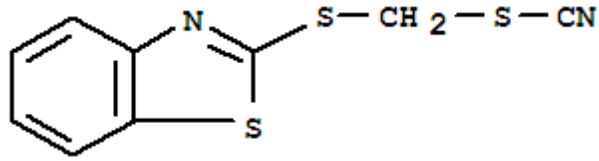
OPP Kimyasal Kodu: 035603

Moleküler Ağırlığı: 238 g/mol

Diğer Adları : 2-(benzotiyazolitiyo) metil tiyosiyanat, TCMTB, TCMB, Busan 72

Üreticiler: Buckman Lab. Inc.(Amerika), Lamirsa (İspanya), vd.

Kimyasal Özellikleri: TCMTB parlak turuncu renkte bir sıvıdır. Mineral yağlara benzer güçlü ekşimsi ve kekre rahatsız edici bir kokuya sahiptir. Sıvı formda bulunmasından dolayı erime noktası yoktur, kaynama noktası is 191 °C'dir. 741.9 mmHg basınçta dekompoze olmaya başlar.



Şekil 1.1 TCMTB molekülü

### 1.1.2 Deri teknolojisi açısından TCMTB

TCMTB tek başına suda zor çözünen ve yapısı itibariyle deri maddesi ile aktif bağ yapamayan bir kimyasaldır. Uygulamada deri yüzeyinde yığılma temayülü gösteren TCMTB'nin suda daha iyi emülsifiye olması ve deri kesitine işleyebilmesi için çeşitli solventler ve dispergatörlerle kombine edilerek genellikle % 30'luk konsantrasyonda piyasaya sunulmaktadır.

Yıkamalarla deriden uzaklaşmaya meyilli olan TCMTB aynı zamanda lipofilik bir maddedir. Bu özelliği ile özellikle yeterli yağ giderme yapılmamış derilerde, pikle ve tabaklama aşamalarında yağlama maddeleri kullanıldığında ve deriler krasta çekilirken kullanıldığında banyodaki tüketimi oldukça hızlıdır.

TCMTB alkali maddeler varlığında, özellikle pH 5,5 ve yukarısında dekompoze olarak etkinliğini yitirmektedir. Benzer şekilde çok düşük pH'larda ve asitlere maruz kaldığında da (pH 2,5 ve altı) etkinliği azalan TCMTB bazlı fungusidlerden optimum verimin alınabilmesi uygun şekilde kullanılmasına bağlıdır.

TCMTB bazlı fungusidler kullanılmadan önce 1/10 – 1/20 oranında su ile seyreltilmeli ve bu karışım 15 dakika içerisinde tüketilmelidir. Banyoda homojen dağılabilmesi için yavaş yavaş beslenmelidir. Pickle aşamasında asitler eklendikten en az 30 dakika sonra; krom tabaklama aşamasında ise bazifikasyon maddelerinin dozlanmasından 30 dakika önce veya sonra kullanılması uygundur. Krom tabaklamanın sonunda dozlanarak derilerin yaklaşık 1 saat muamele edilmesi de yeterli korumayı sağlayabilmektedir.

TCMTB bazlı fungusidler üretilen deri türüne ve istenilen koruma süresine göre farklı oranlarda kullanılırlar. Genelde deri ağırlığı üzerinden % 0,05 – 0,3 oranlarında kullanılmaları tavsiye edilmektedir. Uygulamada bitkisel tabaklama maddeleri ile tabaklanan derilerde krom tabaklanmış derilere göre iki kat daha fazla kullanılması yeterli korumanın sağlanabilmesi için tercih edilmektedir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1 Ham Deride Mikroorganizma Faaliyetleri

Ham deri hayvanın sırtından yüzüldüğü andan itibaren mikroorganizmaların tehdidi altındadır. Çeşitli konserveleme yöntemleri ile korunmaya çalışılan deriler, deri üretim prosesleri sırasında da mikroorganizma faaliyetleri ile karşı karşıya kalırlar. Islatmadan finisaja kadar her aşamada deri maddesi bu tehdit ile karşı karşıyadır.(Sarı., 2003)

Ham derinin yapısında %64 su, %30 protein, %3 karbonhidrat, %2 yağ, %0,5 mineral maddeler ile %0,5 diğer maddeler bulunmaktadır. Ham derinin kuru maddesinde ise %50 karbon, %25 oksijen; %17,8 azot; %7 hidrojen; %0,2 'de mineral maddeler bulunmaktadır. (Harmancıoğlu ve Dikmelik; 1993)

Deri maddesi içerdiği yağ, protein, vb. maddeler ile fungus üremesi için ideal besi ortamını oluşturmaktadır. Derilerin depolandığı yerlerin ve işlenti esnasındaki rutubet, ph ve sıcaklık değerlerinin genellikle fungus gelişimi için ideal tespit olunan değerlere yakın olması deri endüstrisinde küf gelişimin süregelen bir sorun olmasına sebep olmaktadır. (Turhan;2000)

### 2.2 Deri İşlentisinde Karşılaşılan Fungus Türleri

Deri işlentisinde karşılaşılan bazı fungus türleri *Penicillium*, *Absidia*, *Acremomyium*, *Aspergillus*, *Basipetospora*, *Byssochlomyis*, *Chrysonilia*, *Cladosporium*, *Emericella*, *Eupenicillium*, *Euratum*, *Fusarium*, *Monascus*, *Paecilomyces*, *Mucor*, *Moniliella*, *Neosortorya*, *Phialophora*, *Scopulariopsis*, *Stachobotrys*, *Trichoderma*, *Trichosporon* ve *Verticillium*'dur. (Birbir vd., 1994)

Özellikle *Aspergillus* cinsi fungusların deride geliştiği en sık görülen fungus türlerinden olduğu bildirilmektedir. (Tancous, 1961)

Pikle ve kromlu derilerde farklı fungus çeşitlerinin farklı pigmentasyonlara sebep olduğu tespit edilmiştir. (Karaboz vd., 2003)

Funguslar deri maddesi içerisindeki yağı hidrolize ederek deriyi sertleştiribilmektedirler. Deriler görünüşte zarar görmemiş olsalar dahi uzama dayanımları düşmekte ve kullanım özellikleri zarar görmüş olmaktadır. Üredikleri

alanı renklendirmeleri ve kötü kokulara sebep olmaları ise asıl zararlarıdır. (Reed, 1966)

### 2.3 Deri İşlentisinde Fungus Faaliyetleri

Deri işlentisinin ilk aşaması olan ıslatma işlemi sırasında da fungus faaliyeti gözlemlenebilmekte; Fungal proteolitik aktivitenin kontrol altına alınabilmesi için bakterisitlerin yanı sıra fungusidler de kullanılmasıyla hem fungus popülasyonunda azalma hem de bakteri faaliyetinin daha iyi kontrol altına alınabilmektedir. (Yapıcı,2008)

Deri işlentisi sırasında fungus gelişiminin işlenti açısından zararlı olabilecek şekilde ilk gözlenebildiği aşama genellikle pikle işlemidir. Pikle işlemi sırasında kullanılan %8-12 tuz ve %1.2-2.0 sülfürik asit deri cinsine ve durumuna göre uygun dengede kullanılmalıdır. Asitin fazla kullanılması deri maddesinin parçalanmasına yol açarken tuz eksikliği ise küf gelişimini daha çabuk olmasına yol açmaktadır. (Venkatachalam; 1962)

Pikle deriler %40-60 nem içerirler ki bu fungal gelişim için ideal sayılabilecek bir ortamdır. (Harmancıoğlu ve Dikmelik; 1993)

Pikle işlemi sırasında derilerin korunarak depolanması amaçlanıyorsa koruyucu pikle de denilen; daha yoğun asit ve tuz konsantrasyonlarında derinin muamele edilerek pH'nın 1,5 seviyelerine düşürülmesine çalışılır. Asitli ortamda bakteri faaliyeti sınırlanmış olduğu halde, pek çok fungus türü için de inhibe edici özellik göstermektedir. Derilerin koruyucu pikle ile 1 yıla kadar funguslara karşı korunabileceği belirtilmiştir. Ancak deri maddesinin asit hidrolizi etkisiyle parçalanması sonucu ortaya çıkan ürünler vasıtasıyla deri genelinde ve özellikle de yüzey kısımlarında pH yükselmesini takiben fungal faaliyet gözlemlenmektedir. Uygun koşullarda bulunan funguslar yapı taşlarına parçalanmış deri maddesi sayesinde kolay elde edilebilir besin sağlamakta ve fungal gelişim normalden daha da hızlı gerçekleşebilmektedir. Bu sebeple 3 haftadan daha fazla depolanması planlanan pikle derilerde uygun bir fungusid kullanılması tavsiye edilmektedir. (Alexander et al., 1988)

Pikle derilerde ortaya çıkan küf gelişimi deri yüzeyinde baskın küf türüne göre farklı renklenmelerle ortaya çıkabilmektedir. Pikle derideki küf faaliyeti son üründe mat bölgeler ve yetersiz boya alımı gibi hatalara sebep olmaktadır. Ağırlıklı olarak derinin cildinde faaliyet gösteren funguslar sonraki işlentilerde

deriden uzaklaştırılırsalar dahi faaliyet gösterdikleri bölgelere verdikleri zarar çoğunlukla giderilememektedir. Bu tür zararların önüne geçilebilmesi için pikle işleme sırasında fungusid kullanımı tavsiye edilmektedir. (Sharphouse;1989)

Deri işlentisi sırasında küf gelişimin en çok gözleendiği aşama ise derilerin tabaklama işleme sonrasında yarı mamul olarak depolandığı durumlardır. Ülkemizde işlenen derilerin büyük çoğunluğu krom ile tabaklanmaktadır. Çinde işlenen derilerin %85'i, Hindistan'da işlenen derilerin ise %80 i krom tabaklama yapılmaktadır. (Öztürk)

## 2.4 Funguslarla Mücadele de Görüşler

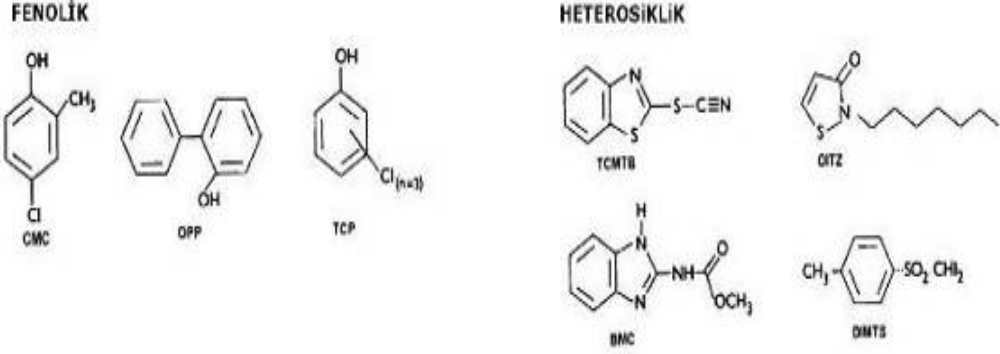
Ağır metaller her canlıda olduğu gibi mikroorganizmalarda da hayatın sürdürülebilmesi için gereklidir ancak eser miktarlarda gerekli olan bu elementlere yüksek dozlarda maruz kalan mikroorganizmalarda gelişim inhibe olmaktadır. Bu sonuca oligodinamik etki denmektedir. Diğer ağır metaller gibi krom da fungal gelişim üzerinde oligodinamik olarak inhibe edici etkiye sahiptir. (Karaboz,2001)

Ancak bu etki krom tabaklanmış derilerin uzun süre korunmasını sağlayamamaktadır.

Deri sanayinde fungal zarara karşı kullanılan fungusidlerde yıllar boyunca değişimler meydana gelmiştir. Daha önceki yılları inceleyecek olursak fenil civa asetat (PMA) gibi fenil civa bileşenlerinin yaygın olarak kullanımda olduğu hatırlanır. Ardından penta kloro fenol gibi klorlanmış fenollerin kullanımı başlamıştır. 1980'li yılların başında; yüksek toksisitelerinden, neden oldukları çevresel problemlerden ve nakliye esnalarındaki olumsuzlukları nedeniyle bu bileşiklerin kullanımı istenmemiş veya kullanımlarına sınırlama getirilmiştir. 1970'li yıllarda 2-tiyosiyano-1-metil-5-benzotiyazol (TCMTB) fungusidi, yeni bir standart haline gelmiş ve günümüze dek kullanımda kalmayı başarmıştır. Fakat daha güvenli ve çevreci fungusidlere olan artan ilgi nedeniyle araştırmacılar ve biyosit üreticileri bu konuda araştırmalarına devam etmektedir. (Dalton, 2008).

Yukarıda bahsedilen TCMTB esaslı fungusidler yanında OPP ve OIT bazlı fungusidler de wet-blue aşamasında fungal büyümenin engellenmesi için standart deri işlentisi fungusidler olarak bilinirler ve kullanılırlar. Bu kimyasallar üretimde substratın kendisine ilave edilir ve bunların mevcudiyeti wet-blue derilerin küf gelişim riski olmadan taşınmasını ve depolanmasını mümkün kılar. Genellikle fungusidler, fungusların deride gelişimini, penetrasyonunu ve

büyümesini engeller. Daha spesifik olarak fungusidler hücre bileşenleri ile etkileşebilir, belirli enzimlerin aktivitesi inhibe edebilir veya hücre zarının fonksiyonunu değiştirebilir (BLC, 2008).



Şekil.2.1 Deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan fungusidler aktif maddeleri

Şekil 2.1’de deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan fungusidler aktif maddeleri gösterilmektedir (Orlita, 2003). Piyasadaki farklı aktif maddeli fungusidler ne yazık ki her fungus türüne aynı etkiyi göstermezler. Bu nedenle fungal zarara neden olan fungus türünün tespit edilerek bu fungusu inhibe edebilen spesifik fungusid türünün seçimi ve kullanılması önem taşımaktadır. Fungusidler, üründeki stabilitesi ve etki mekanizmasına göre kabaca iki gruba ayrılabilir.

Elektrofilik reaktif biyosit mekanizmasına sahip olanlar (TCMTB, İzotiazolinler, MBT)

Bu ürünler mikroorganizma hücrelerinin nükleofilik merkezleri ile elektrofilik aktivite göstererek geri dönüşümsüz kimyasal reaksiyonları ile karakterize edilirler. Hücre içindeki nükleofilik reaksiyon partneri amino asitlerin amino veya tiyo grupları, protein veya DNA olabilir.

Membran aktif biyosit mekanizmasına sahip olanlar (OPP, PCMC)

Bu ürünler aktif moleküllerin dış hücre zarı tarafından geri dönüşümlü fiziksel adsorpsiyonu ve daha sonra penetrasyon ve sitoplazmik membran etkileşimi ile karakterize edilirler. Bu, besin transferinin kesilmesine iç hücre zarının zarar görmesine, fungus hücresinin ölmesine yol açar (Kleban, 2008).

