

İNDİGO (*Indigofera tinctoria* L.) BITKISI VE SIVICAM (SiO₂) KARIŞIMLARININ ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTESİ VE AĞAÇ MALZEME YÜZEYLERİNDE ÇÜRÜKLÜK MANTARLARINA KARŞI KORUYUCULUĞUNUN BELİRLENMESİ

Ertan ÖZEN^{1*}, Osman GÖKTAŞ¹, Mehmet YENİOCAK¹, Mehmet ÇOLAK¹, Ferah YILMAZ², Mehmet ÖNEL¹, Berk DALKILIÇ¹

¹ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Ağaççileri Endüstri Mühendisliği Bölümü, 48000, Muğla, TÜRKİYE

² Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Mantar Araştırma Merkezi, 48000, Muğla TÜRKİYE
eozen@mu.edu.tr

Özet- Bu çalışmada ağaç koruyucu malzeme olarak indigo bitkisinden elde edilen ekstraktların mantara karşı etkisi ve antimikrobiyel özelliği araştırılmıştır. Ekstrakt indigo bitkisinden (*Indigofera tinctoria* L.) elde edilmiş; sarıçam (*Pinus sylvestris* L.), maun (*Swietenia sp.*) ve kestane (*Castanea sativa* Mill.) deney örneklerine daldırma ve daldırma+ultrasonik yöntemleri ile işleme uygulanmıştır. Mordan olarak demir sülfat (Fe₂(SO₄)₃.7H₂O), alüminyum sülfat (KAl₂(SO₄)₃18H₂O), ve sirke kullanılmış, sonuçlar sentetik boya ile karşılaştırılmıştır. Uygulama yapılan örnekler *Postia placenta* ve *Trametes versicolor* mantarlarının bulunduğu ortama TS 5563-EN 113, 1996 standardına göre 16 hafta süre ile bırakılmıştır. Bakteriler için disk yayılma metodu kullanılarak antimikrobiyel özelliği belirlenmiştir. Sonuçlara göre indigo bitkisinin demir sülfat (Fe₂(SO₄)₃.7H₂O) ve alüminyum sülfat (KAl₂(SO₄)₃18H₂O) ile yapılan mordanlama sonuçları, bütün mikroorganizmalara karşı en iyi antimikrobiyel özelliği göstermiştir. Sonuç olarak indigo ekstraktı ve karışımları ağaç koruyucu olarak kullanılabilirliği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler-İndigo, antimikrobiyel aktivite, beyaz çürüklük, kahverengi çürüklük

DETERMINATION OF INDIGO (*Lawsoniainermis* L.) DYE AND LIQUID GLASS PAINTING (SiO₂) MIXTURE ON ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND WOOD SURFACES PROTECT AGAINST THE DEVELOPMENT OF ROT FUNGI

Abstract- In this study, the antifungal and antimicrobial property of plant extracts from indigo was determined when used as an environmentally-friendly wood preservative. The extract was dissolved from indigo (*Indigofera tinctoria* L.) by using and ultrasound assisted method and applied to Scots pine (*pinus sylvestris* L.) , maun (*Swietenia sp.*) and chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood blocks with the immersion

Bu makale, 4. Uluslararası Mobilya ve Dekorasyon Kongresi'nde sunulmuş ve İleri Teknoloji Bilimleri Dergisi'nde yayınlanmak üzere seçilmiştir.

(classic) methods. ferrous sulfate ($Fe_2(SO_4)_3 \cdot 7H_2O$), aluminum sulfate ($KAl_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$) and vinegar were used for mordants, result were compared with synthetic dye. Treated blocks were exposed to *Postia placenta* and *Trametes versicolor* attacks for 16 weeks, according the standard TS 5563-EN 113, 1996 method. Antimicrobial activity of the extracts was determined with the agar dilution method by using the disk diffusion method for bacteria. Results showed that the mordant mixes were considerably more resistant to fungal decay compared to their untreated and synthetic counter parts. As a result of substance indigo dye mordant mixtures of ferrous sulfate and aluminum sulfate showed better antimicrobial activity against all types of microorganisms. As a result, it was found that indigo extracts, indigo + liquid glass and mordant mixes could be used as wood preservatives.

Key Words- Indigo antimicrobial activity, white rot, brown rot.

