MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ISLATMA SIVILARINDAKİ BAKTERİLERİN DİREK VE ALTERNATİF ELEKTRİK AKIMLARI VE SODYUM DİMETİL-DİTİYOKARBAMET İLE İNAKTİVASYONU

ESİN KILINÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı
Biyoloji Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BİRBİR
İKİNCİ- DANIŞMAN
Prof. Dr. Yaşar BİRBİR

İSTANBUL, 2017

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ISLATMA SIVILARINDAKİ BAKTERİLERİN DİREK VE ALTERNATİF ELEKTRİK AKIMLARI VE SODYUM DİMETİL-DİTİYOKARBAMET İLE İNAKTİVASYONU

ESİN KILINÇ

(520111026)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Meral BİRBİR

İKİNCİ- DANIŞMAN

Prof. Dr. Yaşar BİRBİR

İSTANBUL, 2017

TEŞEKKÜR

Eğitimimde ve meslek becerilerimi kazanmamda büyükemeği olan, disiplinli ve sabırlı olmamı sağlayan, bir bilim adamı olma yolundaki ilk adımlarımı güvenle atmama destek olan, bizi kendi çocukları kadar seven ve önemseyen, hayat tecrübelerini bizimle her zaman paylaşıp bize zamanının çoğunu ayıran; Prof. Dr. Meral Birbir ve Prof. Dr.Yaşar Birbir'e,

Uzun saatler laboratuvarda birlikte çalıştığımız, bana tüm yeteneklerini öğreten, laboratuar becerisi kazanmamı sağlayan Dr. Pınar Çağlayan'a,

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, tez yazma sürecinde bana daima destek olan, bildikleri öğreten ekip arkadaşım Kübra Ulusoy'a,

Her zaman yanımda olan, hep daha iyisini yapacağıma inanan ve bana ilham veren aileme çok teşekkür ederim.

MAYIS, 2017 **ESİN KILINÇ**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR……. **i**

İÇİNDEKİLER……. **ii**

ÖZET……. **vi**

ABSTRACT……... **vii**

SEMBOLLER……... **viii**

KISALTMALAR……... **ix**

ŞEKİL LİSTESİ…… **x**

TABLO LİSTESİ…….. **xi**

1.GİRİŞ…….. **1**

1.1. Giriş ve Amaç **1**

1.2. Dünyada ve Türkiye'de Deri EndüstrisiHakkında Genel Bilgiler……..... **2**

1.3. Ham Derinin Yapısı……... **3**

1.3.1. Ham Derinin Histolojik Kesiti…… **3**

1.3.2. Ham Derinin Kimyasal Yapısı……. **5**

1.4. Ham Derinin Korunması…… **6**

1.5. Deri İşlenti Basamakları……. **7**

1.5.1. Islatma……. **7**

1.5.2. Kıl Giderme - Kireçlik…… **8**

1.5.3. Kireç Giderme – Sama…… **9**

1.5.4. Yağ Giderme……..... **9**

1.5.5. Pikle……. **9**

1.5.6. Tabaklama……... **9**

1.5.7. Nötralizasyon…….. **10**

1.5.8. Boyama……... **10**

1.5.9. Retenaj……. **10**

1.5.10. Yağlama……. **10**

1.5.11. Finisaj…… **10**

1.6. Antimikrobiyal Maddeler……... **10**

1.7. Islatma İşleminde Yapılan Hatalar……. **11**

1.8. Deride Mikroorganizma Faaliyetleri Sonucu Oluşan Zararlar……... **13**

1.9. Doğru ve Alternatif Elektrik Akımı…… **17**

1.10. Deri Sanayinde Kullanılan Kimyasallar……... **21**

1.11. Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet Hakkında Genel Bilgi…….. **23**

1.12. Test Bakterileri Olarak Seçilen Bakterilerin Genel Özellikleri…… **24**

1.12.1.*Bacillus lentus*…….... **24**

1.12.2. *Enterobacter cloacae*……..... **24**

1.12.3. *Aerococcus viridans*…….. **25**

1.12.4. *Enterococcus avium*……. **25**

1.12.5. *Pseudomonas putida*……. **26**

1.12.6. *Staphylococcus intermedius*…….. **27**

BÖLÜM 2. MATERYAL VE YÖNTEM……... **28**

2.1. Araştırma Olanakları .....……... **28**

2.2. Kullanılan Besiyeri ve Kimyasallar……... **28**

2.2.1. Nutrient Broth……. **28**

2.2.2. Nutrient Agar……... **28**

2.3. Kullanılan Çözeltiler…….. **29**

2.3.1. % 0.85 Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi……. **29**

2.3.2. 0.5 No'lu McFarland Çözeltisi…… **29**

2.3.4. Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet Çözeltisi……. **29**

2.4. Kullanılan Araçlar…….. **29**

2.5. Materyal…… **30**

2.6.Metod……. **30**

2.6.1.*Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloacae, Enterococcus avium, Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius* Test Bakterilerinin Antimikrobiyal Test için Hazırlanması……. **30**

2.6.2. Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Test Bakterilerinin Her Biri ve Test Bakterilerinin Karışık Kültürünün Üzerine Antimikrobiyal Etkinliğinin Disk Difüzyon Yöntemi ile Test Edilmesi……. **31**

2.6.3. Test Bakterilerinin Karışık Kültürünün 1.0 A Doğru ve 1.5 A Alternatif Elektik Akımı ile İnaktivasyonunun %3 NaCl ve Organik Madde İçeren Test Ortamında Araştırılması……... **31**

2.6.4. Test Bakterilerinin Karışık Kültürünün Sodyum Dimetil-Ditiyokarbametle (1500mg/L) İnaktivasyonunun %3 NaCl ve Organik Madde İçeren Test Ortamında Araştırılması……..... **34**

2.6.5. Test Bakterilerinin Karışık Kültürünün 1.0 A Doğru Ve 1.5 A Alternatif Elektik Akımı ve Sodyum Dimetil-Ditiyokarbametle (1500mg/L) İnaktivasyonunun %3 NaCl ve Organik Madde İçeren Test Ortamında Araştırılması……..... **34**

2.6.6. Sonuçların İndirgenme Faktörü (İF) Değerlerinin Hesaplanması……... **35**

BÖLÜM 3. BULGULAR VE TARTIŞMA……... **36**

BÖLÜM 4. SONUÇLAR…… **46**

KAYNAKLAR……. **48**

ÖZET

ISLATMA SIVILARINDAKİ BAKTERİLERİN DİREK VE ALTERNATİF ELEKTRİK AKIMLARI VE SODYUMDİMETİL-DİTİYOKARBAMET İLE İNAKTİVASYONU

Deri ıslatma sıvılarındaki proteolitik ve lipolitik bakteriler derilerin kalitesini olumsuz olarak etkilerler ve önemli ekonomik kayıplara sebep olurlar. Bu çalışmada derilerden izole edilen proteolitik ve lipolitik Gram pozitif *Bacillus lentus, Aerococcus viridans,Staphylococcus intermedius*ve *Enterococcus avium,* Gram negatif *Enterobacter cloacae* ve *Pseudomonas putida* test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Karışık kültür üzerine sodyum dimetil-ditiyokarbametin, elektrik akımının, elektrik akımı ve antibakteriyal maddenin bir arada kullanımının antibakteriyel etkileri ayrı olarak araştırılmıştır. Bu çalışmada; hem her bir test mikroorganizması hem de karışık kültür üzerine sodyum dimetil-ditiyokarbametin farklı konsantrasyonlarının (500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500 mg/L) antibakteriyel etkileri; karışık kültür üzerine ardışıl olarak uygulanan 1 A Direk ve 1.5 A Alternatif Elektrik Akımın antibakteriyel etkisi; karışık kültür üzerine 1500 mg/L'lık sodyum dimetil-ditiyokarbametin antibakteriyel aktivitesi; karışık kültür üzerine ardışıl olarak uygulanan 1 A Direk ve 1.5 A Alternatif Elektrik Akımın ve 1500 mg/L'lık sodyum dimetil-ditiyokarbametin antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Hem her bir test mikroorganizması hem de test mikroorganizmalarının karışık kültürü üzerine antibakteriyel maddenin farklı konsantrasyonlarının antibakteriyel etkileri disk difüzyon tekniği kullanılarak araştırılmıştır. Hem her bir test mikroorganizmasının hem de karışık kültürün inhibisyon zonları, antibakteriyel maddenin konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak artmıştır. Karışık kültüre ait 10 mm'lik inhibisyon zon çapı 500-1500 mg/L arasındaki antibakteriyel madde konsantrasyonları içeren diskler etrafında görülürken, 20 mm'lik inhibisyon zon çapı 6500-7500 mg/L arasındaki antibakteriyel madde konsantrasyonları içeren diskler etrafında görülmüştür. Elektrik akımlarıyla, sodyum dimetil-ditiyokarbamet ile, elektrik akımları ve sodyum dimetil-ditiyokarbametle ayrı ayrı muamele gören karışık kültürün indirgenme faktörleri sırasıyla 4.0, 2.85 ve 7.70 olarak bulunmuştur. 4 kez elektrik akımı uygulanan karışık kültür, üç saat içerisinde 1500 mg/L sodyum dimetil-ditiyokarbametle tamamen öldürülmüştür. Sonuç olarak, antibakteriyel madde ile birlikte elektrik akımının kullanılması ile deri ıslatma sıvılarındaki proteolitik ve lipolitik bakterilerin öldüğü tespit edilmiştir. Bulgularımız bu sistemin deri endüstrisinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Mayıs, 2017 **Esin KILINÇ**

SUMMARY

INACTIVATION OF BACTERIA IN SOAK LIQUORS VIA DIRECT ELECTRIC CURRENT, ALTERNATING ELECTRIC CURRENTAND SODIUM DIMETHYL-DITHIOCARBAMATE

Proteolytic and lipolytic bacteria in hide-soak liquors affect leather quality adversely and cause an important economic losses. In this study, proteolytic and lipolytic Gram-positive *Bacillus lentus*, *Aerococcus viridans*,*Staphylococcus intermedius* and *Enterococcus avium*, Gram-negative *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas putida*,which were isolated from the hides, were used as test microorganisms. Antibacterial activities of sodium dimethyl-dithiocarbamate, electric current and combinatory usage of electric treatment and antibacterial agent on the mixed culture were separately investigated. In this study, the antibacterial activities of different concentrations of sodium dimethyl-dithiocarbamate (500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500 mg/L) on both each of test microorganisms and the mixed culture; the antibacterial activity of 1 A DC treatment applied alternately with 1.5 A AC on the mixed culture; the antibacterial activity of 1500 mg/L sodium dithiocarbamate on the mixed culture; the antibacterial activity of 1 A DC treatment applied together with 1.5 A AC treatment followed by 1500 mg/L of sodium dimethyl-dithiocarbamate on the mixed culture were separately investigated. Antibacterial activities of different concentrations of the antibacterial agent on both each of test microorganisms and the mixed culture of test microorganisms were examined using agar disc diffusion technique. Inhibition zones of both each test microorganism and the mixed culture increased proportionally with the concentrations of antibacterial agent.Although inhibition zone diameter of 10 mm belonging to the mixed culture was observed around the discs containing between 500-1500 mg/L of the agent, inhibition zone diameter of 20 mm belonging to the mixed culture was observed around the discs containing between 6500-7500 mg/L of the agent.Reduction factors of the mixed culture separately treated with electric currents, sodium dimethyl-dithiocarbamate, and combinatory usage of the electric currents and sodium dimethyl-dithiocarbamate were respectively found as 4.0, 2.85 and 7.70. After four cycles of electric current application, the mixed culture was completely annihilated by 1500 mg/L of sodium dimethyl-dithiocarbamate in three hours. In conclusion, electric currents treatment in combination with antibacterial agent will kill proteolytic and lipolytic bacteria in hide-soak liquors, hence we suggest using this system in leather industry.

May, 2017 **Esin KILINÇ**

SEMBOLLER

A :Amper

^{o}C :Santigrad derece

cm^{2} :Santimetrekare

dk :Dakika

lt :Litre

ml :Mililitre

mm :Milimetre

µA :Mikroamper

V :Volt

ppm :Milyonda bir

cm :Santimetre

mA :Miliamper

kg :Kilogram

mhz :Megahertz

ms :Milisaniye

m^{2} :Metrekare

µm :Mikrometre

pH :Asitlik bazlık değeri

% :Yüzde değer

KISALTMALAR

kob :Koloni oluşturan birimi

log_{10} :Logaritma

NA :Nutrient Agar

NB :Nutrient Broth

$n_{dö}$:Deney öncesi test ortamındaki bakteri sayısı

n_{ds} :Deney sonrası test ortamındaki bakteri sayısı

İF :İndirgenme Faktörü

Ie :Etkin Değer

Im :Maksimum Değer

DÖ :Deney Öncesi

DC :Doğru Akım

AC :Alternatif Akım

V :Volt

R :Direnç

Ah :Amper Saat

kV :Kilo Volt

kHz :Kilo Hertz

NaCl :Sodyum Klorür

$CaCl_2$:Kalsiyum Klorür

$BaCl_2$:Baryum Klorür

H_2SO_4 :Sülfürik Asit

H_2O_2 :Hidrojen Peroksit

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1.	Derinin histolojik kesiti	**4**
Şekil 1.2.	Doğru elektrik akımın yönü	**17**
Şekil 1.3.	Alternatif elektrik akımın yönü	**18**
Şekil 1.4.	Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet kimyasal yapısı	**23**
Şekil 2.1A	Test Ortamlarının Direk Elektrik Akımı Uygulamasında Kullanılan Elektroliz Hücresi	**33**
Şekil 2.1B	Test Ortamlarının Alternatif Elektrik Akımı Uygulamasında Kullanılan Elektroliz Hücresi	**33**

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1.Giriş ve Amaç

Deri endüstrisi geçmiş yıllardan günümüze kadar hem ihracat hem de ekonomik katkı yönünden Türkiye'de önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde bu sektörün devamlılığının sağlanması için kaliteli deri üretimi oldukça önemlidir. Et sanayinin en önemli yan ürünü olan küçükbaş ve büyükbaş hayvanlara ait ham deriler, deri sektörünün en önemli ham maddesidir. Hayvan kesildikten sonra elde edilen derilere, hayvanın kendi florasında yaşayan mikroorganizmalar, kirli su, ortamdaki toz, toprak, yem, hava, gübre, dışkı ve idrardaki mikroorganizmalar bulaşabilmektedir. Bu mikroorganizmaların proteaz ve lipaz üretenleri, derinin yağ, protein, kan, karbonhidrat gibi besin kaynaklarını içermesi nedeniyle rahatlıkla üreyebilmekte ve deri üzerinde zararlara neden olabilmektedir. Bu nedenle ham derinin saklanmasında, taşınmasında ve işlenti basamaklarında deriye zarar veren tüm şartları ortadan kaldırılması gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı, derilerden yüksek sıklıkla izole edilen proteolitik ve lipolitik Gram pozitif *Aerococcus viridans*, *Bacillus lentus*, *Staphylococcus intermedius* ve *Enterococcus avium*, Gram negatif *Enterobacter cloacae* ve *Pseudomonas putida*'nın karışık kültürü üzerine sodyum dimetil-ditiyokarbametin, elektrik akımının, elektrik uygulamasının ve sodyum dimetil-ditiyokarbametin bir arada kullanımının antibakteriyel etkisinin araştırılmasıdır.

1.2. Dünyada ve Türkiye'de Deri Endüstrisi Hakkında Genel Bilgiler

Derinin günlük hayatta kullanılması M.Ö.7000'li yıllara kadar uzanır (Akbulut, 2012). İnsanlar yakaladıkları hayvanları hem beslenmek için hem de etinden ve derisinden yararlanmak için kullanmışlardır. Örtünme ve barınma amacıyla yüzdükleri derileri bitkisel tanenlerle tabaklamışlardır. Anadolu'nun ilk yerleşim yeri olan Çatalhöyükte bulunan duvar resimlerinde derinin ilk olarak post ve kürk şeklinde kullanıldığı anlaşılmaktadır (Özdemir ve Kayabaşı, 2007). Deri Sümerler döneminde kapı menteşesi, ok sadağı, eyer, kalkan, at koşumu, miğfer, davul derisi, ayakkabı, kemer gibi çeşitli amaçlar için kullanılmıştır (Akbulut, 2012). İnsanoğlunun gelişimine paralel olarak dericilik gelişmiş ve sanata dönüşmüştür. Giysi, çadır, kitap cildi, aksesuar, ev ve ofis dekorasyonu gibi pek çok alanda deri kullanılmıştır. Günümüzde giyim sanayinde deri üzerinde değişiklikler yaparak, deriye daha estetik bir görünüm kazandırmak mümkündür. Bu değişiklikler; çeşitli renk, parlaklık, desen ve baskı gibi uygulamalar olabilmektedir. Deri, kumaşa oranla daha kolay temizlendiği için mobilya sanayinde de büyük ilgi görmektedir (Özdemir ve Kayabaşı, 2007). Eskiden deri ürünleri genelde giyinme ihtiyacını karşılamaya yönelikti. Cumhuriyetin ilk yıllarında da demir yolu işçilerinin ve emniyet görevlilerinin soğuktan korunması için kıyafetlerde deri kullanılırdı. Günümüzde ise süs, prestij ve sosyal statü göstergesi olarak da farklı ihtiyaç alanlarında kullanılmaktadır. Deriden yapılan ürünlerin avantajlarından biri de soğuktan korumasının yanı sıra sağlığa uygun olmasıdır (Sanayi Genel Müdürlüğü, 2010). 1980'lerde yeterli ham maddenin var olmasıyla birlikte, deri sanayi gelişmiştir (Er, 2004). Türkiye deri ihracatına bakıldığında; ülke ekonomisine de katkıda bulunmaktadır (Bektaş, 2003). Deri ve deri ürünleri sanayi sektörü firmaları ise, Bursa, Tekirdağ-Çorlu, İstanbul-Tuzla, İzmir-Menemen, Hatay, Uşak, Balıkesir-Gönen, Bolu-Gerede, Isparta, Manisa-Kula'da yoğunlaşmış bulunmaktadır (ISO, Deri ve Deri Ürünleri İmalatı Sanayi Sektör Raporu, 2015).

Sektörünün mevcut durumuna bakıldığında, deri ve deri ürünleri imalatı sanayinin 2006 yılında ihracatı, 808 milyon dolardan, 2013 yılında 1,55 milyar dolara çıkmıştır. Bundan dolayı bu sanayinin Türkiye'nin toplam ihracatı içindeki payı yüzde 0,94'dan 1,02'ye çıkmıştır. 2006 yılında 1,19 milyar dolar olan deri ve deri ürünleri ithalatı 2013 yılında 1,92 milyar dolara çıkarken, toplam ithalat içindeki payı

da yüzde 0,86'dan yüzde 0,76'ya düşmüştür. Deri ve deri ürünleri imalatı sanayinin ihracat değerleri ayrıca İTKİB tarafından da bildirilmektedir. Deri ve deri ürünleri imalatı sanayinin ihracatı 2006 yılında 1,18 milyar dolarken, 2013 yılında 1,90 milyar dolara çıkmıştır (www.iso.org.tr; TÜİK, Dış Ticaret İstatistikleri).