Fungal gelişimi engellemek üzere kullanılan pentaklorofenol esaslı ürünlerin piyasadan çekilmesi ile süstitüe benzotiyazol esaslı ürünlerin endüstride fungus kontrolüne karşı kullanımı yaygınlaşmıştır. (Dalton,2008)

Benzotiyazoller ve türevleri, dünyada çok çeşitli uygulamalar için yaygın olarak üretilmektedir. Bu ürünler ağaç ve deri endüstrisinde fungusid olarak, herbisit olarak, alg engelleyici olarak, kağıt endüstrisinde slaym önleyici olarak ve kemoterapide kullanılmaktadır. Bu uygulamalar açıkça benzotiyazollerin geniş spektrumlu bir biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (De Wever et all, 2001).

Deri endüstrisi ; ahşap, kağıt, boya sanayi dalları için geliştirilmiş çeşitli preparatları fungal zararların önüne geçmek için kullanmıştır. 1970'lerin sonlarında bu alanda kullanılmaya başlanmış olan TCMTB ise günümüzde neredeyse bir endüstri standardı haline gelmiştir. (Lakshmi et al.,1999)

TCMTB'nin keşfi ile ilgili ilk çalışmalar 1940'lı yılların sonlarında Buckman Labratories tarafından kağıt endüstrisinde kullanılan yüksek hızlı kağıt makinelerinde oluşan mikrobiyolojik kefin önlenmesi doğrultusunda uygun bir preservatif araştırılırken başlamıştır. 1970'lerde kağıt endüstrisinde kabul gören TCMTB buradan deri de dahil olmak üzere diğer endüstriler tarafından kullanılmaya başlanılmıştır. (Hanssen et al; 1991)

## **2.5 TCMTB'nin Zararları**

1990'lı yılların sonuna gelindiğinde TCMTB'nin sağlık ve çevre yönünden etkileri halen tam olarak bilinmemektedir. 1987 yılında Amerika Çevre Koruma Ajansı (USEPA) tarafından TCMTB'nin çevresel davranışının belirlenmesine yönelik bir takım çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda TCMTB'nin doğada hangi yan ürünleri vererek degrade olduğu incelenmiştir. Aynı dönemde TCMTB'nin toksikolojik özelliklerine dair herhangi bir resmi araştırma bulunmazken , eldeki sınırlı bilgi kimyasal madde üreticileri tarafından ürünlerini kayıt yaptırmak için devlet kurumlarına verilmek üzere özel laboratuarlara yaptırılan ve kamuoyuyla paylaşılmayan çalışmalardan ibarettir.(Hanssen et al.; 1991)

2000'li yılların ortalarında TCMTB, artan ürün çeşitliliği ve kullanım alanları ile ciddi bir endüstriyel potansiyele ulaşmıştır. Yüksek miktarda tüketilen bu ürünün kullanım esnasında insanda meydana getirdiği tahriş vb. yan etkiler

ortaya çıktıkça; ürünün toksisitesi ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmış ve bu araştırmalar sonucunda TCMTB'nin çevre ve insan sağlığı üzerindeki etkileri çok daha detaylı olarak ortaya konmuştur.

TCMTB'nini genel anlamda cilt ve oral toksisitesinin düşük olduğu görölse de (kategori III), solunum yolu ile alındığında ve gözle temasında son derece tehlikeli olduğu görölmektedir.(Kategori I); benzer şekilde ciltte tahrişe (kategori II) ve derinin hassaslaşmasına sebep olmaktadır.

TCMTB'nin toksisite özellikleri ile ilgili fareler, tavşanlar ve köpekler üzerinde yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda hayvanlara oral, dermal ve solunum yoluyla uygulanan TCMTB'nin, ciddi mide ülserleri, kilo kaybı, beslenme bozuklukları, üriner ve dolaşım sistemlerde ve genel vücut kimyasında bozulmalar, immün sistem yetersizlikleri, vb. pek çok rahatsızlığın yanı sıra özellikle erkek bireylerde adenom gelişiminde ciddi artışlar gözlemlenmiştir. Özellikle köpeklerin diğer deney hayvanlarına nazaran daha düşük dozlarda daha fazla toksik tepki ortaya koymaları düşündürücüdür. Bu gerçekler doğrultusunda TCMTB'nin sınıf C insan karsinojeni olarak sınıflandırılması, kullanım dozajları, kullanılırken alınması gereken önlemler ve farklı etiketlenmesine yönelik tedbirler alınarak piyasaya sürölmesi konusunda Amerika da USEPA tarafından gerekli düzenlemeler yapılmıştır. Aynı çalışmada TCMTB'nin çeşitli su canlıları üzerindeki toksisite değerleri incelenmiş pek çoğunda yüksek toksisite gösterdiği belirtilmiştir. Ancak TCMTB'nin pH 5'in üzerinde hızla parçalanması çevre açısından riskin nisbeten daha az olduğuna işaret etmektedir. (EPA739-R-05-003, 2006)

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar henüz sınırlı olmakla beraber TCMTB'ye çalışma koşulları dolayısıyla maruz kalan insanlarda; deride kaşınma, ateşlenme, yanık; gözlerde, burunda ve gırtlakta tahriş gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır. Göğüs sıkışması, burun kanaması da göröllebilmektedir. Çalışma esnasında TCMTB'nin sulu çözeltilisine maruz kalan insanlarda alerjik kontak dermatit göröllebilmektedir. Deri fungusidi olarak kullanılan TCMTB'nin ise özellikle hassas ciltli insanlarda ve ayak egzaması olan hastalarda kontak dermatitin etimolojik faktörü olarak ortaya çıktığı belirlenmiştir. (Domingo et al.)

İnsan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri yapılan araştırmalarla daha da fazla ortaya çıkan TCMTB'nin deri sanayindeki kullanımın kontrol altına

alınması ve özellikle son üründeki miktarının belirlenmesi Avrupa ülkeleri başta olmak üzere tüm dünyada gittikçe artan şekilde talep edilmektedir.

## 2.6 TCMTB Tayin Yöntemleri

Bu amaçla araştırmacılar deride, flottede, atık sularda, vb. TCMTB miktarının belirlenmesine yönelik yöntemler geliştirirken diğer taraftan da TCMTB nin deri tarafından alınımının iyileştirilmesi ve derinin korunması için mümkün olan en düşük dozajın belirlenebilmesi için çeşitli çalışmalar yürütmektedirler. Bu çalışmaların bazıları TCMTB'nin daha az toksik antifungal ajanlarla sinerjik olarak kullanılarak preparattaki oranın azaltılmasına yönelik de araştırmalar yapmaktadırlar. (Dalton et al, 1996)

TCMTB analizi için çeşitli yöntemler önerilmiş olmasına rağmen; bunların içinde en verimlisi yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde (HPLC) belli ultraviyole ışın frekans aralıklarının kullanılarak yapılan analizler olarak belirtilmiştir. Gaz kromatografisi yöntemi ise TCMTB'nin termal kararsızlığından dolayı kullanılamamaktadır. (Fowler,1987; Fiehn et al.; 1994; Voulvolis et al., 1999)

TCMTB miktarının HPLC yöntemi ile tayin edilebilmesi ile TCMTB ve deri maddesi arasındaki ilişki incelenerek, banyo tüketiminin nasıl gerçekleştiği ve etkileyen koşullar incelenebilmiştir. (Fowler, 1990)

TCMTB'nin ve alt ürünü olan merkaptobenziazolün spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilebilmiş ve sonuçlar HPLC yöntemi ile yapılan analizlerle uyumlu olmuştur. (Reyes et al, 2001)

Mevcut yöntemler içinde en yenilerinden biride atıksularda elektroredüksiyon yöntemi ile TCMTB miktarının tayin edilmesidir. (Menese et al, 2005)

### 3 MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Deri materyali

3 adet yerli ırk tuzlu yaş koyun derisi mümkün olan en basit ve standart reçete ile wet-blue aşamasına kadar işlenmiştir. Derilere krom tabaklama işlemi de dahil olmak üzere hiçbir fungusid uygulanmamıştır.

##### 3.1.2 Fungusid Örnekleri

Piyasada farklı ticari isimler altında satılan ve pazarlayan firmalar tarafında %30'luk TCMTB içeriğine sahip olduğu söylenen 5 farklı fungusid numunesi tedarik edilerek, araştırma aşamasında ticari isimlerinin bilinmemesi için kodlanmıştır (T1,T2,T3,T4,T5)

#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 Ham Derilerin İşlenmesi

Ham deriler aşağıdaki reçeteye uygun olarak işlenmiştir. Reçete düzenlenirken tabakhane koşullarında uygulanabilecek en basit reçete göz önüne alınmıştır. İşlenti sırasında pikle ve krom tabaklama aşamalarında hiçbir fungusid kullanılmamış, bunun yanı sıra yağ, dolgu, ön tabaklama maddelerinin de kullanımından fungusid etkinliğini etkileyebileceği için kaçınılmıştır.

Çizelge 3.1. Deri numunelerinin işlenti reçetesi

İŞLEM	%	MALZEME	° C	SÜRE	pH	NOTLAR
Tartım						5kg ham
Islatma		Su	25	1s		Pervanede
Yumuşatma		Su				
	0,5	Noniyonik ıslatma yardımcısı				Sabaha kadar
	0,2	Ditiyokarbamat bakterisit				10dak/saat, süz
Ön etleme						
Badana		Zırnık 15 Be° Kireç 25 Be° Kaolin 35 Be°		6s		Et tarafından
Yün yolma						

Kireçlik	80	Su	25			Dolapta
	3	Zırnık		1 s		Sabah kadar
	2	Kireç				5dak/saat döndür
	1	Amin kireçlik yardımcısı				
	1	Noniyonik dispergatör		30 dak.		
Etleme						
Tartım						2,5 kg tola
Yıkama	200	Su	25	15 dak		X2
Kireç giderme	50	Su				
	2	Kireç giderme malzemesi		1 s	8	pH kontrol Fenol fitaleyn ile Kesit renksiz
Sama		Aynı banyoda	35			
	1,5	Sama malzemesi 1500LVU		1 s		Kontrol Balon testi, süz
Yıkama			25	15 dak		Delikli kapakla,süz
Yağ giderme	50	Su	35			
	4	NPE'siz yağ giderici				
	1	Noniyonik dispergatör		1 s		Süz
Yıkama	200	Su	35			
	0,5	Dispergatör		15 dak		Süz x2
Yıkama			25	15 dak		Delikli kapakta,süz
Pikle	60	Su	25			5 Be°
	10	Tuz				Derileri ekle
				5 dak		
				10 dak		
	1	Formik asit		30 dak		1/10 seyrelt
	0,75	Sülfirik asit		30 dak		1/20 seyrelt
	0,75	Sülfirik asit		30 dak		1/20 seyrelt
						pH kontrol banyo 2,6-2,8
						Ph 3 dimetil sarısı kesit kırmızı
				2 s		
Krom tabaklama	10	%33 Bazik Krom Sülfat	25	1 s		Ertesi gün sabah kadar
						5 dak/ saat
						Kesit kontrol
Bazifikasyon	1	Sodyum formiyat		30 dak		pH kontrol dimetil sarısı kesit sarı turuncu
	0,5	Na-bikarbonat		30 dak		Süz , istifle

### 3.2.2.Fungusidlerin Uygulanması

Wet-blue derilerin muhtelif yerlerinden 7 cm x 11 cm ebatlarında 50 adet parça kesilerek 10'arlı guruplar halinde her bir fungusid için ayrılmıştır. Her bir grubun ağırlığı 0,1 g hassasiyetle 150 g olacak şekilde ayarlanmıştır.

Fungusidlerden hassas tartım ile 1'er gram tartılarak 1000 ml'ye seyreltilmiştir. 1/1000'lik fungusid çözeltileri çalkalayıcı inkübatörde 150 d/d, 30 °C'de 2 saat boyunca 2000ml'lik erlenlerin içinde derilere uygulanmıştır.

### 3.2.3 UV Spektrofotometresi ile tüketimin belirlenmesi

Fungusid uygulanmış derilerden alınan parçalar kurutularak öğütülmüş ve elde edilen deri tozu saf suda 6 saat çalkalayıcı inkübatörde ekstrakte edilerek elde edilen çözelti UV spektrofotometresinde 1/1000'lik fungusid stok çözeltileri ile karşılaştırılarak yıkama ile uzaklaşan fungusid oranı belirlenerek bağıl tüketim değerlerinin tespit edilmiştir.

Tüketim öncesi ve sonrası pik absorbans değerleri oranlanarak % cinsinden deride kalan ve yıkamalarla uzaklaşan TCMTB miktarı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$W = ( Abs_{.E} / Abs_{.I} ) \times 100$$

$$B = 100 - W$$

W                      % cinsinden yıkamalarla uzaklaşma miktarı

Abs<sub>.E</sub>                Yıkama çözeltisi için pik absorbans değeri

Abs<sub>.I</sub>                Stok Çözelti için pik absorbans değeri

B                      % cinsinden bağlanma miktarı

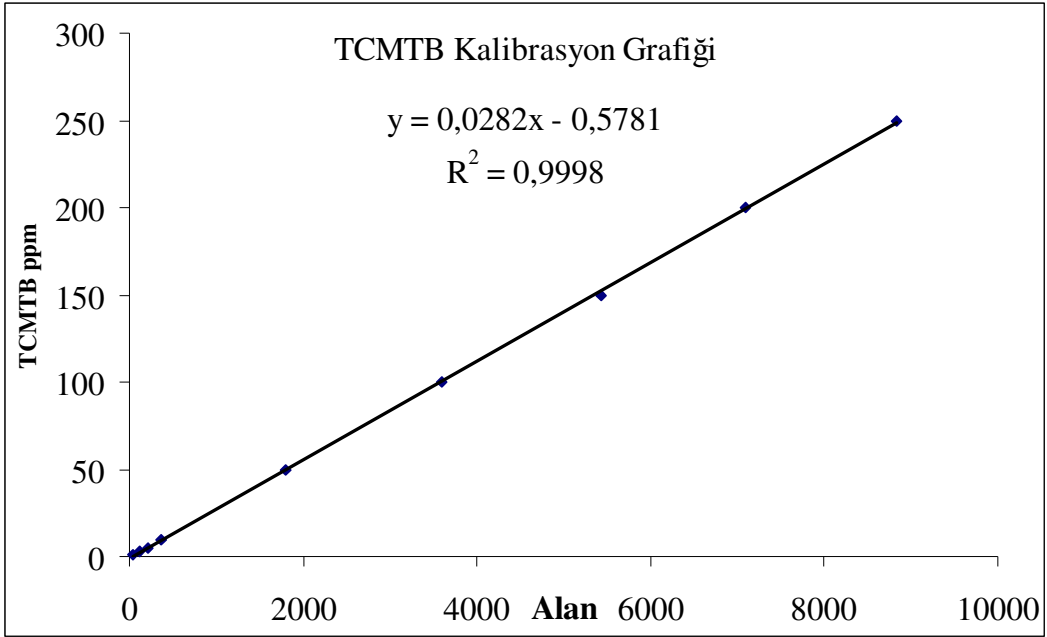
### 3.2.4 HPLC yöntemi ile deride TCMTB tayini

ISO 2418'e göre alınan deri numuneleri, ISO 4044'e göre öğütülmüştür.