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Genelde, ağaç malzemeyi koruyan kimyasal maddelerin, ağaç zararlılarına karşı zehirli etkilerinin olması gerekmektedir. Ancak bu kimyasallar, boya ve koruyucu olarak ahşap malzemeye uygulandığı anda, ahşap ürünlerin kullanım süresince ve ürünün kullanım ömrü sonunda imhası ve yakılmasıyla havaya, toprağa ve suya geçerek, arzu edilmemesine rağmen zorunlu olarak diğer canlılara da zarar verebilmektedir (Kurtoğlu, 1988). Bu nedenle, bu konu toplumun, özellikle de bu ürünleri kullanan müşterilerin, idari birimlerin, endüstriyel kullanıcıların ve araştırmacıların dikkatle takip ettiği bir konu haline gelmiştir [1]. Sentetik olarak elde edilen boyar maddelerin iç mekânlarda insanlar üzerinde alerjik sonuçlar doğurması, doğal ürünlerden elde edilen boyar maddeler üzerindeki ilgiyi giderek artırmaktadır [2].

Doğal boyaların sentetik boyalara alternatif olarak geliştirilmesi halinde boya bitkilerinin tarımları yaygınlaşacak ve yeni bir hammadde kaynağı meydana gelecektir. Bitkisel boyalarla boyanmış mobilya ve iç dekorasyon ürünleri iç ve dış pazar açısından önemli bir gelir kaynağı olacaktır. Özen ve ark. bitkilerden yeni boya malzemeleri elde edilebilir ve sıvıcam ile birleştirilerek ahşap malzemeye uygulaması yapılabileceğini belirtmişlerdir [5,6].

Bu çalışmanın amacı yapılacak testler sonucunda bitkilerden elde edilen boyar maddelerin sıvıcam ile karıştırılma oranı belirlenecek böylece doğal ve estetik hammaddeler elde edilmiş olacaktır.

Ahşap malzeme yüzeyine uygulanabilirliği bilinen doğal boyaların; yapılarında bulundurduğu ekstraktif maddeler farklılık gösterebilmektedir. Bu durum her bir doğal bitkinin ve doğal bitki-sıvıcam karışımının çürüklük mantarı etkilerine dayanımının ve antimikrobiyel etkilerinin değişmesi anlamına gelmektedir.

2. YÖNTEM (METHOD)

Deney örnekleri Türkiye ahşap endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Sarıçam (*Pinus sylvestris* L.), Kestane (*Castanea sativa* Mill.) ve Maun (*Swietenia mahagoni* sp.) ağaçlarından; TS 2470 esaslarına uygun olarak seçilmiş ve TS 5563 EN 113, standardında belirtilen ölçülerde (50 x 25x 15 mm) hazırlanarak, kondisyonlanmıştır (20 ±2°C ve 65±3% -3 hafta). Boyar bitki olarak indigo bitkisi kullanılmıştır. Boyar bitkinin ağaç malzemeye tutunmasını kolaylaştırmak amacı ile demir sülfat ($Fe_2(SO_4)_3 \cdot 7H_2O$), Alüminyum sülfat ($KAl_2(SO_4)_3 \cdot 12H_2O$) ve üzüm sirkesi (CH_3COOH) kullanılmıştır.

Boyar bitki; indigo bitkisi bu işin ticaretini yapan aktardan temin edilmiştir. Sıcaklık ayarı yapılabilen bir kazanının içerisinde 20/1 (Su (g) / Bitki (g)) oranında saf su içerisinde 45 °C sıcaklık, 180 dk. sürede ekstrakte edilmiştir [3] . Süre sonunda boyalı su, süzgeç kâğıdı ile süzülerek katı kısımlar ayrılmış boyar maddeler elde edilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen boyalar Çizelge 1’de belirtildiği oranlarda mordan maddeleri ile karıştırılmış ve mordan maddelerinin çözünüp, kimyasal bağın olgunlaşması için 30 dk. bekletilmiştir.

Çizelge 1. Boya çözeltisi mordan karışım oranları (Dye Solution and mordant mixture ratios)

Ekstrakt	Mordan	Karışım (%)
Boyar bitki ekstraktı	Kontrol	0
	Demir sülfat	3
	Alüminyum sülfat	5
	Sirke	10

Mantar çürüklük testleri TS EN 113 (2006) standartlarına göre yapılmıştır. Ahşap malzeme çürüklük testlerinde kahverengi çürüklük *Postia placenta* (Fr.) M.J. Larsen & Lombard (Mad-698-R) ve beyaz çürüklük için *Trametes (Coriolus) versicolor* (L.:Fr.) Pilat. (FFPRI 1030) türleri kullanılmıştır. 50 x 25x 15 mm ölçülerindeki odun örnekleri boyama işlemi sonrasında sıcaklığı 20 ±2 °C bağıl nemi % 65±3 olan iklimlendirme odasında değişmez ağırlığa ulaşıncaya kadar bekletilmiş daha sonra cam kavanozlara yerleştirilmiştir.

Test örneklerinin sterilize edilmesi için, örnekler kavanozlara, yerleştirilmiş ve otoklavda 121°C’ de 15 dakikalık sterilizasyona tabi tutulmuşlardır. Bu işlem sonrasında örnekler, kapaklardan hava almayacak biçimde ekim aşamasına kadar cam kavanozlarda bekletilmişlerdir.