%44.5'lik pay ile sektörün en önemli ihraç kalemi ayakkabılardır. Deri eşya, postlar ve kürkler ile ham ve işlenmiş deri ürünlerinin ihracatımızdaki payları sırasıyla % 25.9, %17.4 ve %12.2'dir (Türkiye Cumhuriyeti-Ekonomi Bakanlığı, 2014). Katma değeri yüksek ürünlerin üretimi ve pazarlanmasının alt yapısal desteğinin sağlanması için dericiliğe önem verilmelidir. Türk derisi ve dericiliğinin dünyada kabul görmesi ve imajının oluşması için hem ulusal hem uluslararası bilimsel araştırmalara önem verilmesi ve çalışma sonuçlarının kongrelerde sunularak tartışılması önerilmektedir. Sempozyum ve panellerin daha sık düzenlenmesi, ev sahipliği yapılması gereklidir.

Ülkemiz açısından önemli olan hayvancılık sektörümüzde karşılaşılan sorunlar, deri sektörünü de olumsuz etkilemektedir. Bu sebeple büyükbaş ve küçükbaş hayvan potansiyelimizi ve bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin kalitesini artıracak hayvancılık politikası hazırlanmalıdır. Ham derinin standart bir şekilde elde edilmesi için ham derilerin kesim, yüzüm, istifleme aşamalarında standartlara uyulması gerekmektedir. Kesim ve yüzüm hatalarını, istifleme ve toplama yanlışlarını en asgari düzeye indirmek, kaliteli ham deri elde etmemizi sağlayacaktır. Ham deri, uygun olmayan şartlarda nakliye edilirse de, kaliteli ham madde ve dolayısıyla kaliteli deri ürünü elde edilmesi çok zordur. GZFT analizine baktığımızda, dünya üzerinde görülen hayvan hastalıkları ve kırmızı et tüketimine yönelik talep azalışı da ham deri üretimi ve temininde ortaya çıkan bir diğer sorundur (Sanayi Genel Müdürlüğü; 2010).

1.3. Ham Derinin Yapısı

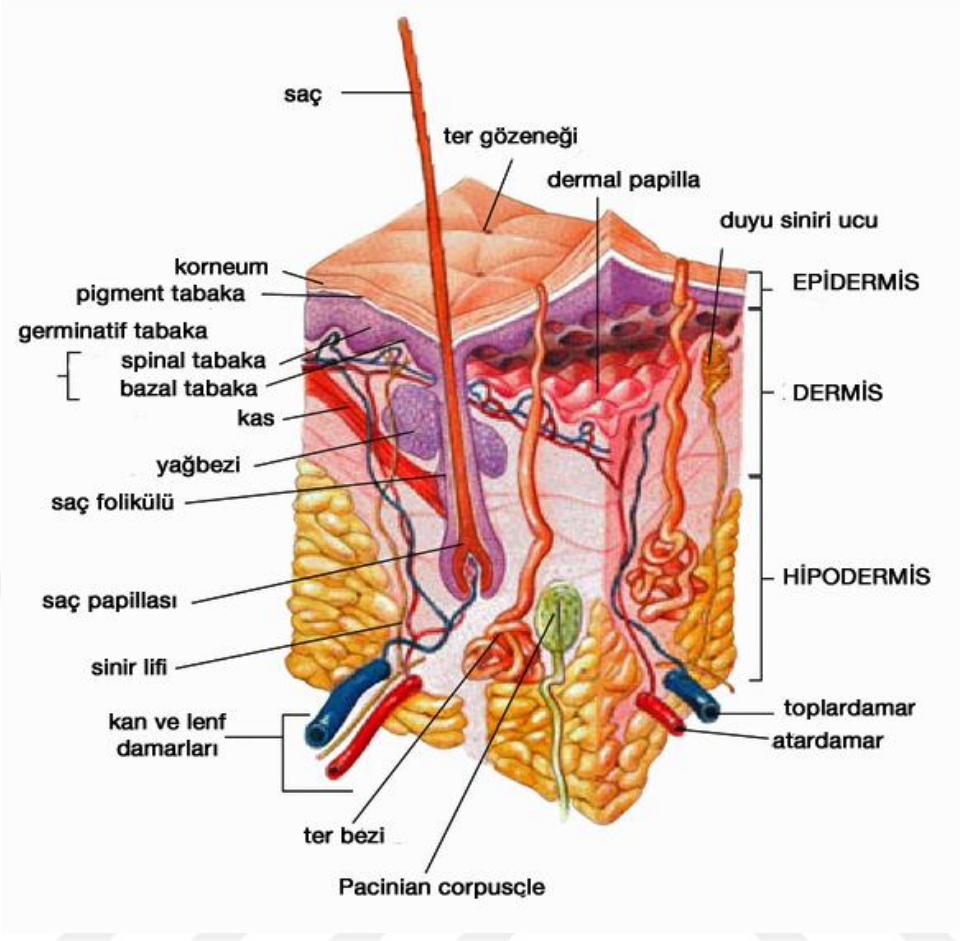
1.3.1. Ham derinin histolojik kesiti

Memeli derisi kimyasal ve fizyolojik bakımdan farklı üç tabakadan oluşmaktadır:

1. Epidermis (Üst deri)

2. Dermis (Alt deri)

3.Hipodermis (Deri altı dokusu)



Şekil 1.1. Derinin histolojik kesiti

(http://www.acikbilim.com/2013/07/dosyalar/laboratuvardan-yaralarin-uzerine-yapay-deri.html, Erişim Tarihi 19.11.2014)

Epidermis : Toplam deri kalınlığının % 1-2'sini oluşturur. Bu tabakada kan damarları ve canlı hücreler bulunmaz. Epidermis orta tabaka olan dermis tabakasının üstünde olduğundan, epidermis hücreleri dermisten beslenir. Epidermisin, koryumun hemen üstündeki tabakası bazal tabakadır ve silindirik çekirdekli hücrelerden oluşur. Bu hücrelerdeki pigmentler deriye rengini verir. Epidermisin üst yüzeyinin içine doğru çukurlar oluşmuştur. Bu çukurların içine kılların yerleştiği görülür. Yağ bezlerinin salgıladığı yağ, epidermisi yağlayarak yumuşak halde tutar.

Dermis: Toplam deri kalınlığının yaklaşık % 85'ini teşkil eden bu tabaka, derinin ana kısmıdır. Deri üretiminin farklı safhalarında epidermis ve hipodermis ortadan kaldırılır. Dermis tabakası mamul deriyi oluşturmuş olur. Liflerce zengin olan bağ dokuya sahip bu tabaka, vücudu darbelere karşı korur. İki doku katından oluşur.

Birincisi; Bağ doku (papillar - sırça) katıdır. Bu doku yapısının esasını kollajen ve elastin lifler teşkil eder ve bu lifler hem dik hem de çapraz bağlanmıştır. Bu sebeple bu tabakayı koruyucu tabaka olarak adlandırabiliriz. Sırçanın altında kıl köklerinin de gidebildiği, atar ve toplar damarların seyredip kollara ayrıldığı dar bir şerit halindeki ara geçiş bölgesi görülür. Bu bölgenin deri işlemeciliğinde büyük önemi vardır. Dermisin, ikinci doku katı, kollajen lif dokusu (retiküler - elyaf ağı) katıdır. Ara geçiş bölgesinden itibaren başlayan bu doku katı, bağ doku liflerinden ibarettir. Deri üretimi açısından en önemli kısımdır. Liflerin çapraz, dikey bağlanmaları nedeniyle üç boyutlu bir yapı görülür. Üç boyutlu yapı, su buharını geçirir ve yırtılabilir. Lifçikler (fibriller) biraraya gelerek demetleri, demetler de birleşip lifleri oluşturur. Bu kollajen lif dokusu asit ve alkali ile şişmez. Ancak lif kırılması yoluyla şişme görülebilir. Bu sebeplerden dolayı, deriyi dikkatli bir çalışma ile büyük özen göstererek işlemek gerekir.

Hipodermis: Derinin en alt tabakası olup, kas dokusu yardımıyla koryum ve et tabakasını birbirine bağlar. Bu tabaka iki kattan ibarettir. Birincisi yağ tabakasıdır. İkincisi elastiki teller tabakasıdır. Liflerle desteklenmiş olan bu tabakada lifler arasındaki boşluklarda homojen bir doku sıvısı vardır. Sinirler ve damarlarca zengindir. Bu tabaka yüzüm esnasında deri üzerinde bırakılmaz (Kimya teknolojisi, MEB, 2011).

1.3.2. Ham derinin kimyasal yapısı

Derinin kimyasal yapısı; hayvanın, türüne, yaşına, cinsiyetine ve beslenmesine göre değişmekle birlikte, içeriğinde protein, su, mineral maddeler, yağ, vitaminler ve madensel tuzlar bulundurur. Bunlar içerisinde en önemlisi proteinlerdir. Derinin kimyasal yapısında % 64-65 su, % 33 protein, % 2 yağ, % 0,5 diğer maddeler, % 0,5 mineral maddeler ve madensel tuzlar bulunmaktadır.

Derinin yapısındaki proteinler şekilli proteinler ve şekilsiz proteinler olmak üzere iki grupta incelenir. Derinin asıl yapısını oluşturan şekilli proteinlerin yapısında, % 29 oranında kollajen bulunur. Geriye kalan yaklaşık % 2,3 ’lük kısmını ise kıl, yün ve kılların bileşiminde olan keratin oluşturur. Elastin ise % 0,3 oranında bulunur. Şekilsiz proteinler, yaklaşık % 1,7’lik bir orana sahip olup deriye rengini veren albümin, globülin ve melamin gibi maddelerden oluşur.

Derinin kimyasal yapısındaki analiz ettiğimizde, derinin % 50 Karbon, % 25 Oksijen, % 18 Azot ve % 7 Hidrojen elementlerinden oluştuğunu görürüz.

1.4. Ham Derinin Korunması

Deri bakteriler ve mantarlar için ideal bir besin maddesi özelliğine sahiptir. Deri; ıslatma işlemleri ve pikle, tabaklama, krast aşamalarında pH değişikliklerine uğrar. Dolayısıyla bu aşamalarda hem bakterilerce hem de funguslarca zarara uğratılabilmektedir (Karaboz, 2003).

Hayvandan yüzülen sıcak ve ıslak deriye mikroorganizmalar bulaşmış ise kesimden 6 saat sonra bakteri üremesi çok fazla olur. Derinin yapısının zarar görmemesi için, ham deriler işleninceye kadar havada kurutularak, tuzlanarak, tuzlu su ile salamura yapılarak korunmaktadırlar (Birbir, 1997).

Deriler hayvandan yüzüldükten 5-6 saat sonra otolize uğrar. Konservasyon, derinin korunması için yapılan işlemdir. Bu işlem kimyasal ve antibakteriyel maddelerle ve fiziksel işlemlerle gerçekleştirilebilir. Ham derinin konservasyonunda tercih edilen, %40-50 sodyum klorür kullanılarak yapılan koruma işlemidir. Ancak tuz, fazla miktarlarda kullanılırsa, kuruyan elyaf yapısı arasında kristaller oluşturarak elyafın zayıflamasına neden olmaktadır (Birbir, 1991). Deri sanayinde konservasyon amacıyla kullanılan tuz, deride var olmayan mikroorganizmaların bile tuz vasıtasıyla deriye bulaşarak, deriye zarar vermesine sebep olur. Birçok mikroorganizmanın gelişmesi için bu tuzlu ortam uygun bir ortamdır. Uygun şekilde tuzlu su ile korunan derilerde ise halofil arkeler gelişebilmektedir (Bailey, 1993; Kallenberger, 1984). Islatma sıvılarında ve uzun depolama koşulları altında, halofil ve halotolerant mikroorganizmalar yüksek sıcaklıklarda derinin kollajen tabakasını parçalamaktadırlar. Bu durumda derilerde iğne deliğine benzer çukurlar, kızartı, epidermis kaybı, sırça kaybı, boşluklu yapı ve çürüme görülebilmektedir (Bailey ve Birbir, 1996).

Araştırma sonuçlarında, işlem görmemiş tuzların derileri korumak için kullanıldığında tuzlarda bulunan mikroorganizmaların derinin kollajenini ve lipitlerini sindirdiği saptanmıştır. Deri zararını önlemek için bakteri popülasyonu ve bunların lipolitik ve proteolitik aktiviteleri açısından kontrol edilmelidir. Bakteri

popülasyonundaki artış engellenmediği takdirde de deride kıl dökülmesi, deri maddesinin kaybı ve delik oluşumu gözlenmiştir (Toptaş, 2004).

1.5.Deri İşlenti Basamakları

Ham deriler mamül deri haline getirilinceye kadar aşağıdaki işlemlere tabi tutulurlar; Tuzla koruma→Islatma → Kıl giderme- Kireçlik → Kireç giderme → Sama →Yağ giderme→ Pikle → Tabaklama → Nötralizasyon → Boyama → Retenaj → Yağlama → Finisaj (Yakalı ve Dikmelik, 1993).

1.5.1. Islatma

Derilere konserveleme ve depolama sırasında kaybettikleri suyu geri kazandırarak, derinin konservasyon öncesi sahip olduğu nemi geri kazandırma işlemidir. Kullanılan bazı kimyasal maddeler şöyledir: Formik asit, keratin, sodyum bisülfit, sodyum sülfür ve tuzlar (Cengiz, 2002). Islatmanın amaçlarını genel olarak şu şekilde sıralayabiliriz:

- Kan, idrar gibi pislikleri derilerden uzaklaştırmak,
- Derinin su yüzdesini artırmak,
- Kollajen yapıyı kazandırmak,
- Konservasyon artığı maddeleri (tuz gibi) ve suda çözünür proteinlerden olan şekilsiz proteinleri (albümin, globülin gibi) deriden uzaklaştırmak.

Kan, idrar ve pislikleri deriden temizlerken, 1- 2 saatlik sıcak su ile ıslatma yapılır. Islatma da ıslatıcı yardımcı maddeler de kullanılır. Su yüzdesini artırmak, ham derideki su yüzdesini % 65' e çıkarmak suretiyle yapılır. Islatma işleminde zaman, salamura şekli, ıslatma suyunun özelliği, mekanik dönme hareketi, makine işlemleri ve ıslatıcılar (enzimler) etkilidir. Konservasyon sırasında deri ilk hacmini kaybeder. Kollajen yapıyı deriye geri kazandırmak için, ıslatma ile şişme sağlanır. Böylece, birbirine yapışarak sertleşmiş bulunan yapı yumuşatılarak deriye geri kazandırılır. Taze tuzlu salamura derilerdeki tuzun büyük bir kısmı ise ıslatmanın ilk 3- 5 saatinde çözünür. Islatma suyu değiştirildiğinde ise derideki tuzun %80' i deriden uzaklaştırılmış olur. Derideki tuzun uzaklaştırılması; su sıcaklığına, mekanik dönme hareketine, derinin su oranına bağlıdır. Suda çözünür proteinleri (albumin, globülin ve melamin gibi) deriden uzaklaştırmak için ise asit ve bazlar kullanılır (MEGEP, 2008).

Deriler konservasyon sırasında bünyelerindeki suyun önemli bir kısmını kaybeder. 24-48 saatlik ana ıslatma işlemi yapılması, yaklaşık, %40 seviyelerinin altına düşen su oranını yeniden eski haline getirir (Reeder, 1999).

Çok kirli derilerin de basit bir ıslatma işlemi ile temizlenmesi zordur. Kavaleto veya gübre alma makinalarından geçirilerek kirlerin uzaklaştırılması gerekir. Deri yeterince yumuşamamış ise bu uygulamalardan zarar göreceğinden, 1-2 saatlik bir ön ıslatma işlemi ile bu zarar ortadan kaldırılması gerekir. Tuzun % 70'i bir defa ön ıslatma ve su değiştirme ile uzaklaştırılır. İki defa ön ıslatma ile tuzun % 80'i deriden uzaklaştırılmaktadır (Toptaş, 1993). Islatma suyu değiştirildiğinde ise deri üzerindeki kan, gübre gibi mikroorganizmaların gelişimi için ortam sağlayan maddeler uzaklaştırılmış olur. Böylece bakteri sayısı da azaltılmış olur (Yakalı ve Dikmenlik, 1994).

Islatma suyunun ise fazla karbonat sertliğinde olmaması, zor çözünen tuzlar teşkil etmemesi gerekir. Bu su önemli ölçüde alkali içerir ve alkali ıslatması gibi etki eder. Derinin pH' ı 7.0-7.8 arasındadır. Islatma suyu zayıf alkali etkisi yaparak derinin su almasını kolaylaştırır (MEGEP, 2008)

Islatma suyunun sıcaklığı da ıslatma işleminde önemli bir faktördür. Islatmada 20-25˚C' lik su kullanılır. Bu sıcaklık uzun süren ıslatmalarda daha düşük derecelerde kullanılabilir. Yüksek sıcaklıklarda da ıslatma işlemi yapılabilir ancak su ile yapılan ıslatmalarda 40˚C'nin üzerine çıkılmamalıdır (MEGEP, 2008).

1.5.2. Kıl giderme - Kireçlik

Epidermal yapıya etki eder ve epidermis tabakasını, fibriler olmayan yapıları, kıl ve kıl köklerini, lifler arasındaki şekilsiz proteinleri deriden uzaklaştırmak amacı ile yapılmaktadır (Yakalı ve Dikmelik, 1993; Cengiz, 2002).

Daha sonraki deri işleme basamaklarında kullanılacak kimyasal maddelerin etki etmesi için, kimyasal maddeyle bağ yapabilecek aktif karboksil ve amino gruplarının ortaya çıkmasını sağlar. Bu aşamada derideki yağlar sabunlaştırılarak deriden uzaklaştırılır.

1.5.3. Kireç giderme - Sama

Deriye belli bir yumuşaklık, esneklik kazandırmak, derinin pH'ını sama işlemi için uygun hale getirmek için yapılan işlemdir. Kireçlik işleminde uzaklaştırılmamış kıl kökleri, epidermis ve pigment uzaklaştırılır (http://dericilik.blogcu.com/deri-teorisi/2313609; Cengiz, 2002)

Bir önceki basamakta aktif uçların ortaya çıkarılması için şişirilen derinin şişkinliği bu basamakta indirilir. Islatmadan sama işlemine kadar yapılan işlem basamaklarında uzaklaştırılmamış olan lifsi eriyebilir proteinler enzimler yardımıyla uzaklaştırılır.

1.5.4. Yağ giderme

Derideki yağın giderilerek, finisaj işleminin düzgün yapılmasını temin etmek amacıyla uygulanan işlemdir. Daha sonraki işlemlerde kimyasalların derinin içine nüfus etmesini kolaylaştırmak ve mamul deride oluşacak yağ kusmasını önlemek amaçlanmaktadır. Deri kötü kokudan arındırılır ve abrajsız düzgün boyama yapılması sağlanır (http://dericilik.blogcu.com/deri-teorisi/2313609)

1.5.5. Pikle

Bu işlemde deriyi tabaklama işlemine hazırlamak amaçlanmaktadır. Tabaklama basamağında, tabaklayıcı maddenin deriye nüfuz etmesi için derinin uygun pH değerinde olması gerekir. pH değerinin ayarlanmasında önemli olan tuz ve asit miktarıdır. Asit miktarı fazla olursa derinin sırça tabakasında zedelenmeler ve yırtılma mukavemetinin düşmesi görülür (Yakalı ve Dikmelik, 1993; http://dericilik.blogcu.com/deri-teorisi/2313609) Asit şişmesi ise deri çeşitlerinde istenmeyen bir durumdur.