1gr öğütülmüş deri 0,001 hassasiyetle tartılarak 100ml'lik behere konarak üzerine 20ml asetonitril eklendikten sonra %80 güçteki ultrasonik banyoda 1 saat boyunca oda sıcaklığında ekstrakte edilmiştir.

Ekstraksiyonu takiben uygun bir kaba filtre edilen çözelti HPLC'de ölçülünerek tespit edilen fungusidlerin miktarları tayin edilmiştir.

HPLC cihazında CC250/4 nükleosil 100-5 C18 HD ayırıcı kolon ve uygun önkolon kullanılmıştır. 0,8ml/dak debide, 30 °C kolon fırını sıcaklığında ilk 6 dakika %60'lık asetonitril ile izokratik sonrasında %95'lik saf su ile 9 dakika 0,02ml enjeksiyon hacminde 275 nm UV algılama frekansında %99,7'lik TCMTB (asetonitrilde) ile kalibre edilmiş ve aynı koşullarda ölçüm gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. HPLC yöntemi için TCMTB kalibrasyon grafik

Elde edilen kalibrasyon grafiğinin doğru fonksiyonunda her bir fungusid örneği için elde edilen pik alanları yerine konarak karşılık gelen derişim değerleri bulunmuştur.

Elde edilen derişim değerleri aşağıdaki formülde yerine konarak deri örneğindeki TCMTB miktarı mg/kg cinsinden hesaplanmıştır.

$$W_T = \beta \cdot V \cdot F \cdot 1000 / m \cdot 1000$$

- $W_T$  derideki TCMTB miktarının mg/Kg cinsinden değeri
- $\beta$  fungusid örneğine ait kalibrasyon grafiğinden elde edilen  $\mu\text{g/ml}$  cinsinden TCMTB konsantrasyonu
- $V$  ml cinsinden ekstraksiyon hacmi
- $F$  seyreltme faktörü
- $m$  deri örneğinin g cinsinden ağırlığı

Deri maddesinde tespit edilen TCMTB miktarı ile UV spektrofotometresi ölçümlerinden elde edilen bağlanma oranları kullanılarak fungusid örneklerinin TCMTB derişimleri hesaplanmıştır.

### 3.2.5 Wet-blue derilerde küf gelişimi direnci için standart test metodu (ASTM D4576)

ASTM D4576 standardına göre 120 mm çapındaki plastik geri dönüşümsüz petri kapları içine 2 cm x 2 cm ebatlarındaki deri parçaları petri kabının orta kısmına gelecek şekilde yerleştirildikten sonra 3,9 g / 100 ml'lik konsantrasyonda hazırlanmış potato dextroz agar petri kaplarının içine deri parçalarının üzerine gelmeyecek şekilde dökülmüştür (25 ml).

20 dakika kadar agar solüsyonunun katılaşması beklendikten sonra  $1 \times 10^5$  spor/ml'lik *A. niger* sporu süspansiyonundan deri parçasının sağına, soluna ve üzerine olmak üzere 3 damla damlatılmıştır.

Daha sonra 34 °C'deki inkübatöre yerleştirilen petri kapları 21 gün boyunca inkübe edilmiş; 3., 7., 14. ve 21. günlerde ölçümlendirilip fotoğraflanarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Değerlendirme 2 cm x 2 cm ebatlarındaki deri parçasının % yüzey alanın küfle kaplanan kısmının 0 – 4 değerleri arasında derecelendirilmesi şeklinde yapılmıştır. Buna göre % 0, 0 küf gelişimi; % 12, 0,5 küf gelişimi; % 25, 1 küf gelişimi; % 50, 2 küf gelişimi; % 75, 3 küf gelişimi, % 100, 4 küf gelişimi olarak değerlendirilmektedir.

Her bir fungusid için 2 adet cilt ve 1 adet süet deri parçası 2 cm x 2 cm ebatlarında kesilerek, deri üzerinde en hızlı gelişen ve en baskın fungi türlerinden biri olan *Aspergillus niger*'e karşı test edilmiştir.

Petri kaplarındaki küf gelişimi 3.,7.,14. ve 21. günlerde ölçümlenmiş ve fotoğrafları çekilerek kayıt altına alınmış ve sonuç ASTM standardına uygun olarak raporlanmıştır.

### 3.2.6 Tropik çember testi

Fungusid uygulanan derilerden 3'er adedi Tropik çember testine sokulmak üzere Zenith Industrial Chemicals firmasının Madras(Hindistan)'da bulunan mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir.

Zenith Industrial Chemicals firmasının tropik çember testi ASTM D3273-00 test yöntemi temel alınarak geliştirilmiş bir uygulamadır.

Test düzeneği; iç ortamı % 95-100 nem ve 27-30 °C sıcaklıkta tutulan izole edilmiş bir kabindir. Kabin nem ve sıcaklık kontrolünü otomatik olarak sağlayan sistemlerle donatılmıştır.

Tropik çember düzenli aralıklarla deride ortaya çıktığı sıkça görülen çeşitli fungus türlerinin sporları ile aşılansmaktadır. Hava sirkülasyonu sayesinde sürekli olarak derilere saldırması sağlanan bu sporlar ideal nem ve sıcaklıkta deri örneklerine dış ortamdan çok daha hızlı bir şekilde etkimektedirler.

7 cm x 10 cm ebatlarında kesilen deri örnekleri deneme başına 3 adet örnek olacak şekilde kabin içerisindeki askılara yerleştirilmektedir. Deri parçaları her hafta muayene edilerek küf gelişimi değerlendirilmektedir. Bu değerlendirme küfle kaplanan % yüzey alanının 100 üzerinden puanlanması ile yapılmaktadır. Her hafta sonunda 20 ve altı puan alan deri parçaları testi başarıyla tamamlamış kabul edilir. 4 hafta (28 gün) süren testin değerlendirilmesinde 4. hafta sonunda sınır değerinin altında küf gelişimi gösteren numuneler uzun süreli küf direnci sahip olarak nitelenir. 3. hafta orta vadeli, 2. hafta ise kısa süreli küf direncine işaret etmektedir. İlk hafta sonunda 20'nin üzerinde puan alan deri parçalarının küf direnci olmadığı belirtilir. Her bir test için ortama fungusid içermeyen bir deri parçası asılır. Bu deri parçasının ilk haftanın sonunda 20 üzerinde puan alarak tropik çemberin çalıştığını ispat etmesi gerekmektedir.

Tez çalışması gereği daha ayırt edici sonuçlara ulaşılabilmesi için, wet-blue deri numuneleri 8 hafta boyunca tropik çemberde tutularak sonuçlar gözlemlenmiştir. Bu sayede standart süreçte yeterli koruma sağlayan fungusidler olması halinde sonuçların birbirinden farklılıklarının gözlemlenebilmesi amaçlanmıştır.



Şekil 3.3 tropik çember test kabini



Şekil 3.4 tropik çember uygulama



Şekil 3.5 tropik çemberdeki deri örneklerinin görünümü

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

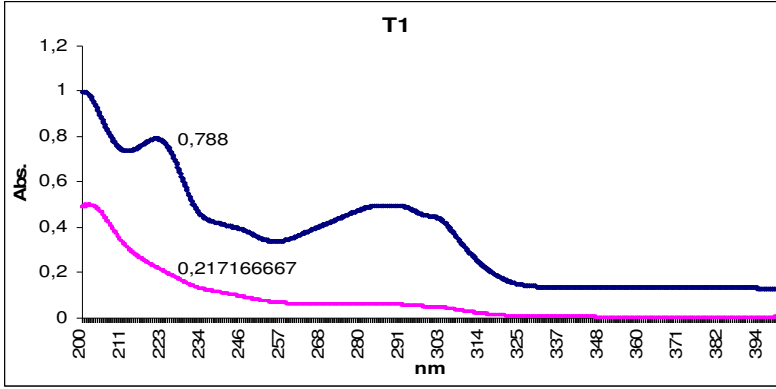
Tez çalışması sırasında yapılan analizler 2 grup altında toplanmıştır. Bunlar TCMTB içeriğine yönelik analizler ve TCMTB etkinliğine yönelik analizlerdir

### 4.1 TCMTB Konsantrasyonlarına Yönelik Analizler

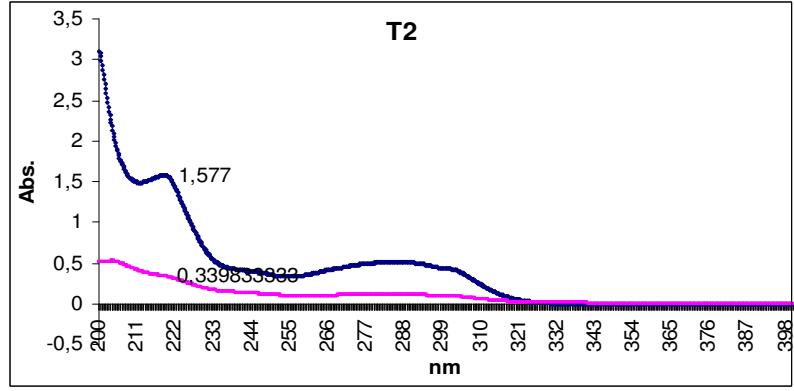
UV spektrofotometresi yöntemi ve HPLC yöntemi ile yapılan analizlerden elde edilen bulgular ayrı ayrı sunulduktan sonra tespit edilen TCMTB içerikleri küf direnci testleri ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

#### 4.1.1 UV Spektrofotometresi verileri

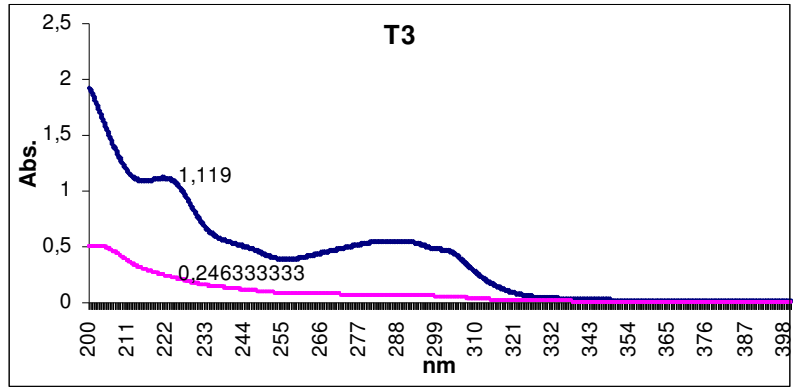
UV spektrofotometresi ile yapılan ölçümlere ait veriler grafik haline getirilerek TCMTB konsantrasyonuna ait pik değerleri belirtilmiştir. Yıkama ile uzaklaşan ve deriye bağlanan TCMTB yüzdesi hazırlanan stok çözeltiye oranlanarak tayin edilmiştir.



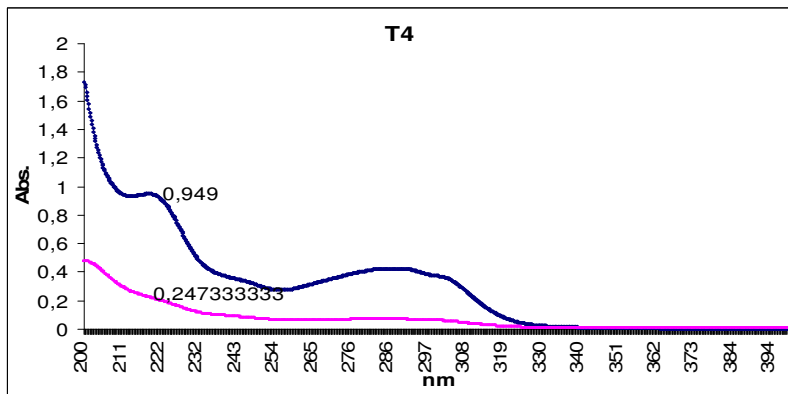
Şekil 4.1 T1 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik



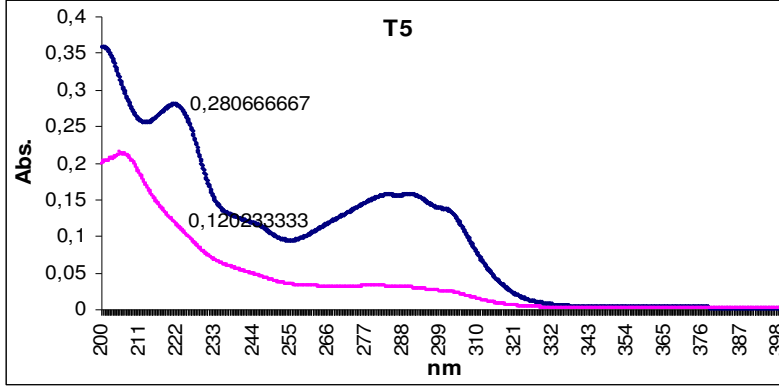
Şekil 4.2 T2 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik



Şekil 4.3 T3 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik



Şekil 4.4 T4 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik



Şekil 4.5 T5 için UV spektrofotometresi analiz değerlerine ait grafik

Şekil 4.1 – 4.5’de verilen UV Spektrofotometresi sonuçları incelendiğinde benzer ticari ürünler arasında TCMTB aktif maddesinin deriye bağlanma oranları arasında ciddi farklılıklar olabildiği görülmektedir. T2 en iyi bağlanma oranını göstermektedir. T5 örneği ise en düşük bağlanma oranına sahiptir. T3 örneği ile T2 örneği arasında bağlanma dereceleri birbirine çok yakındır. Örneklerin bağlanma dereceleri arasındaki farklılıklar TCMTB’nin deriye bağlanma miktarının ürünün kompozisyonundaki diğer yardımcı maddelerden etkilendiğine işaret etmektedir.