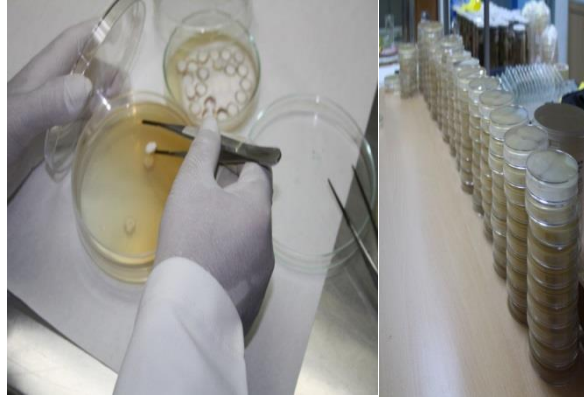
Çalışmada çürüklük mantarı ana kültürü aktivasyonu ve odun çürüklük testleri için 90x10 mm lik cam petri kapları kullanılmıştır. Besiyeri olarak odun çürüklük testleri için Malt Ekstrakt Agar (MEA) ve çürüklük mantarı ana kültür aktivasyonu için de Patates Dekstroz Agar (PDA) kullanılmıştır.

PDA hazırlamak için; 1000 ml su içerisine 39 gr oranında Patetes Dekstroz Agar, MEA hazırlamak için; 1000 ml su içerisine 48 gr oranında Malt Ekstrakt Agar konarak hazırlanan besiyeri, 15 dakika süreyle 120°C’de otoklavda sterile edildikten sonra, petri kaplarına mantar ana kültürü için 15 ml dökülmüştür. Hazırlanmış olan tüm petri kapları 24 saat süre ile 35°C de kontamin etmen olup olmadığını anlamak için inkübatörde bekletilmiştir. Daha sonra tüm petri kapları inokülasyon işlemine kadar +4°C de saklanmıştır.

Çalışmada kullanılacak olan mantar suşları stok kültürden patates dekstroz agar ortamında aktive edilerek ana kültürler hazırlanmış ve 1 hafta süre ile gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen ana kültürler daha sonraki testlerde kullanılmak üzere +4 °C’ de saklanmıştır. Daha sonra çürüklük tayini için malt ekstrakt agar besiyeri hazırlanmış olan petri kaplarına mantar ana kültür petri kaplarından alınan 0,6 mm çapında alınan agar disklerinden 2 şer adet belli mesafelerde inokule edildikten sonra inokülasyon işlemi yapılan tüm petri kapları 27 °C de inkübatörde 10 gün süreyle gelişime bırakılmıştır (Şekil 1) İnkübasyon süresince petri kapları zaman zaman kontrol edilerek kontamine olan petri kapları ortamdaki diğer petri kaplarından uzaklaştırılmıştır.

10 günlük gelişme süreci sonunda test örnekleri petri kaplarının içine yerleştirildikten sonra her bir petri kabı dıştan gelebilecek kontamin etmenlerden korumak amacı ile streç filmle kaplanmış

ve 27 °C ve %70 ortam nemine ayarlı Nüve 501 model iklimlendirme dolabına konulmuş, 16 hafta süre ile gelişime bırakılmıştır.



Şekil 1. Test örnekleri (Test samples)

16 haftalık bekleme süresi sonunda parçalar tartılarak meydana gelen ağırlık kayıpları hesaplanmıştır.

Ağırlık kayıpları aşağıdaki formüle göre (Eş.1) hesaplanmıştır;

$$\text{Ağırlık kaybı (\%)} = 100(T3-T4)/T3 \quad (\text{Eş. 1})$$

T3 : Test örneğinin aşılama öncesi tam kuru ağırlığı.

T4 : Test örneğinin 16 hafta sonrasında çürüklük mantarlarından temizlenip, kurutma dolabına konulduktan sonraki tam kuru ağırlığı.

Antimikrobiyal aktivite testleri:

Çalışmada kullanılan boya ekstraktları steril şartlar altında 0,45µm'lik filtre ile steril edilmiştir. Doğal boyaların test bakterileri üzerindeki inhibisyon etkisi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır.

Test mikroorganizması olarak *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P, *Candida utilis* CCTM La 991 kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan suşlar Muğla Sıtkı Koçman Üniveristesi Mantar Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir.

Antimikrobiyel aktivite testleri disk difüzyon tekniğine göre yapılmıştır (4). Buna göre, test mikroorganizma suşları R2A broth besiyerine ekim yapılarak 12 saat 28 °C'de inkübe edilmiştir. MacFarland 0,5 bulanıklığa ulaşan suşlardan Mueller Hinton agarlara 0,1 ml yayma ekim yapılmıştır. Test bileşiklerini içeren solüsyonlar 5'er µm hacimde steril kağıt disklerle emdirilmiştir. Diskler Mueller Hinton agar üzerine yerleştirilerek 28 °C'de 24-48 saatlik inkübasyon periyotları sonunda zon çapları ölçülmüştür (Şekil 2). Çalışma 2 tekrarlı olarak yapılmıştır [4].