1.5.6. Tabaklama

Deriyi bozulmaz hale getirmek ve mikroorganizmalara karşı korumak için yapılan işlemdir. Sıklıkla dünyada kromla tabaklama uygulanmaktadır. Tabaklama, deriyi bugünkü düzeyine getirir (Heideman, 1993). Tabaklama işleminin mekanizmasında, kromun (+3) değerlikli tuzu olan bazik krom sülfat ve deri kollajeninin karboksil grupları reaksiyona girer. Bu tuzlar, 6 değerlikli olan sodyum bikromatın ($Na_2Cr_2O_7.2H_2O$) su, sülfürik asit, şeker (melas ya da glikoz) gibi maddelerle ya da su

ve kükürt dioksit gazı ile indirgenerek 3 değerlikli hale getirilmesiyle elde edilmektedir (Çetinkaya, 2010).

1.5.7. Nötralizasyon

Derinin katyonik durumunu değiştirerek deriyi yağlama, dolgu ve boyama maddelerine hazırlamak amacı ile yapılan işlemdir (http://dericilik.blogcu.com/deri-teorisi/2313609)

1.5.8. Boyama

Derinin istenilen renge homojen olarak boyanması işlemidir (Cengiz, 2002).

1.5.9. Retenaj

Deriyi sağlamlaştırmak için derideki lif boşlukları doldurulur. Retenaj işlemi ile deriye elastikiyet ve yırtılmaya karşı direnç kazandırılır (Cengiz, 2002).

1.5.10. Yağlama

Bu işlem basamağında derinin su geçirmez ve yumuşak olması sağlanır (Cengiz, 2002).

1.5.11. Finisaj

Derinin kullanım özelliklerini, kalitesini, kullanım süresini arttıran son işlemdir (Yakalı ve Dikmelik, 1993).

1.6. Antimikrobiyal Maddeler

Derileri, mikroorganizma faaliyetlerinden koruyabilmek için deri işlenti basamaklarında antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır. Bakterisidlerin sıklıkla düşük konsantrasyonlar da bakteriostatik, yüksek konsantrasyonlarda ise bakteriyosidal etki göstermektedir (Cloete, 2003). İdeal bir antimikrobiyal madde, ortamda var olan mikroorganizmaları öldürmeli ya da inhibe edebilmelidir. Mikroorganizmaları öldürürken insana ve çevreye zarar vermemeli, ağır metaller gibi karsinojenik ve alerjik yan etkileri olmamalıdır (Karaboz, 1994). Deri üzerindeki bakteri gelişimini önlerken, deri işlentisi sırasında problem yaratmamalıdır (Kallenberger, 1984). Geniş pH aralıklarında koruyuculuk özelliğini kaybetmemeli, suda ya da diğer çözücülerde yeterli derecede çözünmeli ve kimyasal bileşimi ısıya ihtiyaç duymamalıdır (Karaboz, 1994).
Islatma sıvılarındaki bakteriyel popülasyonun kontrolünde kullanılan bu antibakteriyel maddelerin etkileri mikroorganizma çeşidine göre değiştiğinden, her bakteri türünün direnci ya da toleransı da farklı olmaktadır. Antibakteriyel madde yeterli dozda

kullanılmadığında, bazı suşlar bu antibakteriyel maddeye karşı dirençli hale gelebilir. Bu durumda antibakteriyel maddelerin varlığında bile bakteriyel gelişme görülebilmektedir (Vivian, 1969; Birbir ve ark., 2001; Weiss ve ark., 1984; Uğur, 2006).

Her bakterinin kullanılan antimikrobiyal maddeye karşı dirençlerinin ve toleranslarının farklı olması da, bazı bakterilerin plazmid veya transpozonlar ile antimikrobiyale karşı direnç geliştirmesine sebep olmaktadır (Vivian, 1969; Birbir ve ark., 2001; Weiss ve ark., 1984). Eğer direnç kazanmış suşları içeren sanayi atıkları kontrolsüz bir şekilde doğaya verilirse, aynı çevrede yaşayan diğer türlerle horizontal gen transferi yapabilmekte ve böylece direnç kazanabilmektedir (Russell, 2001; Madigan ve Martingo., 2006).

1.7. Islatma İşleminde Yapılan Hatalar

Derilerdeki bakteriyel popülasyon farklıdır. Bu farklılık, derinin türüne, bölgelere göre değişiklik göstermektedir (Birbir, 1991). Deriyi, mikroorganizma faaliyetlerinden korumak gereklidir. Bunun için hayvandan yüzüldükten hemen sonra gerekli tedbirleri alınmalıdır (İnceoğlu ve ark., 1997).

Derilerin yetersiz korunduğunun belirtileri, kuvvetli amonyak kokusu, kıl gevşemesi, derinin et ve sırça yüzeyinde görülen kızışma kusurlarıdır. Amonyak kokusu, deri proteinlerinin ayrışması sonucu oluşur. *Bacillus* türleri, enzimleri ile derideki proteinleri sindirebilir. Deride bulunan glisin ve sistein aminoasitlerini parçalarlar. Glisinin parçalanması ile amonyak, sisteinin parçalanması ile hidrojen sülfür açığa çıkmaktadır. Bakteriler öldürüldüğünde bile ortamdaki enzimlerin hala aktivitelerini sürdürdükleri belirtilmiştir. (Cooper ve Gallaway, 1974; Kılıçoğlu, 1991; Tancous, 1972; Tancous ve Jayasımhulu, 1973; Tancous, 1975).

Kıl gevşemesi, iyi korunmamış derilerde epidermal doku tamamen bakteriler tarafından zarar gördüğünden oluşmaktadır ve kılı koparmak oldukça kolay olmaktadır. Kıl dökülmesinin epidermanın bazal hücre tabakasının çürümesi ile olduğu, bakterilerin hem epidermaya hemde dermaya zarar verdiği saptanmıştır. Derinin et ve sırça yüzeyinde görülen kızışma kusuruna ise halofil arkeler neden olmaktadır (Naylor, 1985; O'Flaherty ve Lollar, 1953; O'Flaherty, 1960; Akpolat ve ark., 2015). Kırmızı lekeli

derilerin tabaklama işleminden sonra diğer derilere göre farklı boyandıkları gözlemlenmiştir (Bergmann, 1929; Green, 1945).

Deride mikroorganizma faaliyetleri sonucu oluşan, derideki kalite kaybını en aza indirmek mümkündür. Islatma işleminin kısa tutulması, doğru antimikrobiyal kullanımı, uygun pH aralığı, flote sıcaklığını düşük tutulması gibi önlemler bakteri gelişimini engelleyecektir. Islatma basamaklarında en çok görülen hatalar kollajen dokuda oluşmaktadır. Deride mikroorganizma faaliyetleri sonucu oluşan hatalar genellikle mamül deride kendini göstermektedir. Bakteri faaliyetleri sonucu deri üzerinde mat görünüşlü homojen olmayan bölgeler, ıslatma işlemi sırasındaki bakteri etkinliği ile cilt ayrılmaları ve delikler oluşmaktadır. Eğer ıslatma ve yumuşatma uzun süre yüksek ısı ve seyreltik tuz çözeltilerinde yapılırsa, deriden uzaklaştırılması istenen albümin ve globülin proteinlerinin yanı sıra kollajen dokuda hidrolik parçalanmalar da meydana gelir. Bunun önüne geçmek için, tuz çözeltisinin yoğunluğu iyi ayarlanmalıdır. Çünkü, yoğunluk %3-5 olduğunda kollajen kaybı en yüksek, % 0.5-1.0 olduğunda kollajen kaybı en azdır.

Deriye uygulanacak ıslatma işleminin süresi önemlidir. Islatma, çok uzun süre yapılırsa, deri dokunun kaybına neden olurken gereğinden az yapılması da daha sonraki kimyasal işlemlerde diğer maddelerin deriye homojen olarak nüfuz etmemesine ve mekanik işlemlerde cilt kırılmasına ve yırtılmalara neden olmaktadır (Toptaş, 1993; Toptaş, 2004). Konservasyon uygun şartlarda yapılmadıysa ıslatma işleminde bakteri zararını ve ani pH değişikliklerini engellemek için bakterisit kullanılmaktadır (Demir ve ark., 2000).

Islatma işleminde bakteri etkisi ile tekrar bozulabilir hale gelen deri için ıslatma suyunun sıcaklığı ve ıslatma süresi uygun olmalıdır. Gerekli hallerde antibakteriyel maddeler ile yüzey aktif maddeler (tensit, ıslatma yardımcı maddesi) kullanılmalıdır. Böylece bakteriler; yeni ortam şartlarına uyum sağlayıp zararlı hale gelemezler. Latent periyoduna ulaşamamış olurlar (http://nissan.blogcu.com/2-islatma-ve-kireclik-islemleri/2733474, Erişim Tarihi: Eylül, 2012).

Deride oluşacak problemleri önlemek için, ham derinin kesimlerinin elde edildiği ortam koşullarının hijyenik olması ve kesimler yapıldıktan sonra ortamın kan, kir, gübre gibi materyallerden arındırılması gerekmektedir. Bu işlemlerin hijyenik ortamlarda yapılması buralarda çalışan insanları da koruyacaktır. Bunun yanı sıra veteriner

kontrolünden geçmiş hayvanların kesilmesi, hayvandan gelen bakteriyel hastalıkları engelleyecek ve sağlıklı derilerin enfekte olmasını önleyecektir (Birbir, 1991). Hijyen için, tabakhanelerde kullanılan dolaplar her kullanımdan sonra içerisinde bakterisit ve fungusit bulunan sular ile iyice yıkanıp durulanmalıdır. Böylece tahtaların çatlakları arasına girip gelişen mikroorganizmaların daha sonraki işlemlerde deriyi enfekte etmeleri engellenmiş olur. Tabaklamada kullanılan makinaların yanı sıra ortamın dezenfeksiyonu da hem çalışanların sağlığı hem de derilerin mikroorganizma faaliyetlerinden korunması açısından önemlidir (Sarı ve Eke Bayramoğlu, 2004). Derilerin nakliyesi sırasında da hijyene dikkat edilmeli bu bağlamda taşıma sırasında kullanılan kamyonlar her taşımadan sonra dezenfekte edilmelidir. Derilerin büyük yığınlar halinde taşınması da bakteri gelişimine ortam sağlamakta ve sonucunda kızışma olayı gözlenmektedir (Birbir, 1991).

1.8. Deride Mikroorganizma Faaliyetleri Sonucu Oluşan Zararlar

İşlenmemiş deri hayvandan yüzüldükten sonra mikroorganizma tehdidi altındadır. Çeşitli yöntemlerle korunmuş ham derilerde, işlenme basamaklarında mikroorganizma hasarını önlemek için çeşitli yollara başvurulur. Bu önlemlere rağmen, mikroorganizmalar derileri besiyeri olarak kullanır. Derileri mikroorganizmalardan korumak için antimikrobiyaller kullanılmaktadır. Ancak bu işlemler de bazen mikroorganizma gelişmesini önleyememektedir. Derinin mikroorganizmalarca saldırıya uğramasında deri işletmelerinde kullanılan teknolojiler, yöntemin uygulandığı ortam, kullanılan yardımcı kimyasallar, işletmenin genel temizliği ve çalışma prensipleri önem taşımaktadır. Ortamda bulunan mikroorganizma yoğunluğu ve çeşitliliği değişkendir. Tabakhanelerde farklı mikroorganizmalar bulunabilir. Bundan dolayı farklı tabakhanelerin mikrobiyal problemleri farklı olur. İşletmelerde kullanılan tahta araç gereçler, temizlenmeyen dolaplar ve ortam, mikroorganizmaların tabakhanelerde biyofilm oluşturmalarına ve deri işletmelerinde tamiri çok zor olan hatalara neden olabilir. Tabakhanelerde diğer bir önemli sorun ise kromlanmış derilerde gelişen küf sorunlarıdır. Mikroorganizma faaliyetleri sonucu derilerde, kokuşma, yağ kusması, bozulma ve çürüme gibi büyük hatalar oluşur. Bu nedenle kaliteli bir deriye sahip olmak için, işlemler esnasında ve sonrasında deriyi mikroorganizma saldırılarından muhafaza etmek gerekmektedir (Sarı ve ark., 2003). Birbir (1991) yaptığı histolojik çalışmada 1 haftalık ve 2 aylık tuzlu salamura derilerini kullanmıştır. Derilerin germinativum

tabakasının, otoliz ve bakteri zararı sonucu altta bulunan tabakadan ayrıldığını, fibroblastların az olduğu epidermal hücrelerin bozulduğu, epidermal bölgede boşlukların olduğunu, kollajen lif demetlerinin özellikle uç kısımlarda ayrıldığını görmüştür. Derinin yetersiz korunduğunda epidermis ve dermis tabakalarında zararlar oluştuğu tespit edilmiştir. Deri sanayinde kullanılan tuzun kalitesizliği ve derinin konservasyonu sırasında yapılan hatalar deri niteliğini düşürerek önemli ölçüde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu ekonomik kayıpları indirgemek için, deri henüz hayvanda iken, hayvandan alınması sırasında, konservasyon, depolama ve nakliye sırasında, deri işlenme basamaklarında ve mamül deri elde edildikten sonra dahi mikroorganizma ve mekanik hatalardan oluşan sorunları engellemek gerekmektedir (Birbir, 2004). Mikroorganizmaların yaygın olarak her yerde bulunduğu bilgisinden yola çıkarak, tabakhanelerde deri işlentisi sırasında gelişen bakteriyel ve fungal türlerin endüstriyel ürüne zarar verdiğini söylenmektedir. Süet derilerin elde edilme aşamasında, derilerin et kısmında bulunanan mikroorganizmaların lipolitik ve proteolitik aktiviteleri sonucunda ürünler kalitesizleşmektedir (Harmancıoğlu ve Dikmen, 1993; Bitlisli ve ark., 2004). Deri işlentisi sırasında oluşan bu istenmeyen durumların engellenmesi için antimikrobiyal maddeler kullanılsa da sıklıkla başarılı olunamaz. Bu hasarlardan korunmak için sadece antimikrobiyal maddeler kullanılması yeterli gelmemektedir. Bunun yanı sıra dezenfeksiyona dikkat etmek büyük önem taşımaktadır (Sarı ve ark., 2003). Deride etkin olan bakteriler hem sırça üzerinde zararlara hem de deri özünün kaybına yol açarlar. Islatmayı kısa zamanda bitirmek ve flote sıcaklığının düşük tutulması sağlamak, bakteri etkenliği ortadan kaldırabilecek yollardan biridir (MEGEP, 2008).

Deriye zarar veren hem aerobik hem de anaerobik mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bu mikroorganizmaların çoğunun aerobik olduğu bilinmektedir (Karaboz, 1994). pH, sıcaklık, oksijen seviyesi, nemin varlığı veya yokluğu ve gelişim için gerekli besinler mikroorganizmaların gelişimi için gerekli çevresel faktörlerdir (Madigan ve ark., 1997). Taze derilerdeki nem düşürüldüğünde 2 gün içerisinde oda sıcaklığında derinin sırça yüzeyinde toplu iğne başı büyüklüğünde delikler oluştuğu, sırça soyulması ve kaymasının olduğu görülmüştür (O ‘Flaherty ve O ‘Flaherty, 1965). İyi korunmuş bir deride nem oranı ağırlığını %40-80 arasında olmalıdır bu da %80-85 doymuş tuz çözeltisi ile sağlanır (Bitlisli ve ark., 2004). Yüksek bağıl nemli ortamlarda meydana

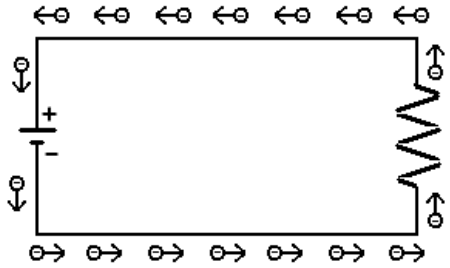
gelen bakteri, *Actinomycetes* veya fungusların neden olduğu biyolojik zarar, derinin ve deriden elde edilen ürünlerin estetik, fonksiyonel ve diğer özelliklerini azaltan önemli bir faktördür (Orlita, 2004). Bakteri ve mayaların %30-35, küf ve fungusların %12-15 su oranlarında canlı kalabildikleri bilinmektedir. Konservasyon işlemlerinde amaç derinin su oranını bu seviyelerin altına düşürmektir. Fakat bu işlemler sonucunda su miktarı istenen seviyeye düşmez ve canlılığını sürdüren mikroorganizmaların daha sonraki işlemlerde sıkıntı oluşturduğu bilinmektedir. Derideki su miktarının yanı sıra depolama sırasında istiflemenin fazla oluşu ve yeterli havalandırmanın sağlanmaması dinlenen sporların tekrar vejetatif forma dönüşmesine neden olmaktadır (Karaboz, 1994). Dahl (1956) bakteri suşlarının tuz toleransları üzerine yaptığı araştırmaya göre *Staphylococcus* ve *Bacillus* suşlarına ait bakterilerin tuza karşı oldukça toleranslı olduğunu tespit etmiştir. Bu mikroorganizmaların jelatini sıvılaştırdığı görülmüştür. Deri çürümesinin erken safhalarında sadece direk olarak kollajeni sindiren *Bacillus* türleri vardır. Linder ve Neuber (1990) *Bacillus mycoides*'in jelatini sıvılaştırdığını belirtmiştir. *Bacillus* ve *Micrococcus* gibi mikroorganizmaların jelatini erittikleri ve deride kokuşmaya neden oldukları tespit edilmiştir. Derinin geç korunması ya da iyi korunmaması sonucu epidermal bölgede boşlukların olduğu gözlenmiştir (Birbir, 1991). Deride bozulma ve çürüme yapan kuvvetli proteolitik bakterilerden *Bacillus* türleri kireçlik sıvısından da izole edilmiştir. Bu da *Bacillus* sporlarını alkali ortamlarda dahi uzun süre canlı kalabildiklerini göstermektedir (Karaboz, 1994). Bakteri ve mantarların oluşturduğu hasarlar deride gevşeklik zayıf lif tabakası ve lekeler olarak görülmüştür. İyi korunmayan derilerde bakterilerin kızışmaya, kıl köklerinin etrafındaki dokuyu sindirerek kıl gevşemesine neden olduğu ve ilerleyen dönemlerde sırça tabakasındaki liflerin zarar gördüğü saptanmıştır. Kırmızı lekeli derilerin uzun depolama süresi sonucunda derinin sırça yüzeyinde çukurlaşmış damar tabakası oluşturduğu tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda tabaklama işleminin tüm safhalarından alınan derinin enine kesitlerinde bakterilerin liflerin iç kısımlarında yaşadıkları saptanmıştır (Birbir, 1991). Bakteriyel aktivitenin deriye zararının olmasının yanı sıra bakteri kaynaklı bulaşıcı hayvan hastalıkları insanlara da zarar verebilir (Thorstensen, 1993). *Staphylococcus* ve *Streptococcus* gibi mikroorganizmaların deride epiderma iltihabına neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca *Bacillus anthracis* tarafından oluşturulan antraksın tehlikeli bir hastalık olduğu ve enfekte olmuş deriden insanlara ve hayvanlara