Çizelge 4.1 UV Spektrofotometresi Sonuçları

Örnek	nm	İlk Abs.	Son Abs.	Yıkama Derecesi (%)	Bağlanma Derecesi (%)
T1	221	0,79	0,23	28,49	71,51
T2	218,4	1,58	0,34	21,49	78,54
T3	221	1,12	0,25	22,01	77,99
T4	218,2	0,95	0,22	23,68	76,32
T5	221	0,28	0,12	42,84	57,16

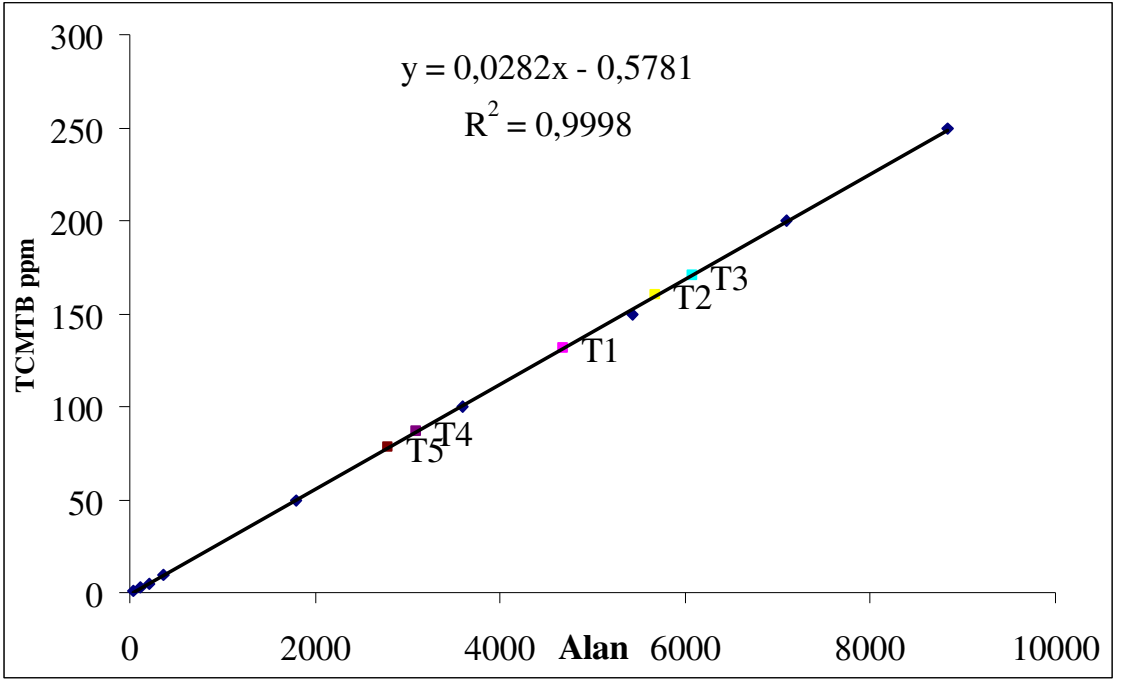
#### 4.1.2 HPLC yöntemi verileri

Yapılan kalibrasyon çalışması ile analizde elde edilen TCMTB pikinin alanı ve TCMTB konantrasyonu arasında Şekil 4.6’daki gibi bir ilişki olduğu belirlenmiştir.

HPLC analizi ile elde edilen veriler incelendiğinde T3 örneği ile işlenen derilerde bulunan TCMTB miktarı diğerlerinden fazladır. T5 örneği ise en az TCMTB içeriğine sahip olan derilerdir. T3 ve T2 örnekleri birbirlerine oldukça yakın değerler göstermektedir.

Çizelge 4.2. TCMTB için HPLC kalibrasyon verileri

<b>Derişim (ppm)</b>	1	3	5	10	50	100	150	200	250
<b>Alan</b>	35,52	105,59	205,74	357,94	1791,64	3595,94	5439,17	7095,83	8828,91



Şekil 4.6 HPLC kalibrasyon grafiği ve üzerinde örneklere ait ölçüm değerlerinin yerleşimi

Çizelge 4.3 Fungusid örneklerine ait HPLC ölçüm değerleri ve karşılık gelen derişimler

<b>Örnek</b>	T1	T2	T3	T4	T5
<b>Alan</b>	4693,48	5686,55	6071,26	3091,97	2797,18
<b>Derişim (ekstrakt, ppm)</b>	131,78	159,78	170,63	86,62	78,30
<b>Derişim (deri, mg/Kg)</b>	2635,56	3195,65	3412,63	1732,31	1566,05

Çizelge 4.4 Fungusid örneklerindeki TCMTB derişimlerine yönelik veriler

ÖRNEK	Deri Örneğindeki TCMTB miktarı (mg/kg, HPLC)	Bağlanma Derecesi (%, UV Spekt.)	TCMTB (g/Kg)	TCMTB (%)
T1	2635,56	71,51	276,40	27,64
T2	3195,65	78,54	305,16	30,51
T3	3412,63	77,99	328,19	32,82
T4	1732,31	76,32	170,24	17,02
T5	1566,05	57,16	205,48	20,55

## 4.2 Fungal Direnç Ölçümlerine Yönelik Veriler

ASTM D4576 ve tropik çember küf direnci testi verileri ayrı ayrı belirtildikten sonra her bir test türü için fungusid örneklerinin performansları değerlendirilmiştir.

### 4.2.2 ASTM D4576 test metodu sonuçları

ASTM D4576 yöntemi ile yapılan küf direnci testi sonuçları 3.,7.,14. ve 21. günler için ayrı ayrı verilmiştir.

21. gün sonunda tüm fungusidler ASTM D4576 yöntemine göre yeterli antifungal korumayı sağlayabilmektedir. Ortalama korunmuş çaplara göre değerlendirildiğinde ise fungusid performansları T1,T3,T2,T4,T5 olarak sıralanmaktadır. T3 ve T4 deri örneklerinin süet tarafında daha iyi performans gösterirken T1 ve T2 deri örneklerinde cilt yüzündeki antifungal performans daha yüksektir. T5 örneği ise hem süet hem de ciltte diğer örneklere nazaran en az korumayı sağlamaktadır.

Hepsi aynı aktif madde kullanılarak üretilen bu fungusidler cilt ve süet taraflarında farklı performanslar sergilemeleri TCMTB'nin çözünmesi, emülsiyon stabilitesi ve deriye penetrasyonu için kullanılan yardımcı maddelerde meydana gelebilecek farklılıkların uygulamada farklı sonuçlara yol açabileceğine işaret etmektedir.

Çizelge 4.5 ASTM D4576 yöntemi 3. gün ölçüm sonuçları

<i>Aspergillus niger</i>		3.GÜN			İnhibisyon zon çapı (cm)	ASTM
		1	2	3		
T1	CİLT 1	4,1	4,2	4,4	4,23	0
	CİLT2	4,4	4,2	4,3	4,30	0
	SÜET	3,9	4,1	4	4,00	0
T2	CİLT 1	4,8	4,5	4,9	4,73	0
	CİLT 2	4,3	4,4	4,4	4,37	0
	SÜET	4,1	4,1	4,1	4,10	0
T3	CİLT 1	4,3	4,1	4,4	4,27	0
	CİLT 2	4,5	4,2	4,5	4,40	0
	SÜET	4,7	4,4	4,7	4,60	0
T4	CİLT 1	4,2	4,2	4,2	4,20	0
	CİLT 2	3,7	4	3,8	3,83	0
	SÜET	4,2	4,2	4,1	4,17	0
T5	CİLT 1	3,7	3,5	3,5	3,57	0
	CİLT 2	4	3,8	4	3,93	0
	SÜET	3,7	3,5	3,7	3,63	0
KÖR	-	2,7	3	2,8	2,90	0

*A. niger*

3.GÜN

ÖN

ARKA

CİLT 1

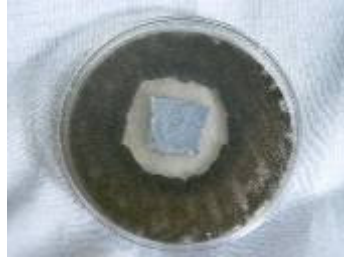


T1

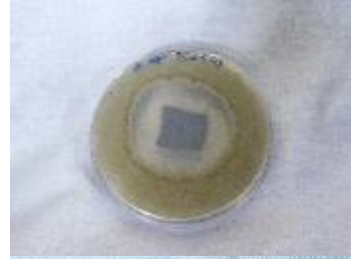
CİLT2



SÜET



CİLT 1



T2

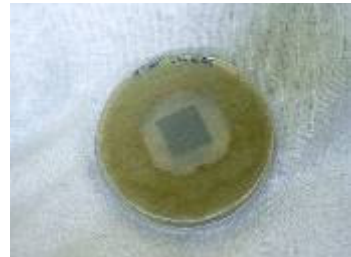
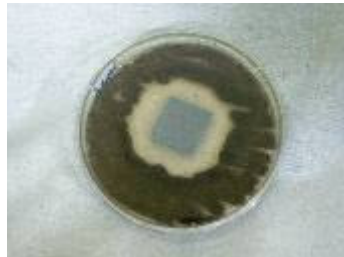
CİLT 2



SÜET

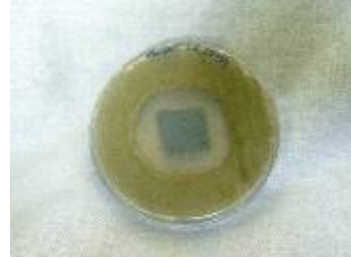
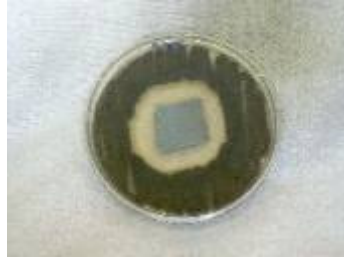


CİLT 1

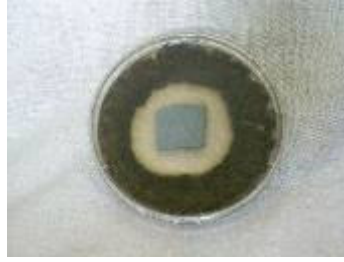


T3

CİLT 2



SÜET



CİLT 1



T4

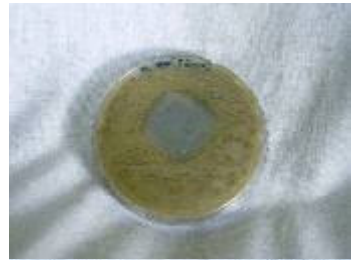
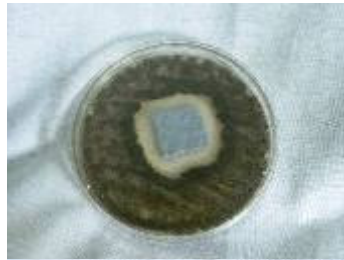
CİLT 2



SÜET

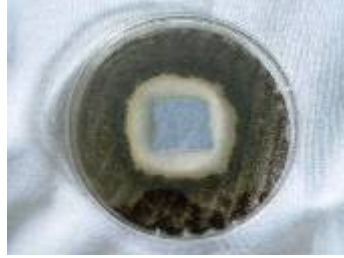


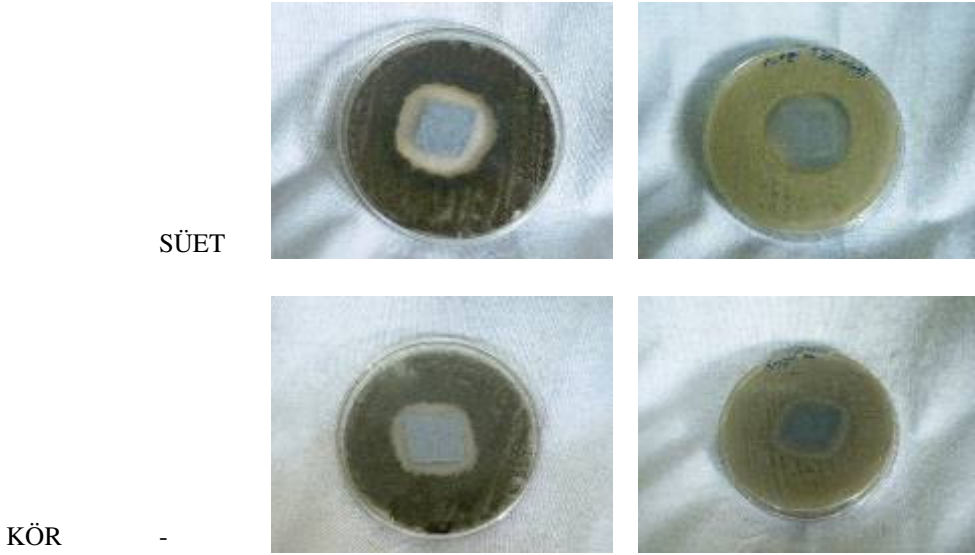
CİLT 1



T5

CİLT 2





Şekil 4.7 ASTM D4576 yöntemi 3. gün ölçüm fotoğrafları.

Çizelge 4.6 ASTM D4576 yöntemi 7. gün ölçüm sonuçları

<i>Aspergillus niger</i>		7.GÜN			Inhibisyon zon çapı (cm)	ASTM
		1.	2.	3.		
T1	CİLT 1	4,2	4,3	4,1	4,20	0
	CİLT 2	4,3	4,1	4,3	4,23	0
	SÜET	3,9	4	4	3,97	0
T2	CİLT 1	4,5	4,2	4,5	4,40	0
	CİLT 2	4,1	4,2	4	4,10	0
	SÜET	3,8	3,8	3,9	3,83	0
T3	CİLT 1	4,1	4	4,2	4,10	0
	CİLT 2	4,2	4	4,2	4,13	0
	SÜET	4,4	4,3	4,2	4,30	0
T4	CİLT 1	4	4	3,9	3,97	0
	CİLT 2	3,5	3,7	3,6	3,60	0
	SÜET	4	4,1	4,1	4,07	0
T5	CİLT 1	3,5	3,4	3,4	3,43	0
	CİLT 2	3,7	3,5	3,7	3,63	0
	SÜET	3,3	3,2	3,3	3,27	0
KÖR	-	2,2	2,5	2,1	2,27	0