Şekil 2. Çözeltilerin steril kağıt disklerle emdirilmesi ve İnkübasyon periyotları sonunda zon çaplarının ölçülmesi (Adsorption into sterile paper discs and measurement of zone diameters at the end of incubation periods)

3. BULGULAR (FINDINGS)

3.1. İndigo bitkisi ve konsantrosyanları ile muamele edilen örneklerin çürüklük mantarları sonucu ağırlık kaybı verileri (Mass Losses and Extract Retentions of Wood Samples Treated with Indigo (*Indigofera tinctoria* L.) and Mordant Mixtures Exposed to Rot Fungi)

3.1.1. Kahverengi çürüklük (*Postia placenta*) testi bulguları (Brown rot fungi (*Postia placenta*) test results)

İndigo bitkisinden (*Indigofera tinctoria* L.) elde edilen doğal boya, çeşitli mordanlar ile sıvıcamlı ve sıvıcamsız olarak boyanmış ahşap deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybına ilişkin ortalama değerleri Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boya uygulanan deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı (*Postia placenta*) etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybına ilişkin ortalama (%) değerleri (Mass Losses and Extract Retentions of Wood Samples Treated with Indigo (*Indigofera tinctoria* L.) and Mordant Mixtures Exposed to *Postia placenta*)

Mordan	Karışım	Sarıçam			Kestane			Maun		
		Ortalama Retensiyon (%)	Ortalama Ağırlık Kaybı (%)	Standart Sapma	Ortalama Retensiyon (%)	Ortalama Ağırlık Kaybı (%)	Standart Sapma	Ortalama Retensiyon (%)	Ortalama Ağırlık Kaybı (%)	Standart Sapma
Kontrol (mordansız)	Sıvıcamsız	0,55	43,39	5,41	6,70	4,73	6,14	3,64	3,10	3,39
	Sıvıcamlı	1,61	39,28	11,50	1,45	0,91	0,70	1,86	0,98	0,36
Demir Sülfat	Sıvıcamsız	0,60	29,31	9,72	2,00	2,38	0,96	2,04	0,71	0,18
	Sıvıcamlı	1,84	31,17	12,72	1,38	1,88	0,34	1,66	3,62	6,38
Alüminyum Sülfat	Sıvıcamsız	1,22	23,34	10,44	0,94	0,97	0,30	1,43	0,65	0,23
	Sıvıcamlı	1,79	43,07	15,46	1,05	0,64	0,37	1,49	1,42	1,56
Sirke	Sıvıcamsız	1,36	36,89	13,73	0,56	0,77	0,38	1,43	0,68	0,47
	Sıvıcamlı	1,18	47,43	7,87	0,93	0,87	0,34	1,09	0,52	0,25
Ticari Ahşap Boyası	Sıvıcamsız	5,25	27,25	10,25	1,25	2,92	0,80	1,42	2,24	0,83

İndigo bitkisinden (*Indigofera tinctoria* L.) elde edilen doğal boya, çeşitli mordanlar ile sıvıcamlı ve sıvıcamsız olarak boyanmış ahşap deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybı değerleri farklı bulunmuş olup, farklılaşmaya sebep olan faktörleri belirlemek amacı ile yapılan çoklu varyans analizi sonuçları Çizelge 3’de verilmiştir.

Çizelge 3. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boyanın uygulandığı deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı (*Postia placenta*) etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybına ilişkin çoklu varyans analizi sonuçları (Multiple Variance Analysis for Mass Losses of *Postia placenta*)

Varyans Kaynakları	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Hesap	P değeri ($P<0,05$)
Ağaç Türü	33010,4	2	16505,2	356,20	0,000
Mordan	351,36	3	117,12	2,52	0,062
Karışım	129,10	1	129,10	2,78	0,098
Ağaç Türü*Mordan	747,89	6	124,64	2,69	0,019
Ağaç Türü*Karışım	375,69	2	187,85	4,05	0,020
Mordan*Karışım	401,08	3	133,69	2,88	0,040
Ağaç Türü*Mordan*Karışım	466,72	6	77,78	1,67	0,134
Hata	4448,32	96	46,33		
Toplam	61110,2	120			
Düzeltilmiş Toplam	39930,6	119			

Elde edilen sonuçlara göre deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı (*Postia placenta*) etkisi sonucu ağırlık kaybı değerlerinde ağaç türü, mordan, ağaç türü-mordan, ağaç türü-karışım, mordan-karışım, etkileşimi faktörlerinin istatistiksel anlamda önemli olmadığı ($P<0,05$) tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı (*Postia placenta*) etkisi sonucu ağırlık kaybı değerlerinde, mordan, karışım, ağaç türü-mordan-karışım etkileşimi faktörlerinin istatistiksel anlamda önemli olduğu ($P<0,05$) tespit edilmiştir.