geçebileceği bildirilmiştir (Roddy, 1963). Uygun olmayan koşullarda uzun süre saklanan deriler üzerinde proteolitik ve lipolitik bakterilerin ürettiği enzimler derinin sırça ve et yüzeyinde önemli ölçüde deri maddesi kaybına neden olur (Bailey ve Birbir, 1996). Bakteri faaliyetleri sonucu yünlü deride kızartı, çürüme kokusu, kıl gevşemesi, sıvı akması ve kollajen dokuda bozulma olur. Böyle zarar görmüş deriler mamül deriye dönüştüğünde bu durumlar sırça tabakası kaybı, iğne deliğine benzer çukurlar, cilt havlaması, epidermis kaybı, kabarma, soyulma, boşluk hissi ve delikler olarak görülür (Mitchel, 1987). Büyükbaş ve küçükbaş hayvan derilerinde zararın büyük çoğunluğuna bakteriler neden olmaktadır. Bakteriler basit kıl gevşemesine, kırmızı renkli pigmentasyonlara ciddi sırça yüzülmelerine ve dolayısıyla fibriler yapıda dejenerasyona ve daha pek çoğuna sebebiyet vermektedir (Tancous, 1986). Derilerin yapısını bozan ve kokuşmalarına neden olan 80'den fazla mikroorganizma türü olduğu bilinmektedir. Nötral ya da alkali pH da etkin olan proteolitik bakteriler sayıca fazladırlar. *Bacillus, Clostridium, Proteus, Escherichia, Micrococcus, Pseudomonas, Staphylococcus, Sarcina* türleri taze ve yaş derilerde, konserve edilerek depolanmış derilerde, yumuşatma, kıl giderme, samalama gibi alt ve üst işlenti basamaklarından geçmiş derilerde görülmüştür (Karaboz, 1994). Deriye bakteri ve fungusların kendileri zarar verdiği gibi bunların metabolitleri de zarar vermektedir (Sarı ve Eke Bayramoğlu, 2004). Derinin farklı işlenti safhalarında ve işlenmiş deride *Bacillus, Micrococcus ve Staphylococcus* gibi mikroorganizmaların varlığı tespit edilmiştir. *Bacillus* türlerinin taze tuzlanmış ham derilerde, tuzlu salamura derilerde ve tabaklama sırasında kokuşmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Birbir, 1991). Tuzla konserve edilmiş derilerde yapılan çalışmada 37°C, 41°C'de ve farklı tuz konsantrasyonlarında halotolerant ve halofil mikroorganizma sayıları $2.0x10^8$-$2.0x10^9$ kob/mL olarak tespit edilmiştir (Birbir ve ark., 1996). Karaboz (1994), derinin mikrobiyal gelişim için oldukça uygun olduğunu belirtmiştir ve özellikle *Bacillus, Proteus* ve *Pseudomonas* gibi proteolitik bakteri genuslarına ait çeşitli türlerin ıslatma sularından izole edip tanımlamıştır. Kurutma esnasında canlı kalan çeşitli bakteri sporları ıslatma ve yumuşatmada tekrar çoğalabilmektedir (Robertson, 1948).

1.9. Doğru ve Alternatif Elektrik Akımı

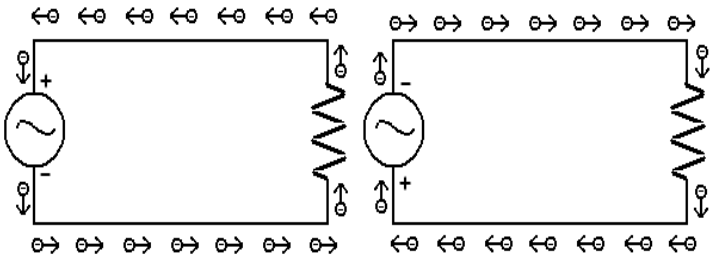
Belli bir S alanlı yüzeye dik olarak hareket eden yüklerin akış hızına akım denir. Bir Δt zaman aralığında bu yüzeyden geçen yük miktarı ΔQ ise ortalama akımdır. 1 saniyede 1 coulomb'luk elektrik yükü hareket ediyorsa bu 1 amper olarak tanımlanır. Günlük hayatta çok sık karşılaştığımız, birçok alanda temas etiğimiz akmayan elektrik de vardır. Buna da statik elektrik denmektedir. Elektrik yük birimi Coulomb (C) ve akımın birimi Amper (A)' dir. Bu birimler Charles Augustin Coulomb ve Andre Marie Ampere tarafından keşfedilmiştir.

Uygulanan elektrik akımın yönü hep aynı yönlü ise iletkenden geçen akım hep aynı yönlü olur. Şiddeti ve yönü zamanla değişmeyen bu tür akıma doğru akım (D.A) veya sürekli akım (Direct Curent; DC) denir. Doğru akımın üretilmesi ve iletilmesi zor olduğundan çok yaygın kullanılmamaktadır. Aküler, piller, DC dinamoları, DC kaynaklarına birer örnek olarak verilebilir. DC akım devrelerinde akım DC ampermetrelerle ölçülmektedir. DC ampermetreler devreye seri bağlanır ve devreden geçen DC akımı ölçer. Gerilim ise DC voltmetrelerle ölçülür. Voltmetre devreye paralel olarak bağlanır. D.C. gerilim kaynağı bulunan devrede akım, üretecin "+" kutbundan "-" kutbuna doğru direnç üzerinden geçerek ulaşır.



Şekil 1.2. Doğru elektrik akımının yönü

Yönü ve şiddeti belli bir düzen içerisinde zamanla değişen akıma *alternatif elektrik akımı* (Alternating Current; AC) denir. En bilinen AC dalga biçimi sinüs dalgasıdır. Yine de farklı uygulamalarda üçgen ve kare dalga gibi değişik dalga biçimleri de kullanılmaktadır.



Şekil 1.3. Alternatif elektrik akımının yönü

Elektrik akımın yönü periyodik olarak değişiyorsa, yüklü parçacıkların yönleri de periyodik olarak değişir. Böyle bir akıma alternatif akım (AA) adı verilir. Alternatif akımın temel yapısı sinüs dalgası şeklindedir. Ancak farklı uygulamalarda, üçgen ve kare dalga gibi değişik dalga biçimleri de kullanılmaktadır. AC gerilim kaynağı bulunan devrede, kaynağın sabit bir "+" ya da "-" kutbu yoktur. Kutuplar sürekli değiştiği için her kutup değişiminde direnç üzerinden geçen akımın da yönü değişecektir (Bilişim teknolojileri, 2011).

Bir alternatif gerilim kaynağının uçlarından birinin potansiyeli toprağa göre sıfır (0) dır ve nötr olarak adlandırılır. Diğer ucun potansiyeli sürekli artı (+) dır ve uç faz ya da canlı uç olarak adlandırılmaktadır. Alternatif akım ya da gerilimin elde edilmesinde alternatör denilen aygıtlar kullanılır. Manyetik alan içinde tel çerçeve dönerken bir tam devir için (360˚lik dönüş için) geçen süreyi "T" olarak adlandırırsak, bu süre içinde akım zamana bağlı değişecektir.

Tel çerçevenin harekete başladığı an ile T/4 zaman aralığında akım, sıfırdan pozitif maksimum değerine ulaşır. T/4 ile T/2 zaman aralığında akım maksimum değerinden en küçük değerine iner. T/2 ile 3T/4 zaman aralığında sıfırdan negatif maksimum değerine ulaşır. 3T/4 ile T zaman aralığında ise akım ters yönde maksimum değerinden başlangıç konumuna dönmüş olur. Bu esnada akımın iki kez yön değiştirdiği görülür.

A.C gerilim, elektrik santrallerinde çok daha büyük alternatörlerle üretilir. Alternatif akım, doğru akım ihtiyacı olan cihazlar için kolaylıkla doğru akıma çevrilebilirken, doğru akımın alternatif akıma dönüştürülmesi işlemi daha karmaşık ve daha pahalıdır. (http://hbogm.meb.gov.tr/MTAO/2ElektrikBilgisi/unite03.pdf).

Araştırmacılar, deri sanayinde yer alan mikroorganizmaların elektrik akımı ile inaktive edilebileceğini göstermiştir. Alternatif elektrik akımının bakterileri inaktive etmesinin nedeninin, H_2O_2, okside olmuş radikaller ve klorin molekülleri olabileceği belirtilmiştir. Doğru elektrik akımının bakterileri inaktive etmesinin nedeninin de enzim ve NADH gibi koenzimlerin oksidasyonu, hücre zarının solunum yapmasının engellenmesi ve sitoplazmik içeriğin dışarı akmasının olabileceği düşünülmektedir (Pfleiderer ve ark., 1988; Anderson ve ark., 1919; Beattle ve ark., 1925). Deri sanayinde tuzlu suyla korunmuş derilerde önemli kalite problemlerine sebep olan proteaz, lipaz, hem proteaz hem de lipaz üreten aşırı halofil bakterilerin 10^7 kob/ml'lik popülasyonunun, % 25 NaCl içeren organik madde varlığında 0.5 A doğru elektrik akımı ile 20 dakikada öldürüldüğünü açıklamışlardır. Aşırı halofil bakterilerin karışık kültürlerinin 10 dakika içerisinde, proteaz üreten aşırı halofil bakteri kültürlerinin ise 5 dakika içerisinde inaktive edildiğini belirtmişlerdir (Birbir ve Birbir 2006). Türkiye'deki Tuz Gölü, Kaldırım ve Kayacık Tuzlaları ile Tuzköy Tuz Madeninden izole edilen proteolitik aşırı halofil arkelerin deriye verecekleri zararları önlemek için 0.5 A doğru elektrik akımını kullanarak, mikroorganizmaları inaktive etmişlerdir (Birbir ve Birbir 2006). Farklı tabakhanelerden alınan tuz örneklerinden izole edilen proteaz ve lipaz üreten aşırı halofil arkeleri doğru elektrik akımı kullanarak inaktive etmek istemişlerdir. Derilerin korunmasında kullanılacak olan tuzlu suların 1 dakikalık 0.5 A doğru elektrik akımına maruz bırakılması ile tuzun içerisinde bulunan tüm aşırı halofil arkelerin öldürülebileceğini belirtmişlerdir (Birbir ve ark., 2008b). Araştırmacılar, 251 µA doğru elektrik akımını, 50 dakika süre ile ön ıslatma (7 örnek) ve ana ıslatma sıvılarından izole edilen (7 örnek) bakteriler üzerine uygulayarak doğru elektrik akımının antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre, ıslatma sıvısının organik madde içeriğinin ve bakteri popülasyonunun çeşitliliğinin, inaktivasyon süresini etkilediği, ön ıslatma sıvılarında (7 örnek) ve ana ıslatma sıvılarında bulunan (3 örnek) mikroorganizmalar, 20-30 dakika doğru elektrik akımı ile inaktive edilmiştir. Ana ıslatma sıvısında bulunan diğer dört örnekte ise mikroorganizmalar, 50 dakika uygulanan doğru akım ile inaktive edilmiştir. Atık su arıtma sistemi olmayan ve suları doğrudan çevreye bırakan tabakhaneler için elektrik akımı ile bakteriyel popülasyonu inaktive etme yönteminin, alternatif bir yöntem olarak kullanılabilirliği vurgulanmıştır (Birbir ve ark., 2008b).

Jackman ve arkadaşları (1999), çalışmalarında toprakta bulunan sülfür oksitleyici bakterileri, *Thiobacillus* ferrooksidanlarını ve asidofilik heterotrofik *Acidiphilium SJH* mikroorganizmalarını seçmişlerdir. Sıvı kültürde, *Thiobacillus* ferrooksidanlarını ve *Acidiphilium* SJH' nin düşük hücre yoğunluklarını, 20 mA elektrik akımı ile inaktive etmişlerdir (Jackman ve ark., 1999). Bir başka çalışmada aktive edilmiş biofilmlerdeki nitrifikasyon bakterilerini polipirilen paketleme sistemi üzerine immobilize ederek bu bakterileri 2.5-5 A doğru elektrik akımı uygulaması ile inaktive etmişlerdir (Li ve ark., 2001). Ye ve arkadaşları (2001) araştırmalarında, 70, 175 ve 350 Amper yoğunluğundaki akımları kullanarak kullanılmış tuzlu sulardaki *Listeria monocytogenes'i* (10^6 kob/ml) inaktive etmişlerdir. 2002' de yapılan bir çalışmada; *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa,* bakteriyofaj M52 ve PRD1 gibi mikroorganizmaların hem yüksek konsantrasyonları ($1x10^6$ kob/ml) hem de düşük konsantrasyonları ($1x10^3$ kob/ml) 25-350 mA ile muamele edilmiştir. *Escherichia coli*'nin inaktivasyon oranının bakteriyofaj M52'ye göre 2.1 - 4.3 kat daha fazla olduğunu gözlemlenmişlerdir (Dress ve ark., 2002).

2004' te yapılan bir çalışmada araştırmacılar, gıda, tıp ve ziraat sanayinde kullanılan mikroorganizmaların dağılımını modifiye etmek istemişlerdir. Bu ortamlardaki mikroorganizmaların sayısını azaltmak için çok kısa süreyle uygulanan direkt akımlı elektrik alanı uygulamışlardır. Bu işlemin, pratik, ısı oluşturmayan bir işlem olduğunu açıklayarak, "alginate" ve "agaroz" içerisine hapsedilen *Escherichia coli* ve *Serratia mercessens*'in canlılığının, elektrik alanının yoğunluğu ve süresi arttıkça azaldığını açıklamışlardır (Zvitov ve ark., 2004). Araştırmacılar; 60 ile 100 μA elektrik akımının paslanmaz çeliklerde bulunan stafilokokların uzaklaştırılmasında uygulanabileceğini saptayarak, ortopedide kullanılan paslanmaz çelik implantların enfeksiyonunu önlemişlerdir (Borden ve ark., 2004).

Ayrıca araştırmacılar, deniz suyunda bulunan *Vibrio parahaemolyticus* üzerine düşük voltajlı elektrik akımı uyguladığında, bu mikroorganizmanın elektrik akımıyla inaktivasyonunu sağlamıştır (Park ve ark., 2003). *Vibrio parahaemolyticus'* un üzerine 100 ms'de 0.5 A, 12 V' luk elektrik akımı uygulandığında da tamamen inhibe edilebilmiştir (Park ve ark., 2004). *E.coli* ve *B.cereus* kültürlerine, grafit veya bakır elektrot çiftleri kullanılarak elektrik akımı uygulanmış ve etkileri incelenmiştir.

E.coli'nin, 20 ve 40 mA' lik akımda enzimatik faaliyetleri ve büyümesi engellenmiştir. Bakır elektrotlar kullanılarak 5 mA'lik elektrik akımı uygulaması ise, *E.coli* ve *B.cereus*'un, hem gelişimlerinin hem de metabolik ve enzimatik aktivitelerinin inhibisyonuna yol açmıştır (Valle ve ark.; 2007).

Araştırıcılar sığır örnekleri üzerindeki *Escherichia coli* O15'yi düşük voltajlı alternatif akımla inaktive etmişlerdir. Sığır örneklerini *Escherichia coli* ile inoküle ederek, bir elektrolit görevi yapan sodyum klorür çözeltisi içine yerleştirmişlerdir. 1,10 ve 100 kHz frekans aralığında ve 300 mA (15 mA / cm^2), 600 mA, (30 mA / cm^2), ve 900 mA (45 mA / cm^2) akım yoğunluklarında, 2, 8 ve 16. dakikalarda incelenmiştir. 900 mA (45 mA / cm 2) akım yoğunluğu ve 1 kHz frekans ve 16 dakika uygulama süresini kullanarak 2.15 logluk azalmayı elde etmişlerdir (Harris ve ark., 2011). Mahapatra ve arkadaşları, düşük voltaj doğru akımı *Escherichia coli* O157: H7 ile inoküle edilen sığır derilerine uygulamıştır. 0.15 M NaCI çözeltisinde, 15, 30 ile ve 45 mA / cm^2 akım; 1, 10 ve 100 kHz frekans ve 2, 8 ve 16 dakika süreyle yapılan deneylerde, akım yoğunluğundaki artışa bağlı olarak *E.coli* sayılarında % 98.9 maksimum azalma elde edilmiştir (Mahapatra ve ark., 2011).

Deri sanayinde hasara neden olan bakterilere ardışıl olarak 188 $\mu A/m^2$ doğru ve 251 $\mu A/m^2$ alternatif elektrik akımı uygulanarak, inaktivasyon etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada, % 2 NaCl ve % 25 NaCl içeren NB besiyerleri içerisinde bulunan Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler ve bu bakterilerin karışık kültürlerinin doğru ve alternatif elektrik akımına ardışıl olarak maruz bırakılması sonucu bu bakterilerin sayılarının oldukça kısa sürede deriye zarar vermeyecek sayıya düşürüldüğü saptanmıştır (Dölek, 2013).

1.10. Deri Sanayinde Kullanılan Kimyasallar

Günümüzde deri sanayinde sentetik koruma ajanları kullanılmaktadır. Bu amaçla ticarette en yaygın olarak kullanılan antimikrobiyallerin aktif maddeleri şunlardır:

a)Heterosiklik N, S içerikliler:
TCMTB: 2- Tiyosiyanometiltiyobenzotiyazol
N-OIT: n-Oktilizotiazolinon
MBT: Metilen-bis-tiyosiyanat
b) Karbomatlar

c) BCM: Karbendazim

d) DMDTC: Dimetil-ditiyokarbamet

e) Aktive edilmiş halojen ortamı içerenler:

DIMTS: Diodometiltolilsulfon

f) Fenol derivatları: Polihalojenatlı fenoller:

TCP: Triklorofenol

TBP:Tribromofenol

OPP:o-Fenilfenol

PCMC: p-kloro-m-krezol

Antimikrobiyallerin etkili olabilmesi geniş spektrumlu antimikrobiyal kullanılmalıdır. Bazı antimikrobiyaller, yalnızca funguslara etkili olurlar, bunlara fungisit; bazıları da sadece bakteriler üzerine etkili olurlar ve bunlara da bakterisit denmektedir. Ayrıca bakteri ve funguslara etkili olan geniş spektrumlu antimikrobiyaller de bulunmaktadır. Bu durum tüm antimikrobiyaller için geçerli olmamaktadır. Antimikrobiyaller, mümkünse suyla karıştırılabilmesi, bakteri türlerine karşı etki spektrumunun geniş olması, düşük akut toksisiteye sahip olması ve deri tarafından yüksek emilim oranının olması gerekir.