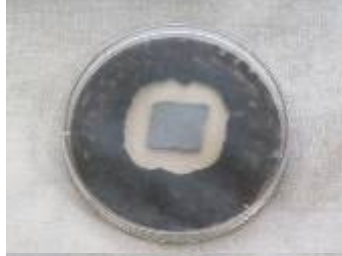
*A. niger*

7.GÜN

ÖN

ARKA

CİLT 1



CİLT2



T1

SÜET



CİLT 1

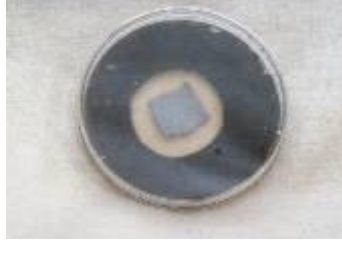


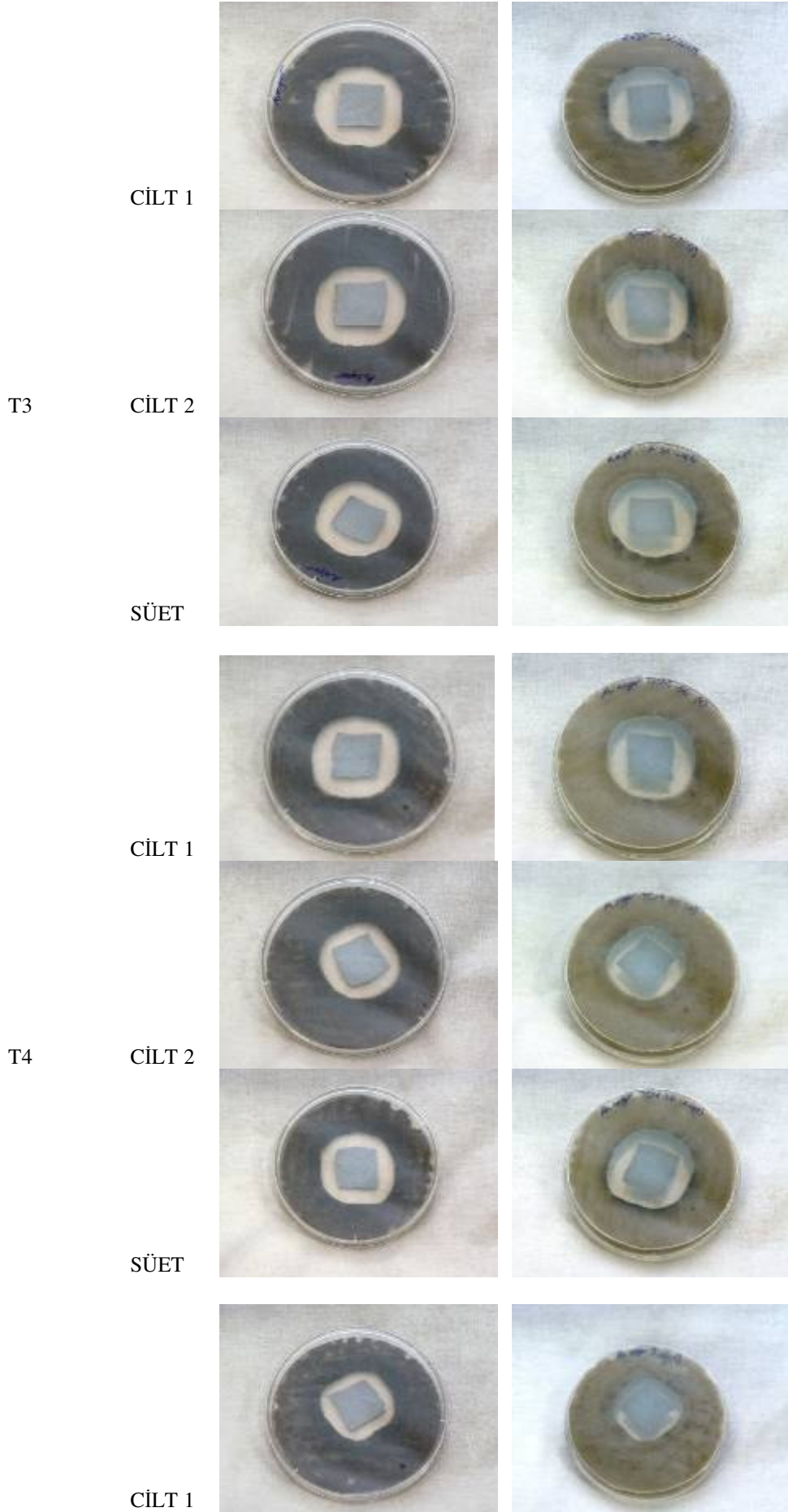
CİLT 2

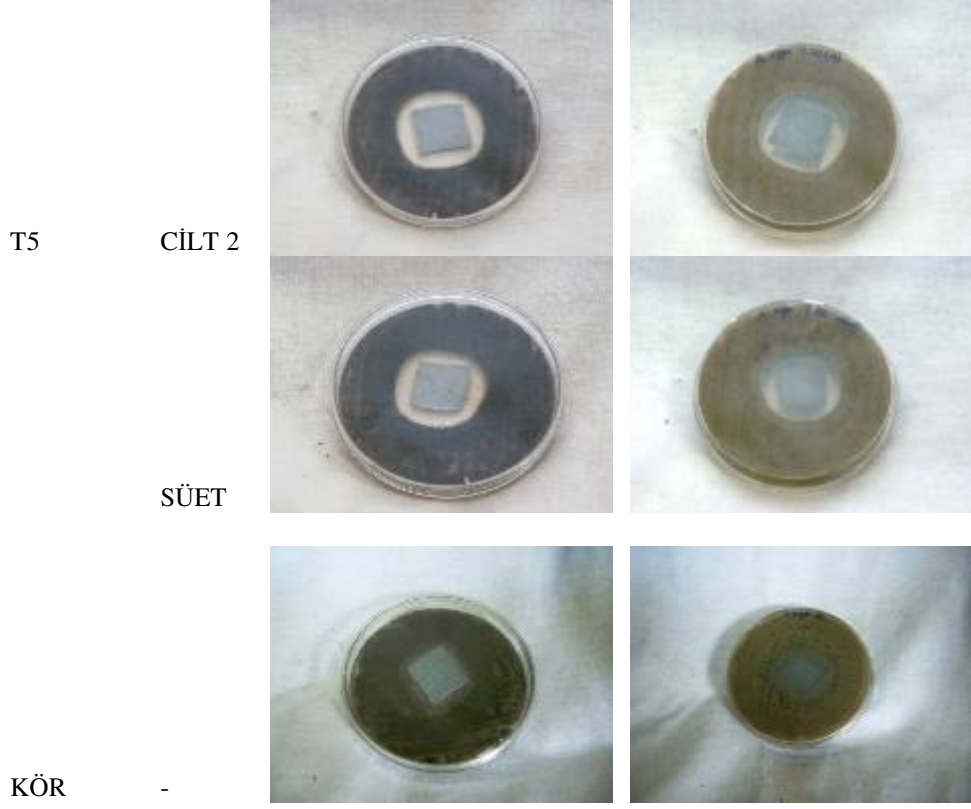


T2

SÜET







Şekil 4.8 ASTM D4576 yöntemi 7. gün ölçüm fotoğrafları.

Çizelge 4.7 ASTM D4576 yöntemi 14. gün ölçüm sonuçları

<i>Aspergillus niger</i>		14.GÜN			Inhibisyon zon çapı (cm)	ASTM
		1.	2.	3.		
T1	CİLT 1	4,2	4,6	4,9	4,57	0
	CİLT2	4,4	4,7	4,1	4,40	0
	SÜET	3,8	4,2	4,2	4,07	0
T2	CİLT 1	4,5	4,2	4,3	4,33	0
	CİLT 2	4,1	4	4,2	4,10	0
	SÜET	3,5	3,4	3,3	3,40	0
T3	CİLT 1	4,2	4,2	4	4,13	0
	CİLT 2	4	4,2	4	4,07	0
	SÜET	4,1	4,2	4	4,10	0
T4	CİLT 1	3,6	3,5	3,5	3,53	0
	CİLT 2	3,4	3,3	3,5	3,40	0
	SÜET	4,1	3,9	4,2	4,07	0
T5	CİLT 1	3,1	3,2	3,1	3,13	0
	CİLT 2	3,4	3,2	3,3	3,30	0
	SÜET	3	3,1	2,8	2,97	0
KÖR	-	2,1	2,4	2,4	2,30	0

*A. niger*

14.GÜN

ÖN

ARKA

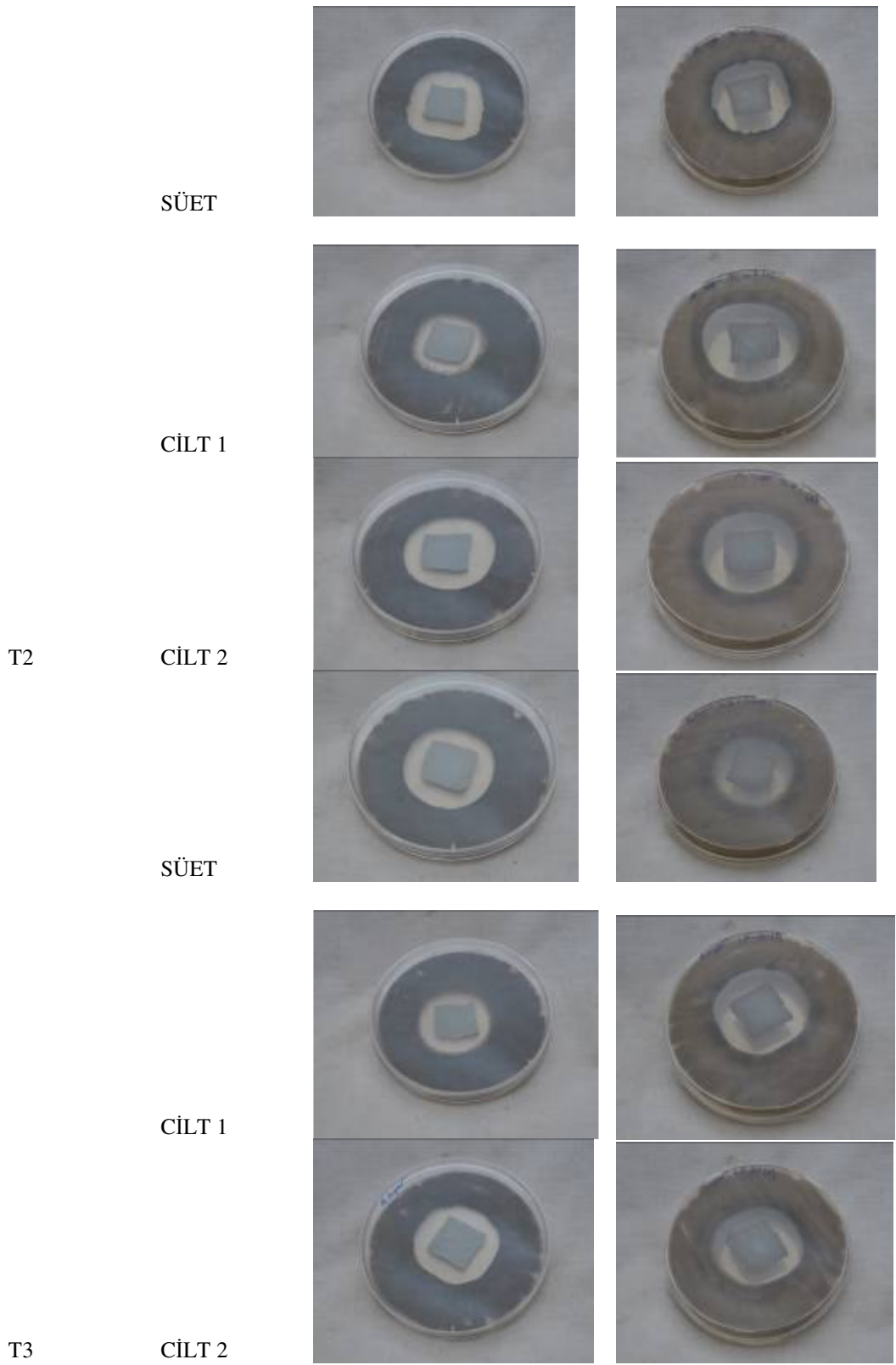
CİLT 1

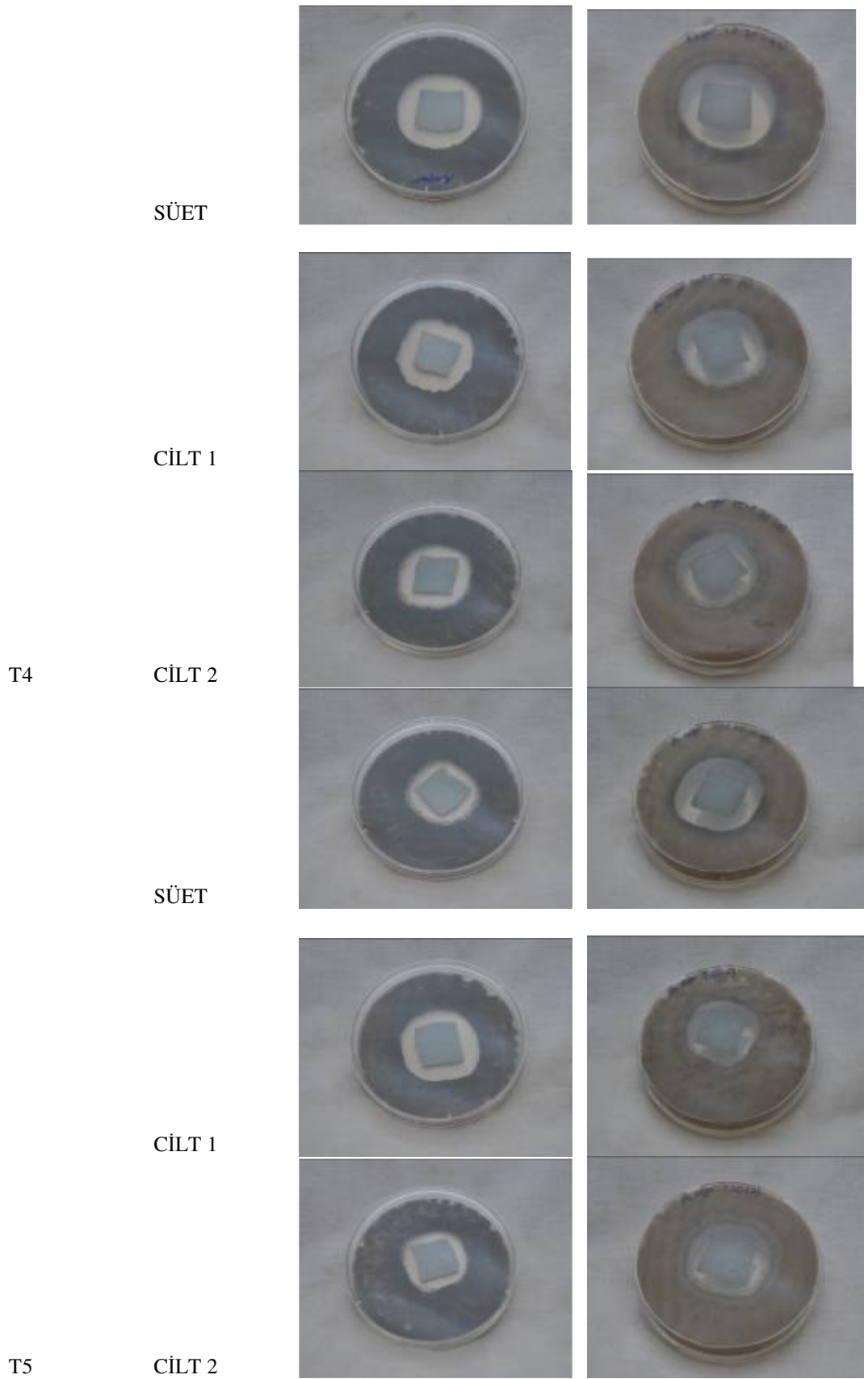


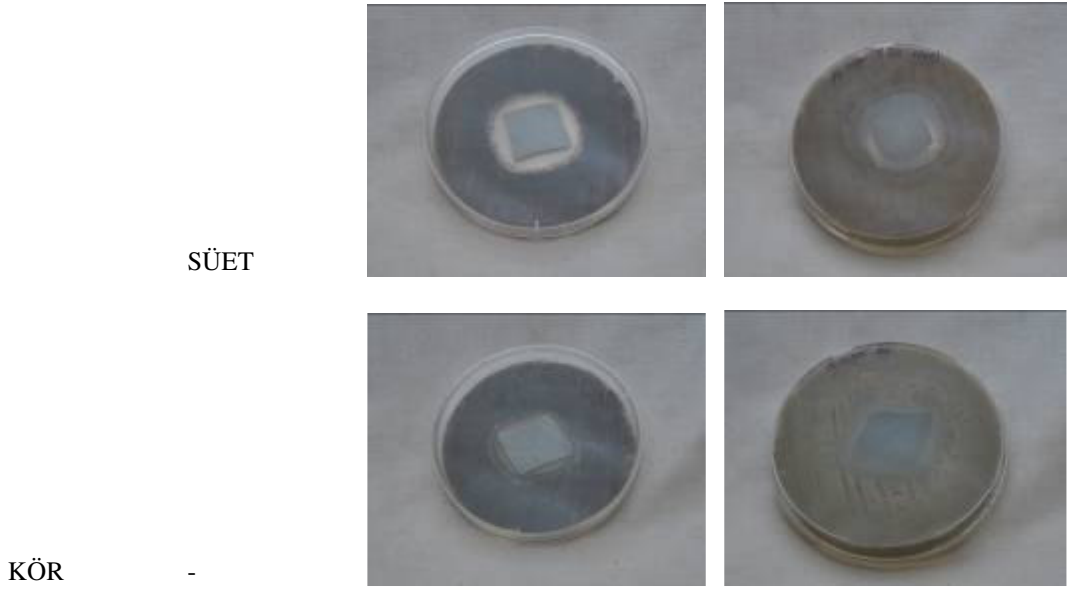
T1

CİLT2









Şekil 4.9 ASTM D4576 yöntemi 14. gün ölçüm fotoğrafları.