İndigo bitkisinden ve mordanlı konsantrasyonlarının mordan türü düzeyinde kahverengi çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçları Çizelge4 'de verilmiştir.

Çizelge 4. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boyanın uygulandığı deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı (*Postia placenta*) etkisi sonucu oluşan mordan türü düzeyinde ağırlık kaybına ilişkin duncan testi (%) sonuçları (Duncan test for Mass Losses of mordant species from *Postia placenta*)

Mordan	Ortalama (%)	Homojenlik Grubu
Kontrol	15,40	B
Demir Sülfat	11,51	A*
Alüminyum Sülfat	11,68	A
Sirke	14,53	AB

*Duncan: 0,050 en düşük ağırlık kaybı

Mordan türü düzeyinde kahverengi çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçlarına göre; en düşük ağırlık kaybı değeri alüminyum sülfat ile mordanlama yapılan grupta (% 11,51), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise kontrol (mordansız) grubunda (% 15,40) olduğu tespit edilmiştir.

İndigo bitkisi ve mordanlı konsantrasyonlarının ağaç türü düzeyinde kahverengi çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçları Çizelge 5’de verilmiştir.

Çizelge 5. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boyanın uygulandığı deney örneklerinin kahverengi çürüklük mantarı (*Postia placenta*) etkisi sonucu oluşan ağaç türü düzeyinde ağırlık kaybına ilişkin duncan testi (%) sonuçları (Duncan test for Mass Losses of wood species from *Postia placenta*)

Ağaç Türü	Ortalama (%)	Homojenlik Grubu
Sarıçam	36,74	B
Kestane	1,64	A
Maun	1,46	A*

*Duncan: 0,050 en düşük ağırlık kaybı

Ağaç türü düzeyinde kahverengi çürüklük etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçlarına göre; en düşük ağırlık kaybı değeri maun grubunda (% 1,46), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise sarıçam grubunda (% 36,74) olduğu tespit edilmiştir.

3.1.2. Beyaz çürüklük (*Trametes versicolor*) testi bulguları (White rot fungi (*Trametes versicolor*) test results)

İndigo bitkisinden (*Indigofera tinctoria* L.) elde edilen doğal boya, çeşitli bağlayıcı mordanlar ile sıvıcamlı ve sıvıcamsız olarak boyanmış ahşap deney örneklerinin beyaz çürüklük mantarı etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybına ilişkin ortalama değerleri Çizelge 6’da verilmiştir.

Çizelge 6. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boya uygulanan deney örneklerinin beyaz çürüklük mantarı (*Trametes versicolor*) etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybına ilişkin ortalama (%) değerleri (Mass Losses and Extract Retentions of Wood Samples Treated with Indigo (*Indigofera tinctoria* L.) and Mordant Mixtures Exposed to *Trametes versicolor*)

Mordan	Karışım	Sarıçam			Kestane			Maun		
		Ortalama Retensiyon (%)	Ortalama Ağırlık Kaybı (%)	Standart Sapma	Ortalama Retensiyon (%)	Ortalama Ağırlık Kaybı (%)	Standart Sapma	Ortalama Retensiyon (%)	Ortalama Ağırlık Kaybı (%)	Standart Sapma
Kontrol (mordansız)	Sıvıcamsız	0,43	43,87	10,28	1,53	0,81	0,22	1,76	1,22	0,96
	Sıvıcamlı	1,62	51,53	12,91	1,50	1,01	0,30	1,87	1,26	0,62
Demir Sülfat	Sıvıcamsız	0,70	41,54	6,02	4,44	2,52	0,59	1,89	0,69	0,19
	Sıvıcamlı	1,87	24,46	16,71	2,47	2,28	0,53	1,85	0,88	0,64
Alüminyum Sülfat	Sıvıcamsız	1,49	30,03	9,93	1,03	0,59	0,37	1,31	1,22	0,32
	Sıvıcamlı	1,77	30,53	16,99	1,07	1,17	0,46	3,05	2,10	5,62
Sirke	Sıvıcamsız	1,54	45,43	4,09	0,56	0,71	0,12	1,16	0,36	0,15
	Sıvıcamlı	1,28	37,75	16,98	0,87	1,20	0,26	0,96	0,47	0,41
Ticari Ahşap Boyası	Sıvıcamsız	5,38	23,12	12,51	1,51	2,90	0,81	1,41	1,17	0,44

İndigo bitkisinden (*Indigofera tinctoria* L.) elde edilen doğal boya, çeşitli mordanlar ile sıvıcamlı ve sıvıcamsız olarak boyanmış ahşap deney örneklerinin beyaz çürüklük mantarı etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybı değerleri farklı bulunmuş olup, farklılaşmaya sebep olan faktörleri belirlemek amacı ile yapılan çoklu varyans analizi sonuçları Çizelge 7’de verilmiştir.