Zararlı mikroorganizma doğru saptandığında, ona uygun bakterisit seçilmelidir. Antimikrobiyaller, deri işlenti sırasında kullanılmasına rağmen, bilinçsiz kullanım zaman zaman büyük mikrobiyal problemlerin yaşanmasına sebep olur. Bu sebeple ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Bilinçsiz antimikrobiyal kullanımı derilerde mikrobiyal gelişmelere ve ekonomik kayıplara yol açarken ayrıca gereğinden fazla kullanım da çevre kirliliğine ve ekolojik dengenin bozulmasına sebep olur. Bu nedenle antimikrobiyal kullanımı, rastgele değil, bilinçli bir şekilde yapılmalıdır (Eke, Bayramoğlu., 2009).

Teknolojik gelişmelere bağlı antibakteriyal ürünler deri üretimin aşamalarında büyük kolaylıklar sağlasa da, deri sanayinde çalışan insanların direk veya indirek temasları insan sağlığını olumsuz yönden etkilemektedir. Ayrıca sanayi atıklarının çevreye verilmesi de doğrudan çevre kirliliğine neden olabilmektedir. PFOS ve DMFU gibi kimyasalların kullanımı, Öko-Tex 100 standartları, Blue-Angel, EU-Flower gibi kontrol yönetmeliklerince yasaklanmıştır. Bu standartlara göre, deri ve tekstil sanayinde kullanılan deterjanlar, ıslatıcı ve emülsiyon ajanlarda kullanılan alkilfenoller cilt tahrişi

yaptığından bu ürünlerin kullanılması risk oluşturmaktadır. Araştırmalar azor boyar maddeler ile işlem görmüş tekstil ve deri ürünlerinin direk ve uzun süreli kullanımına bağlı olarak insanlarda karsinojenik ve mutajenik etkilerinin olabileceğini göstermektedir (Başaran ve ark., 2004). Deri, mobilya, tekstil, ilaç sanayiinde dezenfektanların, yapıştırıcıların ve boyaların yapımında kullanılan formaldehit de REACH'in yasaklı maddeler listesinde yer almaktadır (http://www.iso.org.tr).

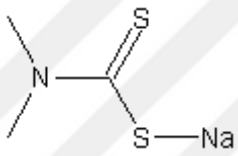
1.11. Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet Hakkında Genel Bilgi

Yaygın ismi: Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet

Kimyasal ismi: Karbamoditioik asit, dimetil-, sodyum tuzları

Moleküler Formülü: $C_3H_6NNaS_2$

Moleküler Ağırlığı: 143.2 g/mol



Şekil 1.4. Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet kimyasal yapısı

Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet, bakterideki tiol ve amin gruplarıyla reaksiyona girerek, farklı enzim çeşitleri için önemli olan mevcut Fe' nin miktarını azaltır. Bakterideki yağ asidi sentezini inhibe eder ve farklı mikroorganizma gruplarında farklı etki gösterebilir. Bu kimyasalın 0.5-1.5 kg/1 ton oranında deride kullanılması önerilmektedir.

Mikroorganizmaların kontrolünde antimikrobiyal maddeler sıklıkla kullanılmaktadır. Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaları öldüren kimyasallar olup cansız objelerde ve yüzeylerde de kullanılabilirler. Enfeksiyonların kontrolünde oldukça önemli olan etanol ve katyonik deterjanlar, hastanelerde yerleri, masaları ve laboratuar çalışma tezgahlarını dezenfekte etmek amacı ile kullanılmaktadır. Dezenfektanlar, kağıt, deri, plastik, tekstil, kereste, metal, petrol, havalandırma, elektrik kaynakları ve nükleer gibi pek çok çeşitli endüstrilerde de yaygınca kullanılmaktadır. Tiyokarbametler, metilizotiyazolinon, katyonik deterjanlar, fenol içeren maddeler, klor ve klorlu maddeler bu endüstrilerde kullanılan sıklıkla kullanılan antimikrobiyallerdir (Madigan ve ark, 2009).

1.12. Test Bakteri olarak Seçilen Bakterilerin Genel Özellikleri

1.12.1. *Bacillus lentus*

Bacillus cinsi *Bacillaceae* familyasında yer alan, endosporları ile olumsuz ortam şartlarına direnç gösteren gram-pozitif bakterilerdir. *Bacillus* türlerinin çoğunda, birkaç tane peritrik kamçılarla hareket sağlanır. *Bacillus* zincirlerinde tek veya çok sayıda uzun zincirler meydana getirebilen çomaklar olup, oldukça küçük (0.5 x 1.2mM) ya da büyük (2.5 x 10 mM) olabilir. Aerobik veya fakültatif anaerob olan *Bacillus* cinsinin, sporları da çok kompleks bir yapı gösterir. Vejetatif hücrede kolayca görülen sporlar protoplast haldeyken içten dışa doğru hücre duvarı, korteks ve kabuk yapılarından oluşur. Sporun şekli ve sporogonium yeri türlere göre karakteristik olarak değişir (Lennete ve ark.1985).

Kemoorganotrof ve çoğunlukla katalaz pozitif çomaklardan olan *Bacillus* cinsinin, koloni morfolojisi ve boyutu çevresel şartlara bağlı oldukça değişkendir. İnkübasyon sıcaklığı ve besiyeri bileşimi gibi çevresel faktörler morfolojiyi etkiler. *Bacillus* türleri toprakta, suda, kirli deniz suyunda, derin deniz sedimentlerinde, çeşitli besinlerde ve sütte bulunabilir (Schleifer, 1986).

Bacillus lentus, katkı maddesi olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalardandır (Uymaz, 2010). Aerobik bir tür olan *Bacillus lentus*, çubuk şekilli bir Gram-pozitiftir. Topraktan, gıdalardan izole edilebilir. Katalaz pozitif, üreaz pozitif, indol negatiftir ve hidrojen sülfür üretir. Toprakta, deniz suyunda ve sedimentlerinde bulunurlar. Alkalin proteaz enzimini üreten bu bakterinin endüstride önemli bir ticari değeri vardır (Jørgensen ve ark, 2000)

1.12.2. *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cinsi, *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan, gram negatif bakterilerdir (Prescott ve ark., 2002).

Enterobacter cloacae, *Enterobacteriaceae* ailesinden çubuk şeklinde, fakültatif anaerobik Gram-negatif bir bakteridir. Bu bakterilerin boyutu 0.3-0.6 x 0.8-2.0 μm arasında değişir. *Enterobacter cloacae*, optimum 37 °C sıcaklıkta yaşar ve hareket için peritrik kamçı kullanır. Bu organizma oksidaz negatif ve katalaz pozitiftir. *Enterobacter cloacae* insan derisi ve dokularının yanı sıra meyve ve sebzelerde de bulunabilir. İnsan için patojendir ve birçok hastalığa neden olur

(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Enterobacter_cloacae). Jelatin hidrolizi, H_2S ve Lisin dekarboksilaz yoktur. (Dülger ve ark.,1999).

1.12.3. *Aerococcus viridans*

Aerococcus cinsi, *Aerococcaceae* familyasında yer alan, Gram-pozitif bakterilerdir. Bunlar; mikroaerofilik, katalaz negatif, kok şekillidirler. Hücresel metabolizmaları açısından streptokoklardan farklılık göstermektedirler (Boone ve ark., 2011). Aerokoklar kanlı agar besiyerinde α-hemolitik reaksiyon gösterirler. 37^{o}C de 24 saat sonunda üreyen aerokoklara ait koloniler çoğunlukla renksizdirler. Ancak, *Aerococcus viridans* kolonilerin sarı renkli pigmentasyon gösterebildikleri bilinmektedir. Optimum gelişimleri için, pantotanik asit, nikotinik asit, biotin, guanin ve diğer pürin bazları gereklidir. *Aerococcus viridans*, gelişmek için amino asite de ihtiyaç duymaktadır, ancak bu mikroorganizmaların besin ihtiyaçları kesin olarak belirlenememiştir (Miller ve Evans, 1970). *Aerococcus* cinsine ait tüm türler, %6.5 civarında NaCl'ye ihtiyaç duymaktadırlar. *Aerococcus viridans* ise %10 NaCl varlığında bile gelişebilmektedir. *Aerococcus viridans* basitrasin, klavulanat, kolstin, furazolidon, penisilin ve tobramisine karşı duyarlı değildir (Christensen, 1996). Aerokokların çoğu saprofit olarak yaşarlar. Hava, toprak, bitki, deniz, su gibi ortamlarda yaşayabilirler. Bazı türleri, insan derisinde ve üst solunum yollarında bulunabilmektedir. *Viridisin* denilen bir bakteriosin sentezledikleri bilinmektedir (Ballester ve ark., 1980). *Aerococcus viridans* genellikle nozokomiyal hastalıklara neden mikroorganizmalardır (Kerbaugh ve Evans, 1968). Bakteriyemi (Swanson ve ark.,1996), endokardit (Bru ve ark., 1986), üriner sistem enfeksiyonu (Colman, 1967), çocuklarda menenjit (Nathavitharana ve ark., 1983), ahır hayvanlarında meme içi enfeksiyon (Devriese ve ark.,1999) gibi hastalıklara neden olabilmektedir.

1.12.4. *Enterococcus avium*

Enterococcus cinsi, *Enterococcaceae* familyasında yer alan, gram pozitif bakterilerdir. Bu bakteriler soğuk ve nemli toprakta 12 hafta kadar canlı kalabilirler fakat donma ve sonra yeniden eritme durumları ömürlerini azaltır. Sıvı besiyerlerinde dipte çöküntü oluşturup, besiyerinde bulanıklık yapmaksızın ürerler. Sitokrom enzimi içermediklerinden katalaz aktiviteleri yoktur Enterokoklar, Gram negatif bakterilere kıyasla, beslenme gereksinimleri açısından daha seçicidirler. Geliştirildikleri

besiyerinde daha fazla üreme faktörüne gereksinim duymaları ile diğer pek çok gram pozitif bakteriden ayrılırlar. Örneğin, gelişebilmeleri için B vitaminleri ve bazı temel aminoasitler açısından pek çok gram pozitif bakteriden çok daha fazla oranda besin maddesine ihtiyaç duyarlar. Belirli türlerin üreme faktörü olarak bazı spesifik aminoasitlere gereksinim duymalarından dolayı bu spesifik aminoasitlerin nicel olarak belirlenmesinde test organizması olarak kullanılmaktadırlar (Kaleli ve Özkaya, 2000; www.mikrobiyoloji.org).

Enterococcus avium, kuşlar, tavuk, köpek gibi hayvanlardan izole edilmiştir. Apendisit ve beyin apselerinden izole edilmiştir. Alfa hemolitiktir. % 6,5 sodyum klorürde üremesi zayıftır ve pigment oluşturmaz. *Enterococcus avium*, 0,6-2,0 mikron boyutunda gram pozitif bir bakteridir. Hücreler oval şekillidir. Bu patojene gastrointestinal sistemde ve idrar yolunda rastlanır. Optimal büyüme 37ºC de pH 9.6' da görülür. Ancak 60º C sıcaklıkta da yaşayabilir. (Hensyl ve ark., 2000; Collins ve Jones 1979). Katalaz negatiftir. Arabinoz, laktoz, mannitol, sorbitol, sükrozu fermente edebilir ve H_2S üretir. (Neetu ve ark., 2005)

1.12.5. *Pseudomonas putida*

Pseudomonas cinsi, *Pseudomonadaceae* familyası içinde yer alan Gram negatif bakterilerdir. 0.5-1 x 1.5-5.0 µm boyutlarında, sporsuz, kapsülsüz, düz veya hafifçe kıvrılmış çomaklardır. Bir veya birden fazla polar flagellası ile hareket yeteneğine sahip olup, en iyi 37 ^{o}C' de ürerler. Zorunlu aerobik olan bu cinsin çoğu türü 4,5 ve daha düşük pH' da gelişemez ve organik gelişim faktörüne ihtiyaç duymaz ancak 42 ^{o}C' de üreyebilirler. Katalaz pozitif olup, oksidaz pozitif veya negatif olabilirler. Kemoorganotrofiktirler. Karbonhidratları fermente etmezler, oksidatif metabolizma ile enerji elde ederler. Proteolitik ve lipolitik aktivite göstermektedirler. Kanlı agarda hemoliz yaparlar. Çoğunluğu beta hemoliz yapmaktadır. Jelatini ve koagüle plazmayı eriterek parçalarlar. Nişastayı hidrolize etmezler. İndol ve H_2S oluşturmazlar. Metil-kırmızısı ve Voges-Proskauer testler negatif sonuç verir. Kazeini hidrolize ederler. Nitratı nitrite indirgerler. Proteaz, amilaz, pektinaz, selülaz ve çok çeşitli enzimleri salgılamaktadırlar. *Pseudomonas* türleri metabolik olarak karbon ve enerji kaynağı olarak basit organik bileşikleri, nitrojen kaynağı olarak da nitrat ve amonyum iyonlarını gibi minimum içerikli bir besiyerinde üreyebilmektedirler.

Pseudomonas putida, toprakta yaşayan gram-negatif nonfermentatif bir basil olup, metabolik özellikleri değişkendir. Ağır enfeksiyonlara sebep olabilen saprofitik bu bakteri, insan vücudunun normal florasında yer almaz. İdrar yolu enfeksiyonu, pnömoni, septisemi, yara yeri enfeksiyonu, peritonit ve menenjit gibi hastalıklara sebep olabilir (Öztoprak ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda taze ve 4°C' de 10 gün bekletilen kıyma örneklerinden *Pseudomonas putida* izole edilmiştir. Taze örnekte 14 (%30,4) oranında, 4°C' de 10 gün bekletilen örnekte (%18,1) oranında *Pseudomonas putida* bulunmuştur. Taze kıyma ve buzdolabı sıcaklığında bekletilen kıyma örneklerinde en fazla proteolitik aktivite ise % 32,4 oranında P. putida izolatlarında saptanmıştır (Çıtak ve ark., 2010)

1.12.6. *Staphylococcus intermedius*

Staphylococcus cinsi, *Staphylococcacea* familyası içinde yer alan Gram pozitif bakterilerdir. Stafilokoklar ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmış, 1880'de Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiş, 1881'de Sir Alexander Ogston tarafından çıbanlarda bulunduğu, fare ve kobaylar için patojen olduğu belirtilmiştir. 1884'de Rosenbach Stafilokokların renkli ve renksiz koloni biçimlerini ayırt etmiş ve *Staphylococcus aureus*'u isimlendirmiştir. Baird- Parker ise ilk kez koagulaz negatif Stafilokok türlerini tanımlamıştır (Unat, 1986; Cengiz 1999; Waldvogel, 2000; Bilgehan, 2000; Bilgin, 2006). Stafilokoklar deri ve mukoz membranda yaygın olarak bulunan ve insan enfeksiyonlarının büyük bir kısmını oluşturan bir gruptur. Başta burun mukozası, nazofarinks, deri ve daha az olmak üzere bağırsak ve diğer mukozaların normal floralarında bulunan bakterilerdir (Bilgehan, 2004).

Staphylococcus intermedius ilk olarak 1976 da tanımlanmıştır. Gri güvercinler, köpekler, vizon, kedi, tilki, rakun, sincap, keçi, ve atlar da dahil olmak üzere birçok hayvan türünden izole edilmiştir. Koagülaz-pozitif ve üreaz pozitif bir stafilokoktur (Vandenesch, 1995; Mahoudeau, 1997). Aerobik aktivite ile laktozdan asit üretebilir. (Hajek, 1976)

BÖLÜM 2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Araştırma Olanakları (Cihaz vb) :

Fen Edebiyat Fakültesi Bitki Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan Distile Su Cihazı (GFL), Terazi (Sartorius Analytic), Etüv (Nüve EN500), Otoklav (Web MLW), Pasteur Fırını (Kermanlar), Vorteks Tüp Karıştırıcısı (Nüve), Mikroskop (Olympus), Santrifüj (Sigma), Buzdolabı (Arçelik), Çalkalamalı Etüv (Edmund Bühler), pH Metre (WTW), Biyogüvenlik Kabini ve Çeker Ocak'tan faydalanılmıştır.

2.2. Kullanılan Besiyeri ve Kimyasallar

Nutrient Broth (Merck), Nutrient Agar (Merck), NaCl (Merck), $BaCl_2$, H_2SO_4.

2.2.1. Nutrient Broth (Merck)

Pepton...……...: 5 g

Et özütü…...…….....: 3 g

Distile su…….....: 1000 ml

pH……...: 7.0

121°C'de otoklavda 20 dakika steril edilmiştir (Bilgehan, 2004).

2.2.2 Nutrient Agar (Merck)

Pepton..……..: 5 g

Et özütü……..……: 3 g

Agar-agar……..……..: 12.0 g

Distile su…….…….....: 1000 ml

pH……... : 7.0

121 °C'de otoklavda 20 dakika steril edilmiştir (Bilgehan, 2004).

2. 3. Kullanılan Çözeltiler

% 0.85 Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi ve Mc Farland Solüsyonu Serisi.

2.3.1. % 0.85 Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi

NaCl……...: 85 g

Distile su……: 1000 ml

121°C'de otoklavda 20 dakika steril edilmiştir.

2.3.2 0.5 No'lu Mc Farland Çözeltisi

0.18 M H_2SO_4…….…….....:9.95 ml

0.048 M $BaCl_2$…….……....:0.05 ml

9.95 ml 0.18 M H_2SO_4 ve 0.05 ml 0.048 M $BaCl_2$ karıştırılarak 0.5 No'lu Mc Farland çözeltisi hazırlanmıştır (Bilgehan, 2004).

2.3.4. Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet Çözeltisi

Bu çalışmada 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500 mg/L'lik konsantrasyonlarında sodyum dimetil-ditiyokarbamet kullanılmıştır.

2.4. Kullanılan araçlar

- pH metre (Sartorius Professional Meter PT-10 P, Goettingen, Germany),
- Vorteks Tüp Karıştırıcısı (Fisons Whirlimixer),
- Hassas Terazi (Sartorius Analytic),
- Otoklav (Hirayama, HV-50),
- Pasteur Fırını (Kermanlar),
- Distile Su Cihazı (GFL),
- Buzdolabı (Arçelik),
- Otomatik Pipetler (Volac Digital Micropipeter/England),
- Güç Kaynağı (Ruhstrat VDE Normadain Germany, f=50Hz, SecV=0-250V, VA=2250VA) Voltaj aralığı: 0–220 V. Akım aralığı: 0–9 A,
- Biyogüvenlik Kabini (Tez-San).

2.5. Materyal

Bu çalışmada, tuzlanmış ve ıslatılmış derilerden izole edilerek API test yöntemi ile tanımlanan Gram pozitif (*Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterococcus avium* ve *Staphylococcus intermedius*) ve Gram negatif bakteri izolatları (*Enterobacter cloaceae* ve *Pseudomonas putida*) kullanılmıştır.

2.6. Metod

Çalışmamızın aşamaları aşağıdaki basamaklardan oluşmuştur.