Çizelge 4.8 ASTM D4576 yöntemi 21. gün ölçüm sonuçları

<i>Aspergillus niger</i>		21.GÜN			Inhibisyon zon çapı (cm)	ASTM
		1.	2.	3.		
T1	CİLT 1	4,1	4,2	4,12	4,14	0
	CİLT 2	4,2	4,4	4,6	4,40	0
	SÜET	3,9	4,2	4	4,03	0
T2	CİLT 1	4,4	4,6	4,2	4,40	0
	CİLT 2	4,1	4	4,2	4,10	0
	SÜET	3,5	3,5	3,5	3,50	0
T3	CİLT 1	4	4,2	3,9	4,03	0
	CİLT 2	3,9	4	4,2	4,03	0
	SÜET	4,2	4	4,1	4,10	0
T4	CİLT 1	3,5	3,7	3,6	3,60	0
	CİLT 2	3,5	3,2	3,3	3,33	0
	SÜET	4	4,1	4,2	4,10	0
T5	CİLT 1	3,3	3,4	3,3	3,33	0
	CİLT 2	3,3	3,4	3,3	3,33	0
	SÜET	3	3,2	2,9	3,03	0
KÖR	-	2,3	2,2	2,1	2,20	0

*A. niger*

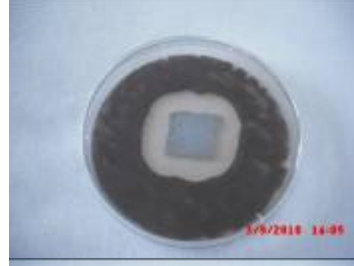
21.GÜN

ÖN

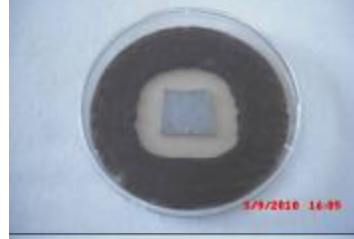
ARKA

T1

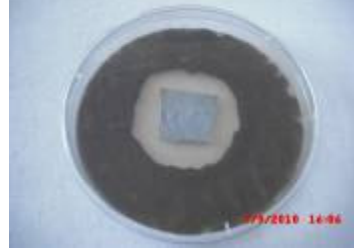
CİLT 1



CİLT 2

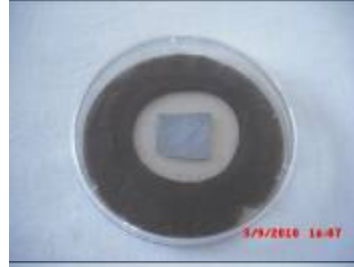


SÜET



T2

CİLT 1

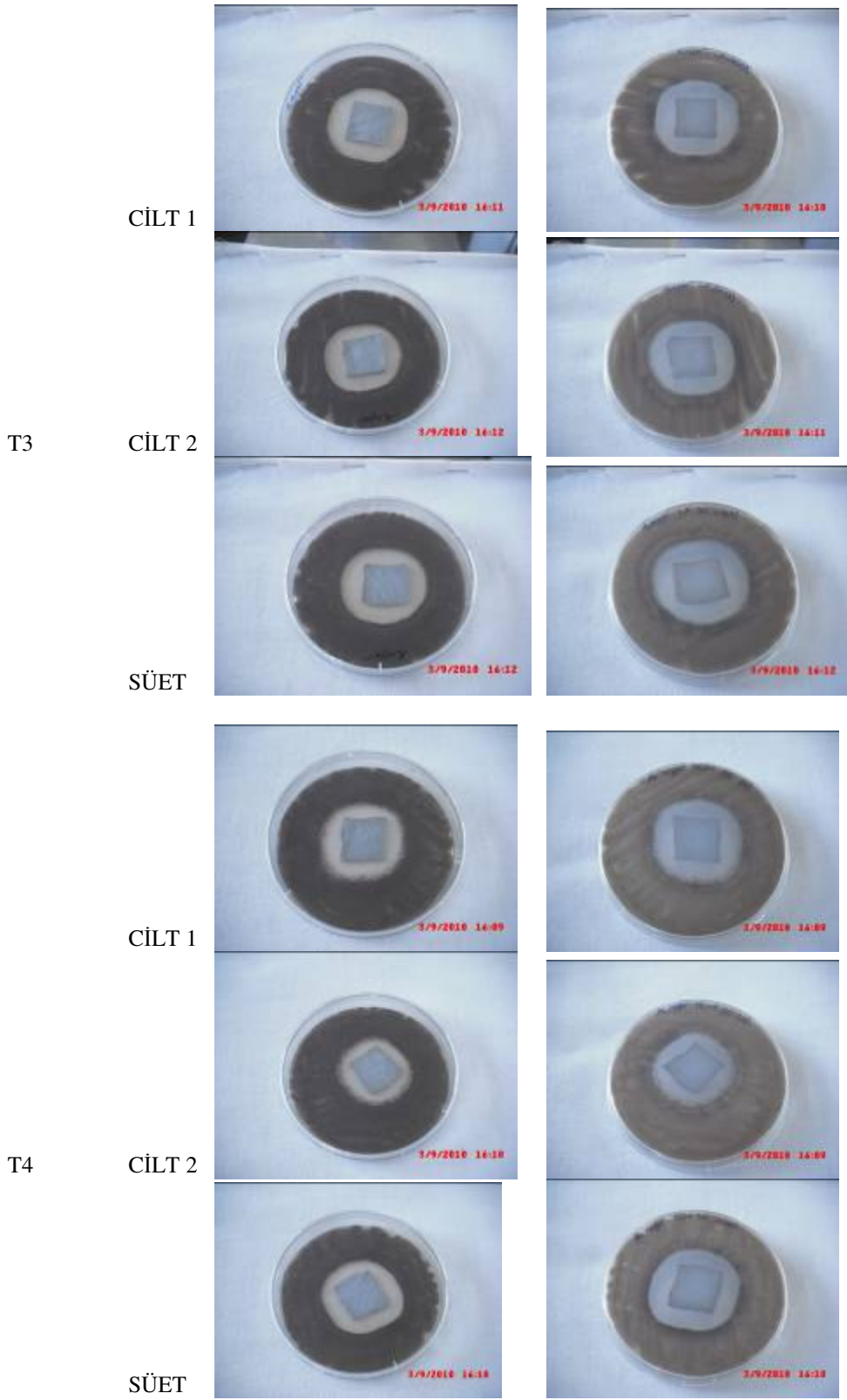


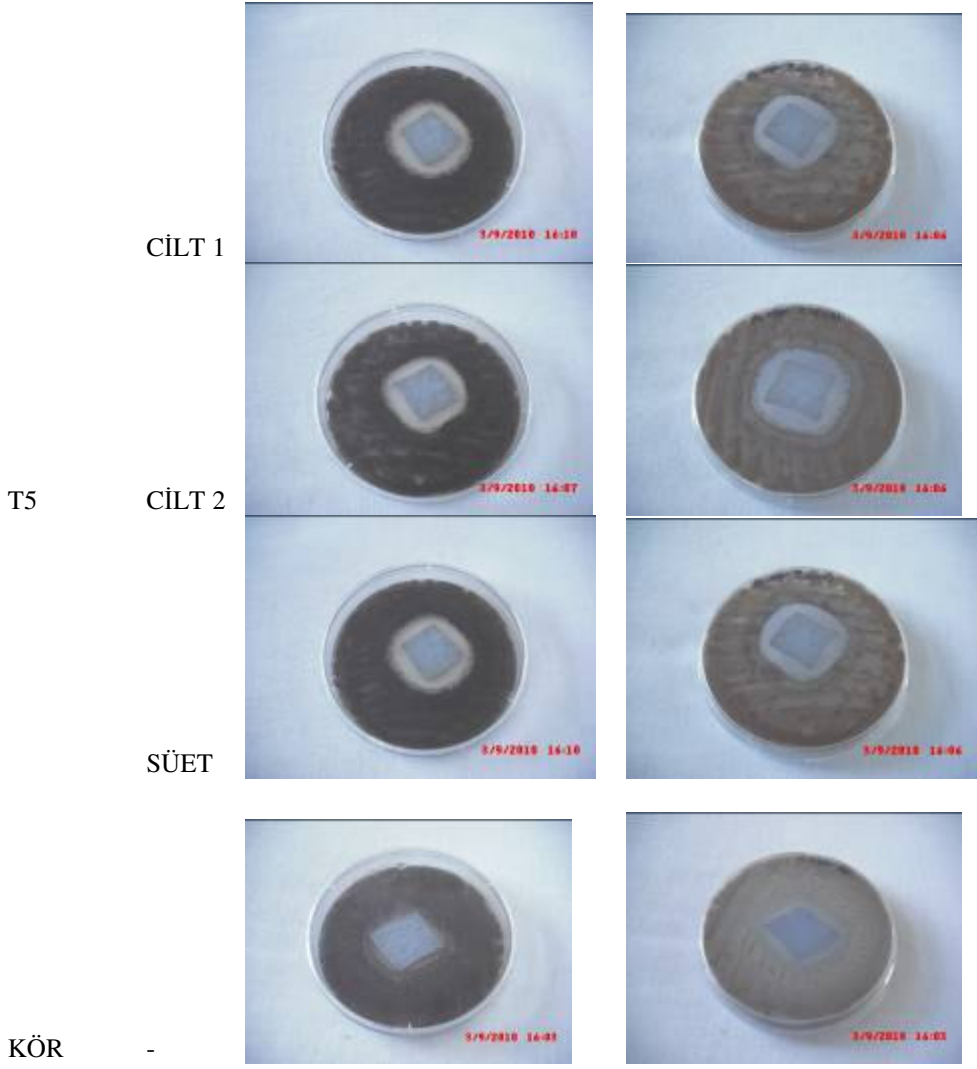
CİLT 2



SÜET







Şekil 4.10 ASTM D4576 yöntemi 21. gün ölçüm fotoğrafları.



### 4.2.3 Tropik çember ve ASTM D4576 yöntemlerinin karşılaştırılması

Tropik çember testi ve ASTM D4576 testi birbirleri ile uyumlu sonuçlar vermişlerdir. ASTM D4576 testi uygulanması daha kolay ve düşük maliyetli olması ile öne çıkmaktadır. Ancak bu yöntemde 21 günlük süreçte besi yerinin dehidrate olması riski mevcuttur ayrıca uygulamayı yapan kişinin besi yeri hazırlanması ve ekim gibi konulardaki tecrübesi de sonuçları etkileyebilmektedir. Tropik çember testi ise fungusların ideal yaşam koşullarını ve tabakhane ortamını daha iyi simüle etmesinden dolayı daha detaylı fikir yürütülebilecek sonuçlar vermesi ile öne çıkmaktadır. Ayrıca bu yöntem de uygulamayı yapan kişinin konu ile ilgili tecrübesi test sonuçları üzerinde daha az rol oynamaktadır.

ASTM D4576 yönteminde yüksek olan değer daha iyi iken Tropik Çember testinde düşük olan değer daha iyidir.

Çizelge 4.10 Tropik çember ve ASTM D 4576 test verileri karşılaştırmalı çizelgesi

ÖRNEK	Küfle Kaplanan Alan (%) (8. hafta sonunda % ortalama)	Ortalama İnhibisyon zon çapı (21. gün ortalama)
T1	30	4,19
T2	15	4,00
T3	20	4,05
T4	45	3,68
T5	50	3,23
Negatif Kontrol	100	2,20

### 4.3 Tartışma

TCMTB bazlı farklı ticari fungusidlerin incelendiği bu çalışmada bu ürünlerin deri tarafından alınma değerleri UV-VIS spektrofotometre ile, işlenti sonrası deride bulunan miktarları ise HPLC ile belirlenmiş, ayrıca iki farklı antifungal etkinlik testi ile etkinlikleri incelenmiştir ve elde edilen sonuçlar tablo 4.11’de özet olarak verilmiştir.

Bu sonuçlar incelendiğinde çeşitli ürünlerin deriye bağlanma miktarının ürüne bağlı olarak %57 ile %78 arasında değiştiği görülmektedir. Tarlea ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada kullandıkları bir ticari fungusidin % 87 oranında bağlandığını ancak bağ yapıcı kimyasal grupların eklenmesi ile bu oranın % 96’ya kadar çıkabileceğini ifade etmişlerdir.

Deride TCMTB konsantrasyonu arttıkça fungal direncin geliştiği ancak 2500 mg / kg değerinin üzerinde bu gelişimin dikkate değer olmadığı görülmektedir.

ASTM D4576 ve tropik çember test sonuçlarına göre tüm fungusidler standart test sürecinde derilere yeterli korumayı sağlayabilmişlerdir. Uzatılan süreçte ise TCMTB içeriği daha az olan deri numunelerinde küf gelişimi daha önce gözlemlenmeye başlanmıştır.

En yüksek TCMTB derişimi T3, en düşük TCMTB derişimi ise T4 fungusidinde belirlenmiştir. T4 fungusidi yüksek TCMTB bağlama oranı sayesinde daha fazla TCMTB içeren T5 fungusidinden daha başarılı fungal koruma sağlayabilmektedir.

Analizlerde kullanılan tüm fungusid örnekleri üreticileri tarafından % 30’luk TCMTB içeriğine sahip oldukları belirtilerek satışa sunulmaktadır. T4 ve T5 fungusidlerinin TCMTB derişimleri üreticinin belirttiği konsantrasyonun çok altındadır. Diğer ürünler %30’luk standarda yakın derişimler göstermektedirler.