Çizelge 7. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boyanın uygulandığı deney örneklerinin beyaz çürüklük mantarı (*Trametes versicolor*) etkisi sonucu oluşan ağırlık kaybına ilişkin çoklu varyans analizi sonuçları (Multiple Variance Analysis for Mass Losses of *Trametes versicolor*)

Varyans Kaynakları	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Hesap	P değeri (P<0,05)
Ağaç Türü	36357,3	2	18178,6	331,49	0,000
Mordan	544,94	3	181,64	3,31	0,023
Karışım	37,10	1	37,10	0,67	0,413
Ağaç Türü*Mordan	1404,80	6	234,13	4,26	0,001
Ağaç Türü*Karışım	138,69	2	69,35	1,26	0,287
Mordan*Karışım	308,40	3	102,80	1,87	0,139
Ağaç Türü*Mordan*Karışım	549,95	6	91,65	1,67	0,136
Hata	5264,56	96	54,83		
Toplam	66580,2	120			
Düzeltilmiş Toplam	44605,7	119			

Elde edilen sonuçlara göre odun örneklerinin beyaz çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerlerinde ağaç türü, mordan ve ağaç türü-mordan etkileşimi faktörlerinin istatistiksel anlamda önemli olduğu ($P<0,05$) tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre odun örneklerinin beyaz çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerlerinde karışım, ağaç türü-karışım, mordan-karışım, ve ağaç türü-mordan-karışım etkileşimi faktörlerinin istatistiksel anlamda önemli olmadığı ($P<0,05$) tespit edilmiştir.

İndigo bitkisi ve mordanlı konsantrasyonlarının mordan türü düzeyinde beyaz çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçları Çizelge 8’de verilmiştir.

Çizelge 8. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boyanın uygulandığı deney örneklerinin beyaz çürüklük mantarı (*Trametes versicolor*) etkisi sonucu oluşan mordan türü düzeyinde ağırlık kaybına ilişkin duncan testi (%) sonuçları *Trametes versicolor* (Duncan test for Mass Losses of mordant species from *Postia placenta*)

Mordan	Ortalama (%)	Homojenlik Grubu
Kontrol	16,62	B
Demir Sülfat	12,06	A
Alüminyum Sülfat	11,11	A*
Sirke	14,32	AB

*Duncan: 0,050 en düşük ağırlık kaybı

Mordan türü düzeyinde beyaz çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçlarına göre; en düşük ağırlık kaybı değeri alüminyum sülfat ile mordanlama yapılan grupta (%11,11), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise kontrol (mordansız) grubunda (%16,62) olduğu tespit edilmiştir.

İndigo bitkisi ve mordanlı konsantrasyonlarının ağaç türü düzeyinde beyaz çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçları Çizelge 9'da verilmiştir.

Çizelge 9. İndigo bitkisinden elde edilen doğal boyanın uygulandığı deney örneklerinin beyaz çürüklük mantarı (*Trametes versicolor*) etkisi sonucu oluşan boyama yöntemi düzeyinde ağırlık kaybına ilişkin duncan testi (%) sonuçları (Duncan test for Mass Losses of wood species from *Trametes versicolor*)

Ağaç Türü	Ortalama (%)	Homojenlik Grubu
Sarıçam	38,14	B
Kestane	1,29	A
Maun	1,15	A*

*Duncan: 0,050 en düşük ağırlık kaybı

Ağaç türü düzeyinde beyaz çürüklük etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri ile ilgili ikili karşılaştırma Duncan testi sonuçlarına göre; en düşük ağırlık kaybı değeri maun grubunda (%1,15), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise sarıçam grubunda (%34,18) olduğu tespit edilmiştir.

3.1.3. Antimikrobiyel aktivite sonuçları (Result of Antimicrobial Activity)

İndigo bitkisi boyası, sıvıcam karışımı ve mordanlı konsantrasyonlarının çalışmada kullanılan test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivitesi Çizelge 10'da verilmiştir.