1. Tuzlanmış ve ıslatılmış derilerden izole edilerek API test yöntemi ile tanımlanan Gram pozitif ve Gram negatif bakteri izolatlarının antibakteriyel test için hazırlanması,
2. Sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in farklı konsantrasyonlarının hem test bakterilerinin her biri hem de test bakterilerinin karışık kültürü üzerine antibakteriyel etkinliğinin disk difüzyon yöntemi ile test edilmesi,
3. Test bakterilerinin karışık kültürünün 1.0 A doğru ve 1.5 A alternatif elektik akımı ile inaktivasyonunun %3 NaCl ve organik madde içeren test ortamında araştırılması,
4. Test bakterilerinin karışık kültürünün sodyum dimetil-ditiyokarbametle (1500mg/L) inaktivasyonunun %3 NaCl ve organik madde içeren test ortamında araştırılması,
5. Test bakterilerinin karışık kültürünün 1.0 A doğru ve 1.5 A alternatif elektik akımı ve sodyum dimetil-ditiyokarbametle (1500mg/L) inaktivasyonunun %3 NaCl ve organik madde içeren test ortamında araştırılması,
6. Sonuçların İndirgenme Faktörü (İF) Değerlerinin Hesaplanması

2.6.1. Tuzlanmış ve Islatılmış Derilerden İzole Edilerek API Test Yöntemi ile Tanımlanan Gram pozitif ve Gram negatif Bakteri İzolatlarının Antibakteriyel Test İçin Hazırlanması

Çalışmamızda, tuzlanmış ve ıslatılmış derilerden izole edilerek API test yöntemi ile tanımlanan *Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloacae, Enterococcus avium, Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius* kullanılmıştır.

Skim milk besiyerinde stoklanmış olan test izolatları oda sıcaklığında çözdürülmüş ve

steril şartlar altında Nutrient Broth (NB) besiyerine ekilmiştir. 37^{o}C'de 48 saat üretildikten sonra bu izolatların her biri, ayrı bir Nutrient Agar (NA) besiyerine plağa çizim yöntemiyle ekilmiş ve 37 ^{o}C'de 24 saat etüvde üretilerek saf koloniler elde edilmiştir. Bu saf kolonilerden öze ile alınarak 0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonları içerisine konulmuş ve bakteri konsantrasyonları McFarland 0.5 No'lu bulanıklık tüpüne göre ayarlanmış (10^8 kob/ml) ve 1/10 oranında sulandırılmıştır (10^7 kob/ml).

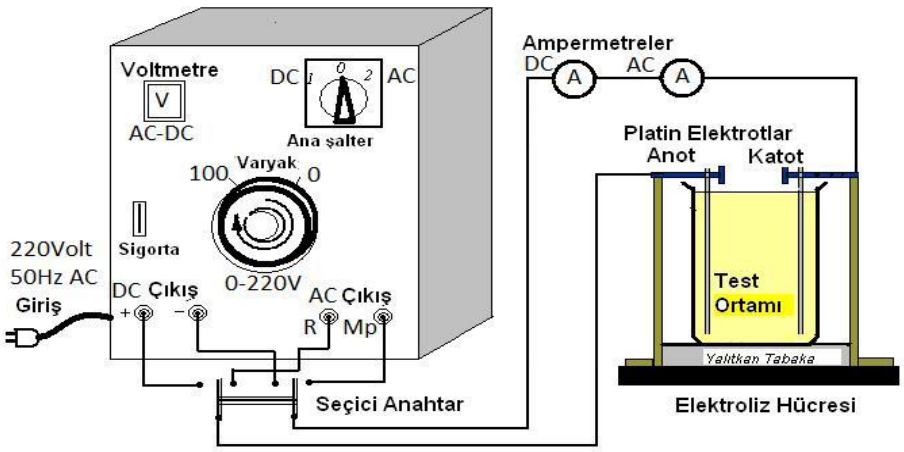
2.6.2. Sodyum Dimetil-Ditiyokarbamet'in Farklı Konsantrasyonlarının Hem Test Bakterilerinin Her biri Hem de Test Bakterilerinin Karışık Kültürü Üzerine Antibakteriyel Etkinliğinin Disk Difüzyon Yöntemi ile Test Edilmesi

Antibakteriyel diskler, antibakteriyel maddeye ve mikroorganizmaların üremesine olumsuz etkisi olmayan Whatman No:1 süzgeç kağıdı kullanılarak hazırlanmıştır. Kağıt delme zımbası ile 6 mm çaplı diskler kesilmiştir. Bu diskler otoklavda steril edilmiştir. Sodyum dimetil-ditiyokarbamet 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500 mg/L konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Mikropipet vasıtasıyla her bir konsantrasyondan 10µl alınarak disklere emdirilmiştir. McFarland 0.5 bulanıklık tüpüne göre (10^8 kob/ml) ayarlanan ve sonra 1/10 oranında sulandırılan (10^7 kob/ml) 100'er µL *Bacillus lentus*, *Aerococcus viridans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus avium*, *Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius* bakteri süspansiyonu ve bunların karışık kültürü, 15 cm çaplı steril cam petrilerdeki Nutrient agar besiyerine plağa yayma yöntemi ile ayrı ayrı ekilmiştir. Sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in farklı konsantrasyonlarını içeren diskler besiyeri üzerine yerleştirilerek besiyerleri 37^{o}C etüvde 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür.

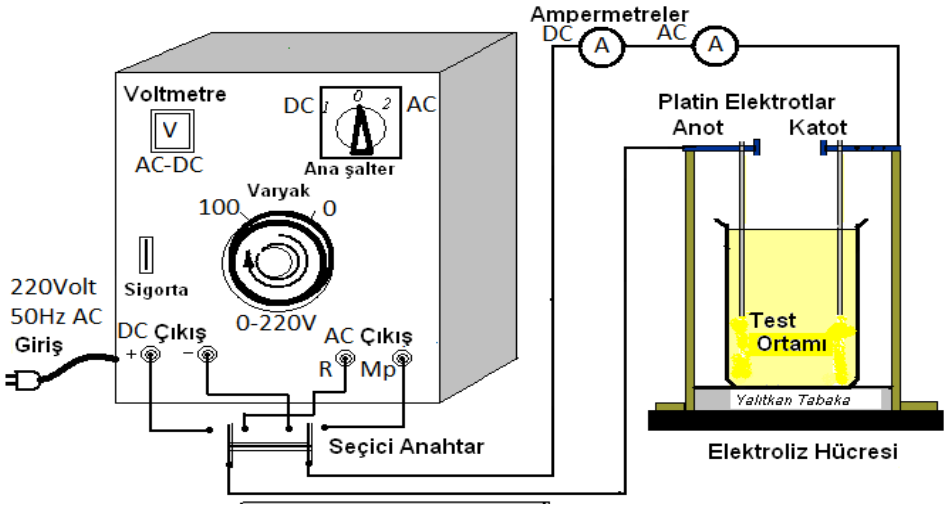
2.6.3. Test Bakterilerinin Karışık Kültürünün 1.0 A Doğru ve 1.5 A Alternatif Elektrik Akımı İle İnaktivasyonunun %3 NaCl ve Organik Madde İçeren Test Ortamında Araştırılması

Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloacae, Enterococcus avium, Pseudomonas putida, Staphylococcus intermedius bakterilerinin her biri % 0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonlarında McFarland 0.5 bulanıklık tüpüne göre (10^8

kob/ml) ayarlanmış ve 1/10 oranında sulandırılmıştır (10^7 kob/ml). Bu süspansiyonlarda eşit miktarlarda alınarak bakterilerin karışık kültürü hazırlanmıştır. Daha sonra bu süspansiyondan 20 ml alınarak 180 ml steril Nutrient Broth besiyeri ile steril bir beherde karıştırılmıştır (Bilgehan, 2004; Vandepitte, 2003). Deneye başlamadan önce 200 ml'lik bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak Nutrient Agar besiyerine direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarından 3 adet petri kabına ekim yapılmıştır. Ekim yapılan örnekler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Güç kaynağının platin elektrottan oluşan anot ve katot uçları behere daldırılarak 3 dakika 1.0 A doğru elektrik akımı uygulanmıştır. Uygulamanın ardından 3 dk beklenmiştir. Ardından 3 dk boyunca 1.5 A alternatif elektrik akımı uygulanmıştır ve 3 dakika beklenmiştir. Aynı işlem 3 kez tekrarlanarak, toplamda 12 dakika boyunca elektrik akımı uygulanmıştır. Elektrik akımı uygulamaları sırasında 12, 24, 36' ıncı dakikalarda sıvıdan 100 µl alınarak Nutrient Agar besiyerine direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarından her seferinde 3 petriye ekim yapılmıştır. 36 dakikalık bu işlemin sonrasında 30 dakika beklenmiştir. 66 dakikalık bu işlem sonrasında 12 dakikalık elektrik akımı uygulaması tekrar edilmiştir. Deneyin 78 dakikalık bu aşamasından sonra, 10 saat boyunca, her saat başı Nutrient Agar besiyerine direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarında 3 petriye ekim yapılmıştır. Ekim yapılan tüm petriler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Tüm petrilerin koloni sayıları seyreltme faktörleri ile çarpılarak 1 ml'deki bakteri sayısı hesaplanmıştır. Elektrik uygulamaları sırasında test ortamının sıcaklık, voltaj ve pH değerleri, bekletilme süreleri esnasında test ortamının sıcaklık ve pH değerleri belirlenmiştir. Deney toplamda 11 saat 18 dakikada tamamlanmıştır.



Şekil 2.1A Test Ortamlarının Direk Elektrik Akımı Uygulamasında Kullanılan Elektroliz Hücresi



Şekil 2.1B Test Ortamlarının Alternatif Elektrik Akımı Uygulamasında Kullanılan Elektroliz Hücresi

2.6.4. Test Bakterilerinin Karışık Kültürünün Sodyum Dimetil-ditiyokarbametle (1500mg/L) İnaktivasyonunun %3 NaCl ve Organik Madde İçeren Test Ortamında Araştırılması

Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloacae, Enterococcus avium, Pseudomonas putida, Staphylococcus intermedius bakterilerinin her biri % 0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonlarında McFarland 0.5 bulanıklık tüpüne göre (10^8 kob/ml) ayarlanmış ve 1/10 oranında sulandırılmıştır (10^7 kob/ml). Bu süspansiyonlarda eşit miktarlarda alınarak bakterilerin karışık kültürü hazırlanmıştır. Daha sonra bu süspansiyondan 20 ml alınarak 180 ml steril Nutrient Broth besiyeri ile steril bir beherde karıştırılmıştır (Bilgehan, 2004; Vandepitte, 2003). Deneye başlamadan önce 200 ml'lik bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak Nutrient Agar besiyerine direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarından 3 petriye ekim yapılmıştır ve bakteri sayısı belirlenmiştir. Ekim yapılan petriler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Karışımın üzerine 300 mg sodyum dimetil-ditiyokarbamet (1500 mg/L) eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır**.** Bu işlemin ardından 36. Dakika, 78. Dakikada ve 10 saat boyunca her saat başı, içinde Nutrient Agar besiyeri olan 3 petri kabına direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarında ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Tüm petrilerin koloni sayıları seyreltme faktörleri ile çarpılarak 1 ml'deki bakteri sayısı hesaplanmıştır.

2.6.5. Test Bakterilerinin Karışık Kültürünün 1.0 A Doğru ve 1.5 A Alternatif Elektrik Akımı ve Sodyum Dimetil-ditiyokarbametle (1500mg/L) İnaktivasyonunun %3 NaCl ve Organik Madde İçeren Test Ortamında Araştırılması

Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloaceae, Enterococcus avium, Pseudomonas putida, Staphylococcus intermedius' un dirençli suşlarının karışık kültürü steril % 0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonlarında McFarland 0.5 bulanıklık tüpüne göre (10^8 kob/ml) ayarlanmış ve 1/10 oranında sulandırılmıştır (10^7 kob/ml). Her bakteri süspansiyonundan eşit miktarda alınıp steril bir tüpte karıştırılarak karışık kültür hazırlanmıştır. Daha sonra bu süspansiyonlardan her deney için 20 ml alınarak % 3 NaCl içeren 180 ml Nutrient Broth besiyeri ile steril bir beherde ayrı ayrı karıştırılmıştır

(Bilgehan, 2004; Vandepitte, 2003). Deneye başlamadan önce 200 ml'lik bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak Nutrient Agar besiyerine direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarından 3 petriye ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Güç kaynağının platin elektrottan oluşan anot ve katot uçları behere daldırılarak 3 dakika 1 A doğru elektrik akımı uygulanmış, ardından 3 dk beklenmiştir. Daha sonra 3 dk boyunca 1.5 A alternatif elektrik akımı uygulanmış, ardından 3 dk beklenmiştir. Bu işlem 4 kez tekrarlanmıştır ve her 12, 24 ve 36' ıncı dakikalarda sıvıdan 100 µl alınarak, içinde Nutrient Agar besiyeri olan 3 petri kabına direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarında ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. 36 dakikalık bu işlemin sonrasında 30 dakika beklenmiştir. 66 dakikalık bu işlemin ardından, 12 dakikalık elektrik akımı uygulanmıştır. Test ortamından her basamak sonunda 100 µl alınarak, içinde Nutrient Agar besiyeri olan 3 petri kabına direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarında ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Elektrik akımı uygulanmış test ortamı içine 300 mg sodyum dimetil-ditiyokarbamet (1500 mg/L) eklenmiş ve karıştırılmıştır**.** 10 saat süreyle her saat başında test ortamından 100 µl alınarak Nutrient Agar besiyerine direkt, 10^2, 10^4 ve 10^6'lık dilüsyonlarından 3 petriye ekim yapılmıştır**.** Ekim yapılan petriler 24 saat 37^{o}C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Koloni sayıları seyreltme faktörleri ile çarpılarak 1 ml'deki bakteri sayısı hesaplanmıştır.

2.6.6. Sonuçların İndirgenme Faktörü (İF) Değerlerinin Hesaplanması

Deney sonrası bakteri sayısındaki azalmayı tespit edebilmek için aşağıdaki formül kullanılarak İF değeri hesaplanmıştır (Park ve ark., 2003; Birbir ve Birbir, 2006).

İF = İndirgenme Faktörü

$İF=\log_{10}n_{dö}-\log_{10}n_{ds}$

$n_{dö}$= deney öncesi test ortamındaki bakteri sayısı

n_{ds}= deney sonrası test ortamındaki bakteri sayısı

BÖLÜM 3

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda derilerde yaygın olarak bulunan Gram pozitif ve Gram negatif cinsleri test bakterileri olarak seçilmiştir. Daha önceki çalışmalarda derilerden en fazla *Staphylococcus* (115 izolat), *Bacillus* (111 izolat) ve *Enterococcus* (75 izolat), *Enterobacter* (66 izolat), *Pseudomonas* (59 izolat) ve *Aerococcus* (29) cinslerine ait bakteri türleri izole edilmiştir (Aslan ve Birbir, 2011; Aslan ve Birbir 2012). Araştırıcılar, *Enterobacter cloacae* (22 izolat), *Staphylococcus intermedius* (32 izolat), *Aerococcus viridans* (24 izolat), *Pseudomonas putida* (16 izolat), *Bacillus lentus* (15 izolat) ve *Enterococcus avium* (17 izolat) türlerini 10 adet tuzlanmış deri örneğinden izole ettiklerini belirtmişlerdir (Aslan ve Birbir, 2011; Aslan ve Birbir 2012). Bu nedenle, bu çalışmada derilerde yaygın olarak bulunan türlerden olan *Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloaceae, Enterococcus avium, Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius* türleri test bakterileri olarak kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalardan, *Aerococcus viridans, Enterobacter cloacae, Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius'un* proteolitik ve lipolitik aktivite gösterdiği, *Bacillus lentus*'un proteolitik aktivite gösterdiği ancak lipolitik aktivite göstermediği, *Enterococcus avium*'un proteolitik ve lipolitik aktivite göstermediği önceki çalışmalarda saptanmıştır (Aslan, 2009).

Çalışmamızda öncelikle bu test bakterilerinin her biri üzerine hem de bu bakterilerin karışık kültürü üzerine sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. Sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in konsantrasyonu arttıkça disk etrafında oluşan inhibisyon zon çapının da arttığı gözlemlenmiştir.

Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloacae, Enterobacter avium, Pseudomonas putida ve *Stapylococcus intermedius* izotlarında; 500 ile 7500 mg konsantrasyonları arasında inhibisyon zonu oluşmuştur. 500 mg konsantrasyon değeri tüm test mikroorganizmalarında 10 ile 15 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridan*s ve *Enterococcus avium* da 10 mm, en büyük zon ise *Bacillus lentus* ve *Pseudomonas putida' da* 15 mm olarak

görülmüştür. 1000 mg konsantrasyon değeri 10 ile 16 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans* ve *Enterococcus avium*' da 10 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius ve Bacillus lentus'* da 16 mm olarak görülmüştür. 1500 mg konsantrasyon değeri ise 10 ile 21 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda da en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 10 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius ve Pseudomonas putida'* da 21 mm olarak görülmüştür.

2000 mg konsantrasyon değeri 12 ile 21 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 12 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius* ve *Pseudomonas putida' da* 21 mm olarak görülmüştür. 2500 mg konsantrasyon değeri 13 ile 22 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 13 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius ve Pseudomonas putida' da* 22 mm olarak görülmüştür. Bu sonuçlara göre; sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in 500-2500 mg konsantrasyonlarına en duyarlı mikroorganizmanın *Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius* olduğu görülmüştür.

3000 mg konsantrasyon değeri 14 ile 23 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 14 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius'* da 23 mm olarak görülmüştür. 3500 mg konsantrasyon değeri 15 ile 24 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 15 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius'* da 24 mm olarak görülmüştür. 4000 mg konsantrasyon değeri 15 ile 25 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 15 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius'* da 25 mm olarak görülmüştür.

4500 mg konsantrasyon değeri 15 ile 25 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 15 mm, en büyük zon ise *Staphylococcus intermedius'* da 25 mm olarak görülmüştür. 5000 mg konsantrasyon değeri 16 ile 25 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 16 mm, en büyük zon ise *Enterococcus cloaceae, Enterococcus avium ve Staphylococcus intermedius'* da 25 mm olarak görülmüştür.

5500 mg konsantrasyon değeri 16 ile 28 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 16 mm, en büyük zon ise *Enterococcus avium'* da 28 mm olarak görülmüştür. 6000 mg konsantrasyon değeri 16 ile 32 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 16 mm, en büyük zon ise *Enterococcus avium'* da 32 mm olarak görülmüştür. 6500 mg konsantrasyon değeri 20 ile 32 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 20 mm, en büyük zon ise *Enterococcus avium'* da 32 mm olarak görülmüştür.

7000 mg konsantrasyon değeri 20 ile 32 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 20 mm, en büyük zon ise *Enterococcus avium*' da 32 mm olarak görülmüştür. 7500 mg konsantrasyon değeri de 20 ile 32 mm arasında zonlar oluşturmuştur. Bu konsantrasyonda en küçük zon *Aerococcus viridans*' da 20 mm, en büyük zon ise *Enterococcus avium*'da 32 mm olarak görülmüştür. Bu sonuçlara göre; sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in 3000-7500 mg konsantrasyonlarına en duyarlı mikroorganizmanın *Enterococcus avium* olduğu görülmüştür. Sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in tüm konsantrasyonlarına en dirençli mikroorganizmanın *Aerococcus viridans* olduğu saptanmıştır (Tablo 3.1).

Deri sanayinde mikroorganizmaların deriye vereceği zararı önlemek için sıklıkla kuaterner amonyum bileşikleri, izotiyazoller, halojenlenmiş organik bileşikleri (bronopol; 2-bromo-2nitro-propan-1.3-diol), tiyokarbametler, benzotiyazoller, gluteraldehitlerin kullanıldığı açıklanmıştır (Berber, 2009).