Bulgular fungusidlerin performansları değerlendirilirken TCMTB içeriklerinin yanı sıra deriye TCMTB bağlama yeteneklerinin de önemli olduğuna işaret etmektedir.

Çizelge 4.11 Fungal direnç ve TCMTB içeriklerinin karşılaştırılması

<b>Örnek</b>	<b>TCMTB (%)</b>	<b>Bağlanma (%)</b>	<b>Bağlanan Miktar (mg/kg deri) (HPLC)</b>	<b>Ort. İnhibisyon Zon Çapı(cm) (ASTM D4576)</b>	<b>Ort.Küfle Kaplanan Alan (%) (Tropik Çember Testi)</b>
T1	27,64075	71,5129	2635,56	4,19	30
T2	30,516	78,54046	3195,654	4	15
T3	32,81948	77,98633	3412,628	4,05	20
T4	17,02412	76,31718	1732,3104	3,68	45
T5	20,54758	57,16169	1566,0462	3,23	50
Kör				2,2	100

## 5. SONUÇ

Deriler hayvanın sırtından yüzüldüğü andan itibaren mikroorganizma tehdidi altındadırlar. Bu tehdit deri işlenti aşamaları boyunca devam eder. Özellikle pikle ve wet-blue derilerin depolanması ve nakliyesi sırasında en yüksek seviyeye ulaşır. Bu gelişimin sebep olabileceği maddi zararlardan korunmak için uygun bir fungusid kullanılması gerekmektedir.

TCMTB deri sanayinde kullanılan fungusidler arasında geniş spektrumu ve işlenti koşullarına uyumlu oluşuyla öne çıkmış ve geniş kullanım alanı bulmuştur. Pek çok üretici tarafından farklı isimler altında üretilerek piyasaya sürülmüştür. Her biri aynı aktif içeriğe sahip ve en iyi korumayı sağlama iddiasıyla üretilen bu ürünlerin aslında aktif maddeleri dışında pek çok yönden birbirlerinden farklı olduğu görülmektedir. Bu farklılıkların kullanıcı tarafından daha iyi bilinip; işlentinin ürün karakterine uygun olarak düzenlenmesi hem gereksiz tüketimin önüne geçecek hem de optimum antifungal korumanın elde diledilmesini sağlayacaktır.

Bu çalışmada fungusid kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken ürün karakteristiklerinden biri olan deriye TCMTB bağlama yeteneği her bir ürün için belirlenmiş, elde edilen sonuçlar 2 farklı antifungal direnç testi ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda her bir fungusid için TCMTB konsantrasyonları, deriye TCMTB bağlama yüzdeleri, deri örneklerindeki TCMTB miktarları ve bu TCMTB miktarının derinin fungal direnci ile olan ilişkisi ortaya konmaktadır. Elde edilen sonuçlar her bir fungusid için kullanım miktarının ve ürün verimliliğinin endüstriyel koşullarda optimum şekilde istifade edilebilmesini sağlayacak niteliktedir.

TCMTB hakkında yapılan incelemeler sonucunda belirlenen zararları yakın gelecekte daha sıkı tedbirlerle kullanımının kısıtlanacağını göstermektedir. TCMTB bazlı fungusidler deri endüstrisinde kullanımına devam edilebilmesi için kullanım miktarlarının optimize edilmesi ve TCMTB bağlama yeteneği yüksek fungusidler konusunda yapılan çalışmaların geliştirilmesi gerekmektedir. Bu tez çalışmasında UV spektrofotometresi ve HPLC ölçümlerinin beraber kullanılarak fungusidler içerik ve bağlama kapasiteleri sinerjik olarak değerlendirilebilmiştir. Gelecekte bağlanma oranı yüksek deri fungusidler geliştirilmesine yönelik yapılacak çalışmalarda bu değerlendirme yöntemleri kullanılarak geliştirilen ürünlerin performansları kolaylıkla analiz edilebilecektir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

**ASTMD 4576 – 86** (Reapproved 1996): Standard Test Method for Mold Growth Resistance of Blue Stock (Leather).

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

**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,39p.

**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, 81,201-203p.

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

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

**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, 112s.

**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:1,1-34p.

**BLC**, Fungucides, Leather International Magazine, 7, 2-3, (2008).

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

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

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

**Dalton, Dennis L., Oppermann, Robert A.**, 1996, Chambers Hayley, Synergistic combination of 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole and thiophanate compounds useful as fungicides. US Patent Application.

**Dalton D.L.**, 2008, New generation fungicide for the leather industry, [http://www.leathermag.com/news/fullstory.php/aid/13476/New\\_generation\\_fungicide\\_for\\_the\\_leather\\_industry.html](http://www.leathermag.com/news/fullstory.php/aid/13476/New_generation_fungicide_for_the_leather_industry.html), (21 Nisan 2010)

**De Wever H., Besse P., Verachtert H.**, Microbial Transformations of 2-substitued Benzothiazoles, Appl Microbiol Biotechnol, 57, 620-625 (2001).

**Domingo H., Carrascosa J.M., Boada A., Leal L., Ferrandiz C.**; 2005, Allergic contact dermatitis to 2(thiocyano-methylthio) benzothiazole present in a packaging wood, Contact Dermatitis, 53, p 201-206p.

**Fowler W.M., Russell A.E., Kruger I.H., and Pinchuck S.C.** 1987, The extraction and high performance liquid chromatography (HPLC) determination of TCMTB samples of treated wet blue. J. Soc. Leather Technol. Chem., 71, pp. 100-107,

**Hanssen M. W., Henderson N. D., Ward J. E. H.**; 1991, A Review Of the Environmental impact and toxic effects of TCMTB, British Columbia Environmental Protection Agency,

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

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

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

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

## 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):129-136s

**Kennedy, L.,** 2003, more information about fungicides, [www.tantec.co.nz/info.htm](http://www.tantec.co.nz/info.htm) (Erişim Tarihi: 18 Ekim 2010)

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

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

**KLEBAN M.,** 2008, Preserving agents in the leather production process, World Leather, May, 20-24,

**Lakshmi Muthusubramanian, V. S. Sundara Raoa, Rajat B. Mitrab,** 1999, Efficient synthesis of 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole, Central Leather Research Institute, Adyar, Madras, India,

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

**Meneses Elane S., Maria Lara P.M. Arguelho, Jose P.H. Alves.;** 2005, Elektro Reduction Of The Antifouling Agent TCMTB And Its Electroanalytical Determination in tannery wasterwaters. Talanta, 67, p 682-685p.

**Mutlu M.M., Bitlisli B.O., Başaran B., Yaşa İ., Adıgüzel Zengin A.C.,** 2010, Yeni Bir Benzotiyazol Biyosit Sınıfının Sentezi ve Büyükbaş Wet-Blue Derilerin Korunmasında Uygulanması Üzerine Arastırmalar, Proje No. 107M418

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

**Reyes Laura Hinojosa, Wróbel Katarzyna, Wróbel Kazimierz,** 2001, Indirect extraction-spectrophotometric determination of 2- (thiocyanomethylthiol) benzothiazole in chrome tanning liquors after its breakdown to 2-

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

mercaptobenzothiazole, Instituto de Investigaciones Cientificas, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Mexico.

**Öztürk M.;** Deri Sanayinde Kromun Geri Kazanılması ve Üretimde Kekar Kullanılması, Çevre ve orman bakanlığı

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

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

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

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

**Tarlea, M.,M., Mutlu, M.,M., Radulescu, C., Adıgüzel, C., et.al,** "2-Amino-6-Benzothiazole Substituted With Methoxy In The Form Of Sulphonic Acids, Used As Antifungal Product For The Preservation Of Wet-Blue Bovine Hides", International of Leather Technologists And Chemists Societies IULTCS XXX. Congress

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

**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: 73,498-507p.

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

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

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Yapıcı Ali Nail**, 2008, The effect of using a fungicide along with bactericide in the main soaking float on microbial load, African journal Of Biotechnology, 7(21), ps 3922-3926p

## ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Antalya'da doğdu. 1992 yılında Antalya Barbaros İlkokulu'ndan mezun oldu. 1999 yılında Antalya Anadolu lisesini bitirdi ve aynı yıl Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Deri Mühendisliği Bölümde lisans eğitimine başladı. 2007 yılında lisans eğitimini tamamlayarak aynı bölümde yüksek lisans eğitimine başladı.

**EKLER**

- Ek 1 T1 için HPLC analiz verileri
- Ek 2 T2 için HPLC analiz verileri
- Ek 3 T3 için HPLC analiz verileri
- Ek 4 T4 için HPLC analiz verileri
- Ek 5 T5 için HPLC analiz verileri

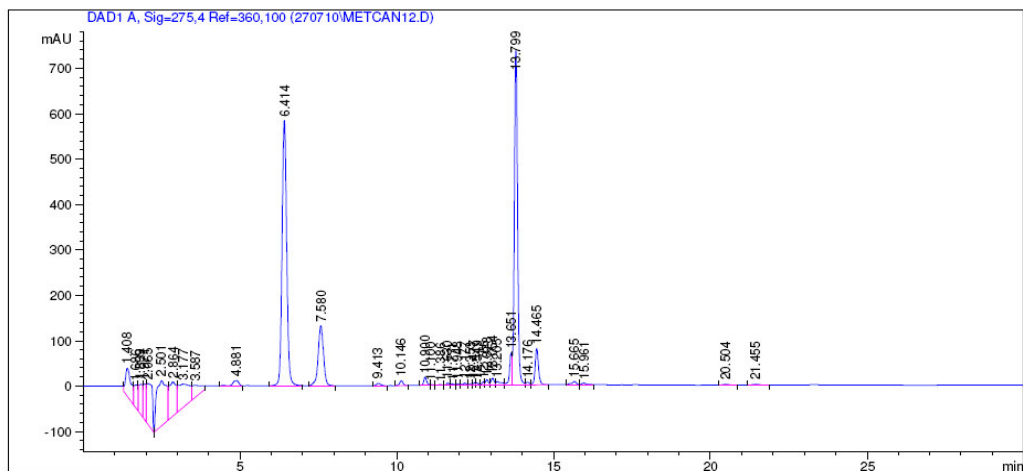
## EK 1 T1 HPLC analiz verileri

```

=====
Acq. Operator   : deniz                      Seq. Line :    1
Acq. Instrument : Instrument 1                Location  : Vial 1
Injection Date  : 11/22/2010 11:49:33 AM     Inj       :    2
                                           Inj Volume: 20 µl

Sequence File   : C:\CHEM32\1\SEQUENCE\METCAN.S
Method          : C:\CHEM32\1\METHODS\METET.M
Last changed    : 11/22/2010 11:12:53 AM by deniz
Method Info     : TCMTB Reutlingen
=====

```



### Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 11/12/2010 1:24:44 PM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====

```

Signal 1: DAD1 A, Sig=275,4 Ref=360,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
1	1.408	BV	0.1914	813.62891	3.4563	?
2	1.686	VV	0.1180	410.23819	1.7427	?
3	1.839	VV	0.1174	569.11823	2.4176	?
4	1.971	VV	0.0928	510.52234	2.1687	?

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
5	2.065	VV	0.1725	1201.79443	5.1053	?
6	2.501	VV	0.2804	2222.49658	9.4413	?
7	2.864	VV	0.2139	1212.97168	5.1528	?
8	3.177	VV	0.3139	1318.88440	5.6027	?
9	3.587	VB	0.2586	492.02399	2.0901	?
10	4.881	EV	0.2213	158.58391	0.6737	?
11	6.414	BB	0.1611	6071.26025	25.7910	?
12	7.580	BB	0.1786	1550.90894	6.5883	?
13	9.413	BB	0.1461	53.36805	0.2267	?
14	10.146	BB	0.1194	88.41487	0.3756	?
15	10.900	EV	0.1028	129.33530	0.5494	?
16	11.100	VB	0.0946	12.95476	0.0550	?
17	11.386	EV	0.1574	18.94568	0.0805	?
18	11.630	VV	0.0971	34.63758	0.1471	?
19	11.771	VV	0.0959	23.21463	0.0986	?
20	11.948	VV	0.1038	25.78867	0.1096	?
21	12.177	VV	0.1258	44.61036	0.1895	?
22	12.353	VV	0.0889	19.37084	0.0823	?
23	12.477	VV	0.0813	31.45220	0.1336	?
24	12.549	VB	0.0940	35.17035	0.1494	?
25	12.766	EV	0.0821	39.28135	0.1669	?
26	12.878	VV	0.0934	77.87260	0.3308	?
27	13.054	VV	0.1046	106.99910	0.4545	?
28	13.205	VV	0.1686	100.16412	0.4255	?
29	13.651	VV	0.0813	382.58072	1.6252	?
30	13.799	VV	0.1028	4981.39648	21.1612	?
31	14.176	VV	0.1186	48.25900	0.2050	?
32	14.465	VB	0.1126	596.60492	2.5344	?
33	15.665	EV	0.1532	73.85666	0.3137	?
34	15.961	VB	0.1594	38.99038	0.1656	?
35	20.504	BB	0.2042	19.50337	0.0829	?
36	21.455	BB	0.2436	24.98981	0.1062	?

Totals : 2.35402e4

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

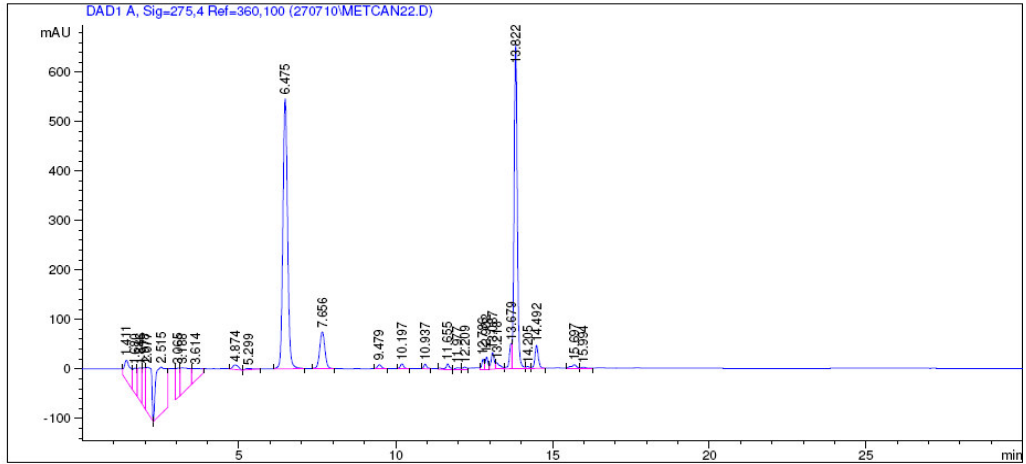
=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*  
 =====

## EK 2 T2 HPLC analiz verileri