Çizelge 10. İndigo bitkisi ve mordanlı konsantrasyonlarının test bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivitesi (inhibisyon zon çapı cm) (Antimicrobial Activity of Indigo-Mordant Mixes and Some Standart Antibiotics (Inhibition Zone, cm))

Boyar Madde	Test Bakterileri					
	<i>Candidaalbicans</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	24 saat	48 saat	24 saat	48 saat	24 saat	48 saat
İndigo Kontrol (sıvıcamsız)	-	-	-	-	-	-
İndigo Kontrol (sıvıcamlı)	-	-	-	-	-	-
İndigo + demir Sülfat (sıvıcamsız)	-	-	-	0,60	0,60	0,70
İndigo + demir Sülfat (sıvıcamlı)	-	-	-	0,60	0,60	0,70
İndigo + Alüminyum Sülfat (sıvıcamsız)	-	-	0,60	0,70	0,70	0,70
İndigo + Alüminyum Sülfat (sıvıcamlı)	-	-	0,60	0,70	0,70	0,60
İndigo + Sirke (sıvıcamsız)	-	-	-	-	-	-
İndigo + Sirke (sıvıcamlı)	-	-	-	-	-	-
Ticari Ahşap Boyası (Sentetik)		-				

Steril kağıt disk çapı 0,6 cm

İndigo bitkisi sirke ve kontrol (mordansız) karışımlarının testlerde kullanılan bakterilere karşı antimikrobiyel aktivitesinin olmadığı gözlemlenmiştir.

İndigo bitkisi sıvıcam ve sıvıcamsız karışımların ve demir sülfat mordanlı konsantrasyonlarının *Escherichia coli* ATCC 25922 test mikroorganizmasına karşı antimikrobiyel aktivitesinin 24 saat sonunda etkisinin olmadığı gözlemlenmiş, 48 saat sonunda ise inhibisyon aktivitesi 0.60 cm ölçülmüştür.

İndigo bitkisi sıvıcamlı ve sıvıcamsız demir sülfat mordanlı konsantrasyonlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P test mikroorganizmasına karşı 24 saat sonunda inhibisyon aktivitesi 0.60 cm, 48 saat sonunda ise 0.70 cm olarak ölçülmüştür.

İndigo bitkisi sıvıcam karışımı ve alüminyum sülfat mordanlı konsantrasyonlarının *Escherichia coli* ATCC 25922 test mikroorganizmasına karşı inhibisyon aktivitesi 24 saat sonunda 0.60 cm, 48 saat sonunda ise 0.70 cm olarak ölçülmüştür. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P test mikroorganizmasına karşı 24 saat sonunda inhibisyon aktivitesi 0.70 cm, 48 saat sonunda ise 0.60 cm olarak ölçülmüştür.

İndigo bitkisi sıvıcamsız alüminyum sülfat mordanlı konsantrasyonlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P test mikroorganizmasına karşı 24 saat sonunda inhibisyon aktivitesi 0.70 cm, 48 saat sonunda ise 0.70 cm olarak ölçülmüştür. *Escherichia coli* ATCC 25922 test mikroorganizmasına karşı inhibisyon aktivitesi 24 saat sonunda 0.60 cm, 48 saat sonunda ise 0.70 cm olarak ölçülmüştür.

Ticari ahşap boyasının test mikroorganizmasına karşı ise herhangi bir aktivitesi gözlenmemiştir.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA (CONCLUSION AND DISCUSSION)

4.1. Kahverengi Çürüklük (*Postia placenta*) sonuçlarına göre (According to brown rot (*Postiaplacenta*) results)

Kahverengi çürüklük (*Postia placenta*) testleri sonuçlarına göre; İndigo bitkisi boyar maddesinin uygulandığı deney örneklerinde etkili sonuç, sarıçam için sıvıcamsız alüminyum sülfat mordanından (% 23.34), kestane ağacı için sıvıcam uygulanan alüminyum sülfat mordanından (% 0.64), maun ağacı için ise sıvıcam uygulanan sirke mordanından (% 0.52) elde edilmiştir. Mordan türü düzeyinde kahverengi çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri en etkili demir sülfat ile mordanlama yapılan grupta (% 11.51), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise kontrol (mordansız) grubunda (% 15.40) olduğu tespit edilmiştir. Ağaç türü düzeyinde kahverengi çürüklük mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri en düşük maun grubunda (% 1.46), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise sarıçam grubunda (% 36.74) olduğu tespit edilmiştir. Bu iki grupta da ticari sentetik boyaya oranla daha etkili sonuçlar elde edilmiştir.