Tablo 3.1. Aktif içerik olarak % 41 sodyum dimetil-ditiyokarbamet içeren antibakteriyel maddenin farklı konsantrasyonlarının test bakterileri ve bu bakterilerin karışık kültürü üzerine oluşturduğu inhibisyon zonları (mm)

Antibakteriyel Konsantrasyonu mg/L	*Aerococcus viridans*	*Enterobacter cloaceae*	*Bacillus lentus*	*Enterococcus avium*	*Staphylococcus intermedius*	*Pseudomonas putida*	Karışık kültür
500	10	11	15	10	14	15	10
1000	10	13	16	10	16	15	10
1500	10	16	18	18	21	21	10
2000	12	17	20	18	21	21	12
2500	13	17	20	19	22	22	13
3000	14	18	22	22	23	22	14
3500	15	18	22	22	24	22	15
4000	15	20	22	23	25	22	15
4500	15	22	22	24	25	23	15
5000	16	25	23	25	25	23	16
5500	16	26	24	28	25	23	16
6000	16	26	25	32	27	25	16
6500	20	26	25	32	27	25	20
7000	20	26	25	32	28	25	20
7500	20	27	26	32	30	25	20

Bizim çalışmamızda sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in bakterisidal etkisi farklı suşlarda, farklı konsantrasyonlarda farklı zon çaplarının meydana gelmesiyle gözlemlenmiştir. Aynı zamanda test mikroorganizmaları antibakteriyel maddenin 500-7500 mg konsantrasyon değerlerine karşı da direnç geliştirmişlerdir. İnhibisyon zonları içerisinde test antimikrobiyallerine karşı dirençli koloniler gözlenmiştir. Bu bakterileri inaktive etmek için, direnç geliştiren *Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloaceae, Enterobacter avium, Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius* izolatlarının bulunduğu karışık kültüre 1.0 A doğru ve 1.5 A alternatif elektik akımı uygulanmış ve organik maddenin varlığında inaktivasyonu araştırılmıştır.

Tablo 3.2. Test bakterilerinin karışık kültürünün 1 A doğru ve 1.5 A alternatif elektik akımı ile inaktivasyonunun % 3 NaCl ve organik madde içeren sıvı test ortamında incelenmesi

Elektrik Uygulamaları ve Depolanma Süreleri	Voltaj (V)	Sıcaklık (^oC)	pH	Bakteri Sayısı (Kob/ml)	Bakteri Sayısı (Log_{10})	İndirgenme Faktörü (Log_{10})
D.Ö.	-	22	7	5.0×10^7	7.70	-
1. EA (12DK)	16.1	27	7	2.0×10^6	6.30	1.40
2. EA (12 DK)	14.0	30	7	1.2×10^6	6.08	1.62
3. EA (12DK)	12.8	33	7	5.0×10^5	5.70	2.00
30 DK BEKLETİLME		31				
4. EA (12 DK)	13.0	34	7	4.0×10^5	5.60	2.10
1. SAAT	-	30	7	8.0×10^4	4.90	2.80
2. SAAT	-	26	7	7.0×10^4	4.85	2.85
3. SAAT	-	24	7	4.0×10^4	4.60	3.10
4. SAAT	-	24	7	2.0×10^4	4.30	3.40
5. SAAT	-	24	7	1.4×10^4	4.15	3.55
6. SAAT	-	24	7	1.0×10^4	4.00	3.70
7. SAAT	-	24	7	7.2×10^3	3.86	3.84
8. SAAT	-	24	7	7.0×10^3	3.85	3.85
9. SAAT	-	24	7	5.2×10^3	3.72	3.98
10. SAAT	-	24	7	5.0×10^3	3.70	4.00

D.Ö.: Deney Öncesi; EA: Elektrik Akımı

% 3 NaCl ve organik madde içeren sıvı besiyeri içerisinde test bakterilerinin karışık kültürü *(Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloaceae, Enterobacter avium, Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius*) üzerine 3 dakika 1.0 A doğru elektrik akımı, ardından 3 dk bekleme, 3 dk boyunca 1.5 A alternatif elektrik akımı ve ardından 3 dakika beklenme sonucunda, toplamda 12 dakika boyunca elektrik akımı uygulaması 3 periyot halinde uygulandığında, 12, 24. ve 36. dakikaların sonunda İndirgenme Faktörü değerleri 1.40, 1.62 ve 2.00 Log_{10} olarak bulunmuştur. Bu sürelerde voltaj değerleri sırasıyla 16.1, 14.0 ve 12.8 olarak bulunmuştur. Sıcaklık değerleri ise

deney öncesi 22 iken, 12, 24. ve 36. dakikaların sonunda sırasıyla 27 ^{o}C, 30 ^{o}C ve 33 ^{o}C olmuştur. pH değerleri tüm deney esnasında 7 olarak tespit edilmiştir. 30 dk beklendikten sonra uygulanan 12 dakikalık elektrik akımı sonucunda ise İndirgenme Faktörü değeri 2.10 Log_{10} olarak saptanmıştır. Bu sürede voltaj değeri 13 olarak sıcaklık da 34 ^{o}C olarak ölçülmüştür. Tablo 3.2. de belirtildiği gibi, elektrik uygulamalarından sonra 10 saat boyunca her saat sonunda bakteri sayıları takip edilmiştir. Elektrik akımı uygulamaları ile zarar görmüş olan bakterilerin sayılarının bekletilme süreleri sonunda giderek azaldığı tespit edilmiştir. Son elektrik uygulaması sonunda $4x10^5$ kob/ml olan karışık kültüre ait bakteri sayısı 1 saatin sonunda $8x10^4$ kob/ml ve 10 saatin sonunda da $5x10^3$ kob/ml'ye düşmüştür. Sıcaklık değerleri bekletilme esnasında giderek düşmüş ve deney sonunda 24 ^{o}C olarak ölçülmüştür (Tablo 3.2).

2011'de, Doğru elektrik akımı ile elektrospin uygulamasının bakterileri inaktive edici etkisinin olduğu görülmüştür (Lee ve ark.,2011). 2013' de yapılan çalışmada, 1.5 A doğru elektrik akımı ve 2 A alternatif elektrik akımının ardışıl olarak uygulanması ile karışık kültürün bakteri sayısı 12 dakika da araştırıcılar tarafından önerilen, derilere zarar vermeyecek seviyeye (10^4 kob/ml) düşürülmüştür (Vural, 2013). Yapılan diğer bir çalışmada 1.5 A alternatif elektrik akımı *Enterobacter cloacae, Pseudomonas luteola* ve *Vibrio fluvialis* ile derilerden izole edilen Gram negatif bakterilerin karışık kültürünün öldürülmesinde kullanılmıştır. % 25 NaCI içeren sıvı ortamda bulunan bakteriler 1.5A alternatif elektrik akımının 15 dakika muamelesi ile yok edilmiştir. 1.5 A direkt elektrik akımının 15 dakikalık uygulamasında; 1 dakikada sıvı ortamda karışık kültür halindeki bakterilerin inaktive edildiği tespit edilmiştir. Sıcaklık artışı en fazla 6°C olmuştur (Birbir, et al., 2013).

Tablo 3.3. Test bakterilerinin karışık kültürünün test antibakteriyeli (300 mg /200ml) ile inaktivasyonunun %3 NaCl ve organik madde içeren test ortamında araştırılması

Test Uygulamaları ve Depolanma Süreleri	Sıcaklık (^oC)	pH	Bakteri Sayısı (kob/ml)	Bakteri Sayısı (Log_{10})	İndirgenme Faktörü (Log_{10})
D.Ö.	22	7	$5.0x10^7$	7.70	-
36 DK	24	7	$1.0x10^7$	7.00	0.70
78DK	24	7	$5.0x10^6$	6.70	1.00
1.SAAT	24	7	$4.4\ x10^6$	6.64	1.06
2.SAAT	24	7	$3.9\ x10^6$	6.59	1.11
3.SAAT	24	7	$1.0\ x10^6$	6.00	1.70
4.SAAT	24	7	$3.6x10^5$	5.56	2.14
5.SAAT	24	7	$3.2\ x10^5$	5.50	2.20
6.SAAT	24	7	$2.0\ x10^5$	5.30	2.40
7.SAAT	24	7	$1.7x10^5$	5.23	2.47
8.SAAT	24	7	$1.0\ x10^5$	5.00	2.70
9.SAAT	24	7	$9.0x10^4$	4.95	2.75
10.SAAT	24	7	$7.0x10^4$	4.85	2.85

Çalışmamızda sodyum dimetil-ditiyokarbamet'den 300 mg alınarak %3 NaCl, organik madde ve test bakterilerinin karışık kültürünü içeren 200 ml'lik Nutrient Broth besiyerine ilave edilmiştir. Sıcaklık değerleri ise deney öncesi 22^oC iken, deney süresince 24^oC'de sabit olduğu görülmüştür. pH değerleri tüm deney esnasında 7 olarak tespit edilmiştir Test antimikrobiyali ilavesinden sonra 36. ve 78. dakikalar sonunda karışık kültüre ait indirgenme faktörü değerleri 0.70 Log_{10} ve 1.0 Log_{10} olarak bulunmuştur. Tablo 3.3. de belirtildiği gibi, 78 dakikalık antibakteriyel uygulamasında sonra 10 saat boyunca her saat sonunda bakteri sayıları takip edilmiştir. Bakteri sayılarının bekletilme süreleri esnasında yavaşça azaldığı belirlenmiştir ve 10 saatlik bekletilme sonunda karışık kültüre ait indirgenme faktörü değeri 2.85 Log_{10} olarak

bulunmuştur. Araştırmacılar derilerde zarar oluşmaması için ıslatma sıvılarındaki bakteri sayılarının 10^5 kob/ml'den az olması gerektiği önemle vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda da bu istenilen değere, karışık kültür üzerine test antimikrobiyalinin ilavesinden 10 saat sonra ulaşılmıştır. $9.0x10^4$ kob/ml bakteri sayısına indirgendiğinde ulaşılmıştır.

2006'da yapılan bir çalışmada, derilerde bulunan mikroorganizmaları ve zararı önlemek için Bronopol'ü (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol) ıslatma sıvılarında bakterisit olarak kullanmışlardır (Muthusbramanian ve Mitra, 2006).

2010' da yapılan çalışmada, Berber ve arkadaşları, ana ıslatma sıvılarında bulunan bakteriler üzerine didesil dimetil amonyum klorid içeren kuaterner amonyum bileşiğinin etkisini 10 dk, 30 dk, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 5 saat, 6 saat, 7 saat ve 8 saat sürelerle incelemişlerdir. Araştırıcılar antimikrobiyalin deri sanayinde önerilen kullanım konsantrasyonunun (0.4 g/L) ıslatma sıvılarında bulunan bakterileri kontrol edemeyeceğini açıklamışlardır. Bu nedenle bu çalışmada test bakterisitinin kullanım konsantrasyonu 0.8 g/L'ye yükseltilmiş ve 10 dk temas süresinden sonra bakteri sayısında 2 log'luk bir azalma saptanmıştır. Islatma sıvısında bulunan *Staphylococcus* türlerinin sayılarının bakterisit ile muameleden 10 dk sonra 10^5'den 10^3 kob/mL'ye, 180 dk sonra ise 10^4'den 10^3 kob/mL'ye düşürüldüğü açıklanmıştır. *Enterobacteriaceae* familyasına ait olan bakteri türlerinin sayılarının kontrol altına alındığı (10^3 kob/mL) ve 6 saat boyunca bu sayının sabit kaldığı açıklanmıştır. 7. saatin sonunda ise bakteri sayısında 1 log'luk artış olduğu görüldüğü açıklanmıştır. *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerin toplam sayısının ise 4 saat boyunca değişmeden kaldığı (10^2) ve ıslatma işleminin sonunda 1 log'luk artış gösterdiği bildirilmiştir (Berber ve Birbir, 2010).

Tablo 3.4. Test bakterilerinin karışık kültürünün 1 A doğru ve 1.5 A alternatif elektik akımı ve test antimikrobiyali ile inaktivasyonunun %3 NaCl ve organik madde içeren test ortamında incelenmesi

Elektrik Uygulamaları, Antibakteriyel Uygulanması ve Depolanma Süreleri	Voltaj (V)	Sıcaklık (^oC)	pH	Bakteri Sayısı (kob/ml)	Bakteri Sayısı (Log_{10})	İndirgenme (Log_{10})
		22	7	$5.0x10^7$	7.70	
1. EA (12DK)	15.7	27	7	$2.3x10^6$	6.36	1.34
2. EA (12 DK)	13.8	30	7	$1.1\ x10^6$	6.04	1.66
3. EA (12DK)	13.9	34	7	$6.0x10^5$	5.78	1.92
30DK BEKLETİLME						
4. EA (12 DK)	15.0	35	7	$5.0x10^5$	5.70	2.00
300 mg/ 200 ml (1500mg/L) Sodyum dimetil-ditiyokarbamet						
1. SAAT		30	7	$2.0x10^1$	1.30	6.40
2. SAAT		27	7	$1.0x10^1$	1.00	6.70
3. SAAT		24	7	0	0	7.70
4. SAAT		24	7	0	0	7.70
5. SAAT		24	7	0	0	7.70
6. SAAT		24	7	0	0	7.70
7. SAAT		24	7	0	0	7.70
8. SAAT		24	7	0	0	7.70
9. SAAT		24	7	0	0	7.70
10. SAAT		24	7	0	0	7.70

% 3 NaCl ve organik madde içeren sıvı besiyeri içerisinde test bakterilerinin karışık kültürü *(Bacillus lentus, Aerococcus viridans, Enterobacter cloaceae, Enterobacter avium, Pseudomonas putida* ve *Staphylococcus intermedius*) üzerine 3 dakika 1.0 A

doğru elektrik akımı, ardından 3 dk bekleme, 3 dk boyunca 1.5 A alternatif elektrik akımı ve ardından 3 dakika beklenme sonucunda, toplamda 12 dakika boyunca elektrik akımı uygulaması 3 periyot halinde uygulandığında, 12, 24. ve 36. dakikaların sonunda İndirgenme Faktörü değerleri 1.34, 1.66 ve 1.92 Log_{10} olarak bulunmuştur. 30 dk beklendikten sonra uygulanan 12 dakikalık elektrik akımı sonucunda ise İndirgenme Faktörü değeri 2.00 Log_{10} olarak saptanmıştır. Bu sürelerde voltaj değerleri sırasıyla 15.7, 13.8, 13.9 olarak bulunmuştur. Sıcaklık değerleri ise deney öncesi 22 iken, 12, 24. ve 36. dakikaların sonunda sırasıyla 27 ^{o}C, 30 ^{o}C ve 34 ^{o}C olmuştur. Deneyin sonunda ise sıcaklık değerleri 24^{o}C'ye düşmüştür. pH değerleri tüm deney esnasında 7 olarak tespit edilmiştir. Elektrik akımı uygulamasından sonra, 300 mg Sodyum Dimetil-ditiyokarbamet 200 ml test ortamına eklendiğinde karışık kültüre ait bakteri sayısı hızla düşmüştür. Elektrik akımı uygulamaları sonunda $5.0x10^{5}$ kob/ml olan karışık kültür bakteri sayısı antibakteriyel ile muamele edildiğine 1 saatin sonunda $2x10^{1}$ kob/ml olmuştur (İndirgenme Faktörü 6.40 Log_{10}). 2 saatin sonunda ise bakteri sayısının $1x10^{1}$ kob/ml olarak bulunmuştur (İndirgenme Faktörü 6.70 Log_{10}). Üçüncü saatin sonunda tüm test bakterileri ölmüştür (İndirgenme Faktörü 7.70 Log_{10}). Çalışma sonuçlarımıza göre elektrik akımı uygulamaları ile zarar görmüş bakteri hücrelerinin içerisine antibakteriyelin hızla nüfuz ederek bakterileri hızlıca öldürdüğü saptanmıştır.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

Bu çalışma; deri endüstrisinde hasara neden olan bakteriler üzerine 3 dakika 1A, 3 dakika 1.5 A elektrik akımının 4 kez ardışıl olarak uygulanması sonucu elektrik akımı ve test antibakteriyelinin inaktivasyon etkisini incelemek için yapılan çalışmadır. Çalışmamızda, test bakterilerinin her biri üzerine test antibakteriyel maddesinin etkisi incelenmiştir ve test bakterilerinin karışık kültürlerinin doğru ve alternatif elektrik akımına ardışıl olarak maruz bırakılması sonucu bu bakterilerin sayılarının oldukça kısa sürede deriye zarar vermeyecek sayıya düşürüldüğü belirlenmiştir.

Sadece elektrik akımı uygulamalarında, zarar görmüş olan bakterilerin sayıları 10 saatlik bekletilme süreleri sonunda giderek azalmış ve deney sonunda $5x10^3$ kob/ml'ye düşmüştür. Islatma sıvılarındaki bakteri sayılarının 10^5 kob/ml'den az olması gerektiğinden bu istenilen değere elektrik uygulamalarından sonra 1 saat bekletilme sonucunda yani 2 saat 18 dk sonunda ulaşılmıştır. Bu sürede İndirgenme Faktörü ise 2.80 Log_{10} olarak tespit edilmiştir. Deneyin sonunda İndirgenme Faktörü ise 4.00 Log_{10} olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda sodyum dimetil-ditiyokarbamet'in litrede 1500 mg miktarıyla , %3 NaCl içeren test ortamındaki test bakterilerinin karışık kültürleri, 78. dakikada $5.0x10^6$ kob/ml bakteri sayısına indirgenmiştir. Islatma sıvılarındaki istenilen değere, 10 saat 18 dakika sonra ulaşılmıştır. Deneyin sonunda ise İndirgenme Faktörü 2.85 Log_{10} olarak belirlenmiştir.

Bakterilerin karışık kültürü üzerine elektrik akımı ve antibakteriyel uygulandığında test bakterilerinin 3 saat içerisinde tamamen öldüğü saptanmıştır ve indirgenme faktörü 7.70 olarak belirlenmiştir. Islatma sıvılarındaki istenilen değere ise bu uygulamada 2 saat daha kısa sürede ulaşılmıştır. 78 dakika da İndirgenme Faktörü 2.0 Log_{10} iken 2 saat 18 dk da 6.40 Log_{10} olmuştur.