```

=====
Acq. Operator   : deniz                      Seq. Line :    2
Acq. Instrument : Instrument 1                Location  : Vial 2
Injection Date  : 11/22/2010 1:02:33 PM      Inj       :    2
                                           Inj Volume: 20 µl

Sequence File   : C:\CHEM32\1\SEQUENCE\METCAN.S
Method          : C:\CHEM32\1\METHODS\METET.M
Last changed    : 11/22/2010 11:12:53 AM by deniz
Method Info     : TCMTB Reutlingen
=====
  
```



### Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 11/12/2010 1:24:44 PM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=275,4 Ref=360,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
1	1.411	EV	0.2141	614.50421	2.9941	?
2	1.680	VV	0.1261	439.37616	2.1408	?
3	1.846	VV	0.1158	561.56494	2.7361	?
4	1.978	VV	0.1013	575.18085	2.8025	?

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
5	2.077	VV	0.1849	1219.53223	5.9420	?
6	2.515	VV	0.2997	2269.03809	11.0555	?
7	3.065	EV	0.1116	481.77170	2.3473	?
8	3.188	VB	0.2428	1005.01221	4.8967	?
9	3.614	BB	0.2475	462.29007	2.2524	?
10	4.874	EV	0.2148	120.03147	0.5848	?
11	5.299	VB	0.2698	50.39273	0.2455	?
12	6.475	BB	0.1615	5686.55176	27.7067	?
13	7.656	BB	0.1737	836.67615	4.0766	?
14	9.479	BB	0.1428	74.32890	0.3622	?
15	10.197	BB	0.1141	74.59135	0.3634	?
16	10.937	BB	0.1053	69.17207	0.3370	?
17	11.655	EV	0.1319	112.87499	0.5500	?
18	11.977	VV	0.1487	45.83219	0.2233	?
19	12.209	VV	0.1317	47.32270	0.2306	?
20	12.786	EV	0.0823	111.94241	0.5454	?
21	12.902	VV	0.0869	147.64819	0.7194	?
22	13.087	VV	0.0995	222.47977	1.0840	?
23	13.218	VV	0.1295	124.41635	0.6062	?
24	13.679	VV	0.0745	255.65346	1.2456	?
25	13.822	VV	0.1032	4453.11279	21.6970	?
26	14.205	VV	0.1179	31.29646	0.1525	?
27	14.492	VB	0.1128	344.93277	1.6806	?
28	15.697	EV	0.1620	76.34827	0.3720	?
29	15.994	VB	0.1154	10.22699	0.0498	?

Totals : 2.05241e4

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*  
 =====

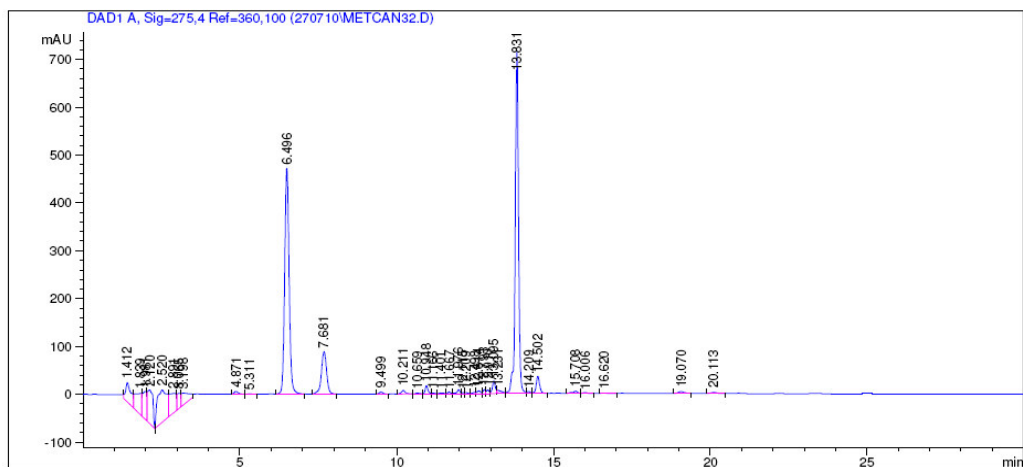
### EK 3 T3 HPLC analiz verileri

```

=====
Acq. Operator   : deniz                      Seq. Line :    3
Acq. Instrument : Instrument 1                Location  : Vial 3
Injection Date  : 11/22/2010 2:15:32 PM      Inj       :    2
                                           Inj Volume: 20 µl

Sequence File   : C:\CHEM32\1\SEQUENCE\METCAN.S
Method          : C:\CHEM32\1\METHODS\METET.M
Last changed    : 11/22/2010 11:12:53 AM by deniz
Method Info     : TCMTB Reutlingen
=====

```



#### Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 11/12/2010 1:24:44 PM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====

```

Signal 1: DAD1 A, Sig=275,4 Ref=360,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
1	1.412	EV	0.1754	508.50000	2.9352	?
2	1.839	VV	0.1786	630.12628	3.6373	?
3	1.981	VV	0.1183	492.27856	2.8416	?
4	2.120	VV	0.1708	875.09003	5.0513	?

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
5	2.520	VV	0.2684	1447.25342	8.3540	?
6	2.891	VV	0.2125	655.26532	3.7824	?
7	3.065	VV	0.1124	251.41920	1.4513	?
8	3.198	VB	0.2059	397.24869	2.2930	?
9	4.871	BB	0.1382	54.34815	0.3137	?
10	5.311	BB	0.1461	9.72512	0.0561	?
11	6.496	VB	0.1539	4693.47900	27.0921	?
12	7.681	BB	0.1731	1013.88049	5.8524	?
13	9.499	BB	0.1383	38.95826	0.2249	?
14	10.211	BB	0.1295	66.34155	0.3829	?
15	10.659	EV	0.1160	17.34631	0.1001	?
16	10.948	VV	0.0952	109.22245	0.6305	?
17	11.166	VV	0.1018	12.19104	0.0704	?
18	11.401	VV	0.1374	21.17716	0.1222	?
19	11.667	VV	0.0923	24.94780	0.1440	?
20	11.976	VV	0.1010	60.78402	0.3509	?
21	12.115	VV	0.0705	11.04606	0.0638	?
22	12.209	VV	0.1038	17.26304	0.0996	?
23	12.498	VV	0.1051	22.69394	0.1310	?
24	12.614	VV	0.1094	43.59608	0.2516	?
25	12.793	VV	0.0830	46.24764	0.2670	?
26	12.910	VV	0.0866	45.99563	0.2655	?
27	13.095	VV	0.1012	173.68411	1.0026	?
28	13.231	VV	0.1346	70.63078	0.4077	?
29	13.831	VV	0.1083	5043.71777	29.1138	?
30	14.209	VV	0.1109	30.37284	0.1753	?
31	14.502	VB	0.1134	269.04782	1.5530	?
32	15.708	EV	0.1611	49.83226	0.2876	?
33	16.006	VB	0.1449	17.68821	0.1021	?
34	16.620	BB	0.1771	12.32295	0.0711	?
35	19.070	BB	0.2193	58.54526	0.3379	?
36	20.113	BB	0.2101	31.88852	0.1841	?

Totals : 1.73242e4

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*  
 =====

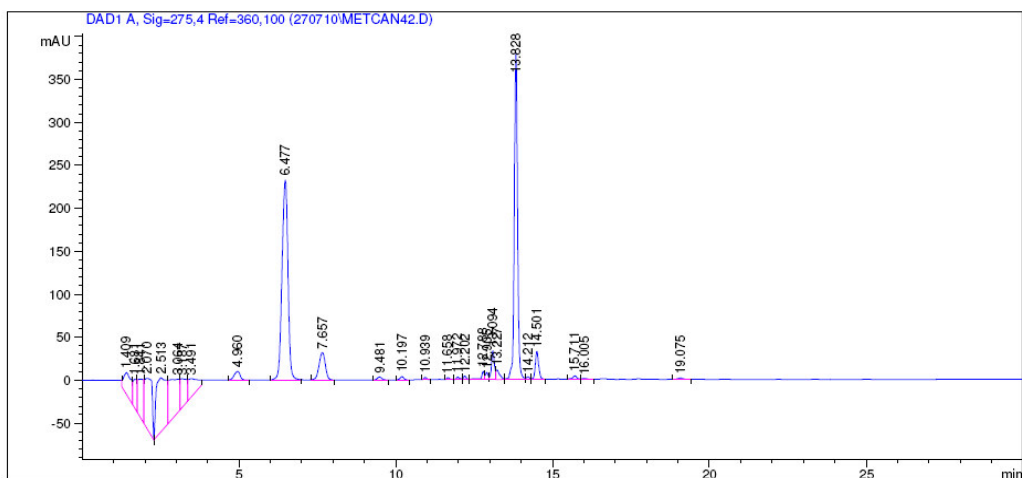
## EK 4 T4 HPLC analiz verileri

```

=====
Acq. Operator   : deniz                      Seq. Line :    4
Acq. Instrument : Instrument 1                Location  : Vial 4
Injection Date  : 11/22/2010 3:28:33 PM      Inj       :    2
                                           Inj Volume: 20 µl

Sequence File   : C:\CHEM32\1\SEQUENCE\METCAN.S
Method          : C:\CHEM32\1\METHODS\METET.M
Last changed    : 11/22/2010 11:12:53 AM by deniz
Method Info     : TCMTB Reutlingen
=====

```



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 11/12/2010 1:24:44 PM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: DAD1 A, Sig=275,4 Ref=360,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
1	1.409	BV	0.2406	444.30923	3.4634	?
2	1.681	VV	0.1197	281.63037	2.1953	?
3	1.841	VV	0.1714	573.68347	4.4718	?
4	2.070	VV	0.2316	1004.73755	7.8319	?

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
5	2.513	VV	0.2901	1413.17566	11.0156	?
6	3.064	VV	0.3272	1009.54712	7.8694	?
7	3.187	VV	0.1849	465.92920	3.6319	?
8	3.491	VB	0.2730	431.68713	3.3650	?
9	4.960	BB	0.2104	132.02917	1.0292	?
10	6.477	BB	0.2130	3091.97241	24.1017	
11	7.657	BB	0.2157	435.03568	3.3911	?
12	9.481	BB	0.1612	36.44359	0.2841	?
13	10.197	BB	0.1316	32.95691	0.2569	?
14	10.939	BB	0.0984	17.60525	0.1372	?
15	11.658	EV	0.0962	15.86453	0.1237	?
16	11.972	VV	0.1028	22.60727	0.1762	?
17	12.202	VV	0.0931	25.76693	0.2009	?
18	12.788	VV	0.1038	67.64709	0.5273	?
19	12.905	VV	0.0860	48.84846	0.3808	?
20	13.094	VV	0.0977	216.11353	1.6846	?
21	13.227	VV	0.1132	90.83380	0.7080	?
22	13.828	VV	0.1074	2648.14526	20.6421	?
23	14.212	VV	0.1082	22.08102	0.1721	?
24	14.501	VB	0.1115	238.43510	1.8586	?
25	15.711	EV	0.1385	35.46783	0.2765	?
26	16.005	VB	0.1282	8.43399	0.0657	?
27	19.075	BB	0.1851	17.85895	0.1392	?

Totals : 1.28288e4

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*

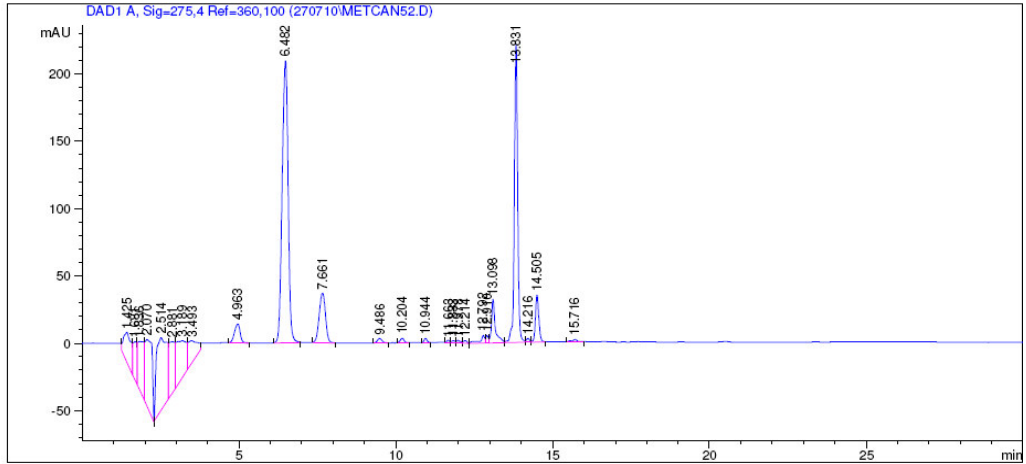
## EK 5 T5 HPLC analiz verileri

```

=====
Acq. Operator   : deniz                      Seq. Line :    5
Acq. Instrument : Instrument 1                Location  : Vial 5
Injection Date  : 11/22/2010 4:41:35 PM      Inj       :    2
                                           Inj Volume: 20 µl

Sequence File   : C:\CHEM32\1\SEQUENCE\METCAN.S
Method          : C:\CHEM32\1\METHODS\METET.M
Last changed    : 11/22/2010 11:12:53 AM by deniz
Method Info     : TCMTB Reutlingen
=====

```



### Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 11/12/2010 1:24:44 PM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====

```

Signal 1: DAD1 A, Sig=275,4 Ref=360,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
1	1.425	EV	0.2281	398.25171	3.7664	?
2	1.681	VV	0.1107	224.83351	2.1263	?
3	1.836	VV	0.1816	510.51108	4.8280	?
4	2.070	VV	0.2169	843.56012	7.9777	?

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %	Name
5	2.514	VV	0.2914	1240.46436	11.7313	?
6	2.881	VV	0.1913	509.27618	4.8163	?
7	3.189	VV	0.2991	652.70374	6.1728	?
8	3.493	VB	0.2627	327.18201	3.0942	?
9	4.963	BB	0.2016	176.45552	1.6688	?
10	6.482	BB	0.2157	2797.17773	26.4535	
11	7.661	BB	0.2181	507.31372	4.7978	?
12	9.486	BB	0.1630	35.28155	0.3337	?
13	10.204	BB	0.1310	29.08967	0.2751	?
14	10.944	BB	0.0992	20.34597	0.1924	?
15	11.663	EV	0.0939	11.32169	0.1071	?
16	11.833	VV	0.1074	12.72052	0.1203	?
17	11.978	VV	0.1174	16.98130	0.1606	?
18	12.214	VV	0.1230	15.75151	0.1490	?
19	12.792	VV	0.1412	61.42250	0.5809	?
20	12.910	VV	0.0918	34.56488	0.3269	?
21	13.098	VV	0.1212	269.79315	2.5515	?
22	13.831	VV	0.1069	1577.74512	14.9211	?
23	14.216	VV	0.1153	22.78917	0.2155	?
24	14.505	VB	0.1139	257.06308	2.4311	?
25	15.716	BB	0.1708	21.32760	0.2017	?

Totals : 1.05739e4

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*