4.2. Beyaz Çürüklük (*Trametes versicolor*) sonuçlarına göre (According to white rot (*Trametes versicolor*) results)

Beyaz çürüklük (*Trametes versicolor*) mantarına karşı en etkili sonuç, İndigo bitkisi boyar maddesinin uygulandığı deney örneklerinden etkili sonuç, sarıçam için sıvıcam uygulanan demir sülfat mordanından (% 24.46), kestane ağacı için sıvıcamsız alüminyum sülfat mordanından (% 0.59), maun ağacı için ise sıvıcamsız sirke mordanından (% 0.36) elde edilmiştir. Mordan türü düzeyinde beyaz çürüklük (*Trametes versicolor*) mantarı etkisi sonucu ağırlık kaybı değerleri en etkili demir sülfat ile mordanlama yapılan grupta (% 11.11), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise kontrol (mordansız) grubunda (% 16.62) olduğu tespit edilmiştir. Ağaç türü düzeyinde beyaz çürüklük (*Trametes versicolor*) mantarı etkisi sonucu en düşük ağırlık kaybı değerleri maun

grubunda (% 1.15), en yüksek ağırlık kaybı değerinin ise sarıçam grubunda (% 38.14) olduğu tespit edilmiştir. Bu iki grupta da ticari sentetik boyaya oranla daha etkili sonuçlar elde edilmiştir.

4.3. Antimikrobiyel aktivite sonuçlarına göre (According to antimicrobial activity results)

İndigo bitkisi mordan ve sıvıcamlı sıvıcamsız boya karışımlarının *Candida albicans* ATCC 10239 test mikroorganizmasına karşı herhangi bir aktivite göstermediği gözlenmiştir. Ayrıca nar kabuğu sirke ve kontrol (mordansız) sıvıcam sıvıcamsız karışımlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P ve *Escherichia coli* ATCC 25922 test mikroorganizmasına karşı herhangi bir aktivite göstermediği gözlenmiştir. İndigo bitkisi demir sülfat karışımının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P, demir sülfat karışımının *Escherichia coli* ATCC 25922 testlerde kullanılan tüm mikroorganizmalara karşı etkili olduğu anlaşılmıştır. İndigo bitkisi alüminyum sülfat karışımının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P ile İndigo bitkisi alüminyum sülfat karışımının *Escherichia coli* ATCC 25922 testlerde kullanılan tüm mikroorganizmalara karşı etkili olduğu anlaşılmıştır. Sentetik boyanın ise antimikrobiyel aktivitesinin olmadığı görülmüştür. Antimikrobiyel aktivite gösteren boyar madde gruplarının kahverengi ve beyaz çürüklük mantarlarına karşı diğer gruplara oranla ağırlık kaybını daha fazla azalttıkları görülmüştür.

Sonuç olarak; ahşap koruyucu ve renklendirici olarak kullanılmak üzere, çevre dostu bitki ekstraktlarının kullanılması konusunda bilimsel çalışmalara daha çok ağırlık verilmelidir. Ayrıca; bitki ekstraktlarının düşük maliyet, düşük toksit etki, düşük nakliye gibi avantajlı özellikleri ahşap koruma ve estetik açısından, potansiyel kaynakların ekonomik ve ekolojik olarak çok faydalı olacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGEMENT)

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından “ Bitki Ekstraktları ve Sıvıcam (Suda Çözünmüş SiO₂) Karışımı ile Ahşap Malzeme Üstyüzeyleri İçin Dayanıklı Doğal Boyaların Geliştirilmesi ve Hızlı Yaşlandırma, Yıkama, Tuzlu Su Sisi, Sıcak-Soğuk Şoku, Yanma ve Çürüklük Mantarlarına Karşı Dirençlerinin Araştırılması “ isimli proje olarak desteklenmiştir. (Proje No: 213 O185)

5. KAYNAKLAR (REFERENCES)

- [1]. Salthammer T., Bednarek M., Fuhrmann F., Funaki R., Tanabe S.I., (2002), Formation Of Organic Indoor Air Pollutants By UV-Curing Chemistry, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 152: 1-9.
- [2]. Luciana G.A., Lusia P, Paola B, Alessandra B., (1997), *Rubia Tinctorium* A Source Of Natural Dyes: Agronomic Evaluation, Quantitative Analysis Of Alizarin And Industrial Assays, *Industrial Crops and Products* 6, 303-311.
- [3]. Kamel M.M., (2007), El-Shishtawy Reda M., Youssef B.M., Mashaly H., Ultrasonic Assisted Dyeing. IV. Dyeing Of Cationised Cotton With Lac Natural Dye, *Dyes and Pigments*, 73: 279-284.
- [4]. Bauer, A.W., et al. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 493-496.

- [5] Ozen, E, Yeniocak, M., Çolak, M., Göktaş, O., Koca, İ., Colorability of Wood Material With *Punica granatum* and *Morus nigra* Extracts, *Bioresources* 9(2), 2797-2807, 2014.
- [6] Ozen, E., Yeniocak, M., Göktaş, O., Alma, M.H., Yılmaz, F., Antimicrobial and Antifungal Properties of Madder Root (*Rubia tinctorum*) Colorant Used as an Environmentally – Friendly Wood Preservative., *Bioresources* 9(2), 1998-2009, 2014.