Elektrik akımıyla birlikte antibakteriyel maddenin kullanılması bakterilerin hızlı bir şekilde öldürmüştür. Bu yöntemle kimyasal kullanımına olan gereksinim azalacak ve bakterilerin kimyasallara karşı geliştirebileceği direnç engellenebilecektir. Böylelikle plazmid aracılığıyla başka bakterilere de direnç geni geçemeyecektir. Kimyasalların doğada birikmesinin önüne geçilebilecek, çevre sorunları azalacak, popülasyon dengesi ve insan sağlığı korunabilecektir. Elektrik akımı kullanımı, daha az kimyasal madde gerektirdiğinden, pratik, ucuz ve etkili bir yöntem olarak deri endüstrisine ve ülke ekonomisine katkılarda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Akbulut,U., (2012) Deri Tabaklamanın Sırlarını Sümerlerden Öğrendik.
2. Akpolat, C., Ventosa, A., Birbir, M., Sanchez-Porro, C., & Caglayan, P. (2015) Molecular identification of moderately halophilic bacteria and extremely halophilic archaea isolated from salted sheep skins containing red and yellow discolorations. *Journal of the American Leather Chemists' Association*, *110*(7), 211-220.
3. Anderson, A.K., Finkelstein, R., (1919). A Study of the Electropure Process of Treating Milk. Journal of Dairy Science, 2, 374-406.
4. Bailey, D. G.; Birbir, M. (1993) A Study of the Extremely Halophilic Microorganisms Found on Commercially Brine-cured Cattle Hides. JALCA, 88, 285-293.
5. Bailey, D. G., Birbir, M., (1996) The Impact of Halophilic Organisms on the Grain Quality of Brine Cured Hides. J. Amer. Leather Chem. Ass. 91, 47-51.
6. Bayramoğlu, E.; Uluç D.; Yamamoto G. (2009) Deri Fabrikalarında Mikroorganizma Kontrolü ve Doğru Bilinen Yanlışlar. Cilt: 07 Sayı: 2 Sayfa: 1-7.
7. Başaran, B., İşcan, M., Bitlisli, O. B., (2004). Deri Üretiminde Kullanılan Zararlı Kimyasallar ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. I. Ulusal Deri Sempozyumu, İzmir, Türkiye. 379-398.
8. Beattle, J.M., Lewis, F.C., (1925). The Electric Current (Apart from the Heat Generated). Bacteriological Agent in the Sterilization of Milk and Other Fluids, Journal of Hygiene, 24, 123-127.
9. Bektaş, B., (2003) Deri Ürünleri İhracat İmkanları. İGEME, Ankara.
10. Bergmann, M., (1929) The Red Discoloration of Salted Hides and on Salt Stains. Journal of the İnternational Society of Leather Trades Chemists. Vol: XIII. 599-612.
11. Borden, A. J., Mei, H. C., Busscher, H. J., (2004). Electric-Current-İnduced Detachment of Staphylococcus Epidermidis Strains From Surgical Stainless Steel. Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials, 68B (2), 160-164.
12. Bilgehan, H.(2004) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 4. Baskı 35-434.

13. Bilgin, Y. (2006) *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus aureus* Suşlarında Çeşitli Aminoglikozidlerin Duyarlılıklarının Araştırılması. *Uzmanlık Tezi*, T.C. Sağlık Bakanlığı, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye, 13-23.
14. 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, İstanbul, Türkiye, 1-92.
15. Birbir, M.(1997) Investigation of Salted-Cured France and Russian Hides for Halophilic Bacteria. Journal of Turkish Microbiological Society, 27, 68-73.
16. Birbir, M., Ilgaz, A. (1996) Isolation and Identification of Bacteria Adversely Affecting Hide and Leather Quality. Journal of The Society of Leather Technologists and Chemists,80, 147-153.
17. Birbir, M., Bailey, D.G. (2001) Controlling the Growth of Extremely Halophilic Bacteria on Brine Cured Cattle Hides. J. Soc. Leather Tecnol. Chem., 84, 201-204.
18. Birbir, M.; Kalli, N.; Johannson, C. (2002) Examination of Salt Quality of Şereflikoçhisar Lake Used in the Turkish Leather Industry. Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists,86, 112-117.
19. Bitlisli, B. O., Karavana, H.A., Başaran, B., Sarı, O., Yasa, I., Birbir, M., (2004). The Effect of Conservation Defects on the Suede Quality of Double-Face. The Journal of the American Leather Chemists Association,99 (12), 494-501.
20. Boone, D. R., Garrity, G. M., Castenholz, R. W., Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T., (2011). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Firmicutes.
21. Borden, A.J., Werf, H., Mei, H.C., Busscher, H.J. (2004) Electric Current-Induced Detachment of Staphylococcus Epidermis Biofilms from Surgical Stainless Stell. Applied and Environmental Microbiology, 6871-6874.
22. Cengiz, N. (2002) Deri Sanayiinde Kullanılan Kimyasalların işçi ve çevre sağlığı Üzerine Etkileri, Kocatepe Tıp Dergisi, 3, 09-21.
23. Christensen, J. J., Korner, B., Casals, J. B., Pringler, N., (1996). Aerococcus-Like Organism: Use of Antibiograms for Diagnostic and Taxonomic Pırposes. J. Antimicrob. Chemother., 38, 253-258.

24. Cloete, T. E., (2003) Resistance Mechanisms Of Bacteria To Antimicrobial Compounds. International Biodeterioration & Biodegradation. 51, 277-282.
25. Colman, G., (1967). Aerococcus-Like Organisms İsolated from Human İnfections. Journal of Clinical Pathology, 20 (3), 294.
26. Cooper, W., Gallaway, A. C. (1974) Significance of Bacterial Growth Rates. Tk Journal of the Society of Leatr Teclogists ar Cmists., Vol: 58, 25.
27. Çetinkaya, F.; Çetinkaya Y. (2010) Derinin Tabaklanması İşleminde Maskeleme Maddeleri Kullanımının Krom Alımı Üzerine Etkisinin Araştırılması, 40-47, 2010.
28. Çıtak, S.; Can N. (2010) Farklı Sıcaklık Ortamında Bekletilen Kıyma Örneklerinde Gram Negatif Psikrofil Mikroorganizmaların Dağılımı ve Proteolitik Aktiviteleri. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, Cilt 30, Sayı 1, 241-251.
29. Dahl, S., (1956). Prevention of Microbiological Deterioration of Leather. J. Amer. Leather Chem. Ass. 51, 117.
30. Demir, M., Ocak, B., Yoldaş, A., Özzevtçi, E., (2000) İmmünizasyon Sistemi ve Deri Özellikleri Üzerine Etkisi. Diploma Tezi, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Deri Teknolojisi Bölümü, İzmir, Türkiye.
31. Devriese, L.A., Hommez, J., Laevens, H., Pot, B., Vandamme, P., Haesebrouck, F., (1999). İdentification of Aesculin-Hydrolyzing Streptococci, Lactococci, Aerococci and Enterococci from Sublinical İntramammary İnfections in Dairy Cows. Vet. Microbiol. 70, 87-94.
32. Dölek, N. (2013) Doğru ve Alternatif Elektrik Akımının Ardışıl Olarak Gram Pozitif ve Gram Negatif Bakterilere Uygulanmasının Etkilerinin Araştırılması.
33. Dress, K. P., Abbaszadegan, M., Maier, R.M. (2002) Comparative Electrochemical Inactivation of Bacteria and Bacteriophage. Water Research, 37, 2291-2300.
34. Er, H., (2004). Avrupa Birliği Pazarının Türk Deri Sektörü İçin Önemi ve Özellikleri. I. Ulusal Deri Sempozyumu, 7-8 Ekim, İzmir.
35. Green, H. S., (1945) Report on the Microbiological Flora and Sterilization of Used Shoes. The Journal of the American Leather Chemists Assoc. Vol: XL, No: 3, 96-109.
36. Hajek, V. (1976) *Staphylococcus intermedius*, a New Species Isolated from Animals. International Journal Of Systematic Bacteriology, 1, 401-408.
37. Harmancıoğlu, M., Dikmelik, Y., (1993). Ham Deri Yapısı, Bilesimi, Özellikleri. Özen Ofset, İzmir.

38. Harris D.L., Mahapatra, A.K., Jones, B.L., Kannan, G. (2011) Efficacy of low–voltage AC for inactivating surface adherent *Escherichia coli* O157:H7 on beef. International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health, 4, 214-224.
39. Heidemann, E. (1993) Hide Preservation and Hide Defect of from Insufficient Curing. Fundamentals of Leather Manufacture, Eduard Roether KG, 165-217.
40. ISO, Deri ve Deri Ürünleri İmalatı Sanayi Sektörü Raporu, (2015) ISBN: 978-605-137-450-5.
41. İnceoğlu, T., Binicioğlu, A. N., Ersöz, P., (1997) Biosidler ve Deri İşlem Basmaklarındaki Kullanımları. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir, Türkiye.
42. Jørgensen, P.; Tangney M.; Pedersen P., Hastrup S.; Diderichsen B. ve Jørgensen S. (2000) Cloning and Sequencing of an Alkaline Protease Gene from *Bacillus lentus* and Amplification of the Gene on the *B. lentus* Chromosome by an Improved Technique. Applied and environmental microbiology, Feb. 2000, p. 825–827.
43. Jackman, S.; Maini, G.; Sharman, A.; Knowles, C. (1999) The effects of direct electric current on the viability and metabolism of acidophilic bacteria. Enzyme and Microbial Technology, Volume 24, p. 316-324.
44. Kallenberger, W.E., (1984) Halophilic Bacteria in Brine Curing. J. Amer. Leather Chem. Ass., 79, 104-114.
45. Karaboz, İ., (1994) Deri Mikrobiyolojisi Ders Teksiri. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi.
46. Karaboz, İ., Gülümser, G., Bayramoğlu, E. E., (2003) Tabakhanelerde Depolama Sırasında Gelişen Bazı Fungusların Koruma Piklesi ve Kromla Tabaklama Aşamasında Deride Oluşturdukları Pigmentasyonun İncelenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi., 40(2), 129-136.
47. Kerbaugh, M. A., Evans, J. B., (1968). Aerococcus Viridans in the Hospital Enviroment. Apll. Micobiol. 16, 519-523.
48. Kılıçoğlu, S., (1991). Ham dericilik Araştırma Enstitüsü Yayınları. No:6, 65, Pendik.
49. Li, X-G., Cao, H-B., Wu, J-C., Yu, K-T. (2001) Inhibition of the Metabolism of Nitrifying Bacteria by Direct Electric Current. Biotechnology Letters,23, 705-709.
50. Linder, W., Neuber, H. U., (1990). Preservation in the Tannery. International Biodeteriation, 26, 195-203.
51. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J., (1997). Microbial Growth. In Brock Biology of Microorganisms (8th. Ed). Prentice Hall International, Inc. 149-172.

52. Madigan, T., Martingo, J. M., (2006) Brock; Biology of Microorganisms, 11th Edition, Pearson Education Inc., Upper Saddle River, 274-276, 480-498.
53. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., Clark, D.P. (2012) Brock Biology of Microorganisms, 13th Edition.
54. Mahapatra, A. K., Harrisa, D. L., Nguyena, C. N., Kannana, G., (2011). Reduction of Escherichia Coli O157:H7 on Beef Surfaces Using Low-Voltage Direct Electric Current And The İmpact on Sensory Properties. Journal of Electrostatics, 69 (1), 30-35.
55. Mahoudeau, I.; Delabranche X., Prevost G., Monteil H. ve Piemont Y. (1997) Frequency of Isolation of *Staphylococcus intermedius* from Humans, Journal of Clinical Microbiology, 2153–2154.
56. Milli Eğitim Bakanlığı, (2011) Alternatif Akım Esasları, Elektrik-Elektronik Teknolojisi.
57. Milli Eğitim Bakanlığı, (2011) Ham Derileri Yumuşatmaya Hazırlama**,** Kimya Teknolojisi, Ankara.
58. Milli Eğitim Bakanlığı, (2008) Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi**,** Kimya Teknolojisi, Islatmaya Hazırlık.
59. Mitchel, J. W., (1987). Prevention of Bacterial Damage on Brine Cured and Fresh Cattlehides. Journal of American Leather Chemists Association, 82, 372-383.
60. Naylor, G. R. E., (1985) Hides, Skin İmprovement in Developing Countries. Food and Agricultural Organzization of teh United Nation. Bultein 67.
61. O'Flaherty, F., Lollar, M. R., (1953) The Practice of Hides Curring. The Leather Manufacturer. No:8, 24
62. O'Flaherty, F., (1960). Brine Cure of Hides . Leather Manufacture. No: 6, 20
63. O'Flaherty, F., Roddy, W.T. (1965) The Chemistry and Technology of Leather. Volume IV-Evaluation of Leather, Reinhold Publishing Corporation, The Science Press, Inc. Ephrata: Pennsylvania.
64. Orlita, A., (2004). Microbial Biodeterioration of Leather and its Control: a Review. International Biodeterioration & Biodegradation, 53, 157-163.
65. Özdemir, M., Kayabaşı, N., (2007) Geçmişten Günümüze Dericilik., 1. Basım ISBN:978751732705, 15, Ankara.

66. Park, J-C., Lee, M.S., Lee, D. H., Park, B. J., Han, D-W., Uzawa, M., Takatori, K. (2003) Inactivation of Bacteria in Seawater by Low-amperage Electric Current. Applied and Environmental Microbiology,69, 2405-2408.
67. Pfleiderer, E., Reiner, R., (1988). Microorganisms in Processing of Leather in Biotechnology. Rehm, H.J.; Reed, G.Eds; VCH Weinheim, Germany, 66, 729-743.
68. Prescott L.M., Harley J.P. ve Klein, D.A. , (2002) Microbiology. 5th edition, The McGraw-Hill Companies, 487-550.
69. Reeder, F., (1999) Modern Beamhouse Procedures: Soaking and Liming. In: Leafe MK (ed) Leather Technologists Pocket Book. Society of Leather Technologists and Chemists, United Kingdom, 23-35.
70. Robertson, M. E., (1948). Micro-organizma in Leather Manufacture and Their Control. Progress in Leather Science. 1920-1945.
71. Roddy, W. T., (1963). Relationship Between Hide Deterioration and Leather Defects Proceedings of the Fifteenth Research Conference, 45-52.
72. Russell, A.D., (2001) Principles of Antimicrobial Activity and Resistance. In Disinfection, Sterilization and Preservation, 5th Edition, Block, S.S.ed.; Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 31-55.
73. Sanayi Genel Müdürlüğü, (2010) Tekstil, Hazır Giyim, Deri ve Deri Ürünleri Sektörleri Raporu, Ankara.
74. Sarı, Ö., Eke Bayramoğlu, E., (2004) Deri İşetmelerinde Karşılaşılan Bazı Fungal Sorunlar ve Ortam Dezenfeksiyonun Önemi. I. Ulusal Deri Sempozyumu, 7-8 Ekim, İzmir.
75. Swanson, H., Cutts, E., Lepow, M., (1996). Penicillin-Resistant Aerococcus Viridans Bacteremia in a Child Receiving Prophylaxis for Sickle-Cell Disease. Clinical İnfectious Diseases, 22 (2), 387-388.
76. Tancous, J. J., (1972) A Study of Purple Color on Flash Side of Salt-Cured Hide. JALCA. , Vol: LXVII, No: 8, 344-359.
77. Tancous, J. J., Jayasımhulu, K., (1973) Changes in Steerhide Composition Resulting from Autolysis. Part II. Effects of Enzyme Inhibitors. JALCA. , Vol: LXVII, No: 4
78. Tancous, J. J., (1975) Rawstocks, JALCA., Vol: LXX. No: 7.
79. Tancous, J. J., (1986). Skin and Hide Leather Defects. USA, 363.

80. Thorstensen, T.C., (1993). Practical Leather Technology (4th.ed.). Kriger Publishing Company Krigerdrive, Malabar, Florida, 340
81. Toptaş, A., (1993) Deri Teknolojisi. D.Ü. Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu. Sade Ofset, İstanbul.
82. Toptaş, A., (2004) Deri İşlentisinde Hata Kaynakları. Sade Ofset Matbaacılık, İstanbul.
83. Türkiye Cumhuriyeti Ekonomi Bakanlığı, Deri ve Deri Mamulleri Sektör Raporları, 2014.
84. Valle, A., Zanardini, E., Abbruscato, P., Argenzio, P., Lustrato, G., Ranalli, G., Sorlini, C., (2007). Effects of Low Electric Current (LEC) Treatment on Pure Bacterial Cultures. Journal of Applied Microbiology, 103(5), 1376-85.
85. Vandenesch, F., Celard M., Arpin D., Bes M., Greenland T., Etienne J. (1995) Catheter-Related Bacteremia Associated with Coagulase-Positive *Staphylococcus intermedius.* 2508–2510.
86. Vivian, G.W., (1969) The Preservation of Hides and Skins Against Bacterial Damage. J. Amer. Leather Chem. Ass., 64 (10), 489.
87. Weiss, E.F., Thornton, R.L., (1984) Growth and Control of Microbiological Activity During Hide Curing Process. Buckman Laboratories Inc., 18.
88. Yakalı, T., Dikmelik, Y., (1993) Deri Teknolojisi, Yaş İşlemler Sepici Şirketler Topluluğu. Özen Ofset, İzmir.
89. Yakalı,T., Dikmelik, Y., (1994) Deri Teknolojisi, Yaş İşlemler. Özen Ofset, İzmir.
90. Ye, I., Yang, H., Kim, H.K., Li, Y. (2001) Inactivation of *Listeria monocytogenes* in Recirculated Brine for Chilling Thermally Processed Bacon Using an Electrochemical Treatment System. Journal of Food Science,66 729-733.
91. Zvitov, R., Zohar-Perez, C., Nussinovitch, A.(2004) Short-Duration Low-Direct-Current Electrical Field Treatment Is a Practical Tool for Considerably Reducing Counts of Gram-Negative Bacteria Entrapped in Gel Beads. Applied and Environmental Microbiology, 70(6), 3781-3784.
92. http://www.micbio.wzw.tum.de/cms/docs/Stammsammlung/Foto%20Bibliothek%20Bacillus.pdf, (Erişim Tarihi: Ekim,2013)
93. http://www.acikbilim.com/2013/07/dosyalar/laboratuvardan-yaralarin-uzerine-yapay-deri.html, Erişim Tarihi 19.11.2014.

94. http://nissan.blogcu.com/2-islatma-ve-kireclik-islemleri/2733474, Erişim Tarihi: Eylül, 2012.
95. http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/ Erişim Tarihi: Nisan, 2015.
96. http://www.meslekidersler.com/ders-notlari/ayakkabi-saraciye-ders-notlari/deri-dericilik.html, Erişim Tarihi: 11.03.2014.
97. http://www.iso.org.tr, Erişim Tarihi: 09.12.2015.
98. http://dericilik.blogcu.com/deri-teorisi/2313609, Erişim Tarihi: Haziran, 2012.
99. http://hbogm.meb.gov.tr/MTAO/2ElektrikBilgisi/unite03.pdf, Erişim Tarihi: 2011.

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. Aktif içerik olarak % 41 sodyum dimetil dithiocarbamet içeren antimikrobiyal maddenin farklı konsantrasyonlarının test bakterileri ve bu bakterilerin karışık kültürü üzerine oluşturduğu inhibisyon zonları (mm) **39**

Tablo 3.2. Test bakterilerinin karışık kültürünün 1 A doğru ve 1.5 A alternatif elektik akımı ile inaktivasyonunun % 3 NaCl ve organik madde içeren sıvı test ortamında incelenmesi **40**

Tablo 3.3. Test bakterilerinin karışık kültürünün test antibakteriyeli (300 mg/200ml) ile inaktivasyonunun %3 NaCl ve organik madde içeren test ortamında araştırılması **42**

Tablo 3.4. Test bakterilerinin karışık kültürünün 1 A doğru ve 1.5 A alternatif elektik akımı ve test antimikrobiyali ile inaktivasyonunun %3 NaCl ve organik madde içeren test ortamında incelenmesi **44**