T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI ZARARLI MİKROORGANİZMALARIN KÜLTÜR ORTAMINDAKİ GELİŞİMİNE ÜZÜM *(VİTİS VİNİFERA L.)* ÇEKİRDEĞİ YAĞININ ETKİLERİ

DİDEM EGE

YÜKSEK LİSANS
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Mart-2015
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI ZARARLI MİKROORGANİZMALARIN KÜLTÜR ORTAMINDAKİ GELİŞİMİNE ÜZÜM *(VİTİS VİNİFERA L.)* ÇEKİRDEĞİ YAĞININ ETKİLERİ

Didem EGE

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zeki KARA

2015, Sayfa 37

Jüri
Danışmanın Prof. Dr. Zeki KARA
Yrd. Doç. Dr. Metin DOĞAN
Prof. Dr. Mahmut BAYKAN
Doç. Dr. Ali SABIR

Müşküle (beyaz), Öküzgözü ve Kara Dimrit (mavi-siyah) üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinin çekirdekleri ezilip yağlı materyal bir Soxhlet ekstraksiyon cihazında petrol eterinde (60–80 °C) 6 saat süreyle ekstrakte edilen üzüm çekirdeği yağları (ÜÇY) sofralık üzümlerin depolanmasını sınırlandıran mantarlardan *Botrytis cinerea, Alternaria alternata, Aspregillus niger* ve *Penicillium expansum* ve insan organizmasında zararlı gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* 35218, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Klebsiella pneumonia* 700603 ve gram pozitif bakterilerden *Enterococcus faecalis* 51299, *Streptococcus pneumonia* 49619 ve *Staphylococcus aureus* 44300'ün in vitro da gelişimi sınırlandırmada antifungal ve anti bakteriyel aktiviteleri test edilmiştir.

ÜÇY etkisi besi yeri konulmuş petri kapların ve deney tüplerine ilave edilen mikroorganizmaların gelişmesi takip edilerek incelenmiştir. Mikroorganizmaların süspansiyonları steril normal tuzlu su içinde yapılmış ve 0.5 MacFarland standardı (10^8 hücre mL^{-1}) ayarlanmıştır. Stok olarak 65,536 mg mL^{-1} ÜÇY hazırlanmış bu dozdan itibaren, seri seyreltmeler yapılarak 65,536 mg mL^{-1}, 32.768 mg mL^{-1}, 16.384 mg mL^{-1}, 8.192 mg mL^{-1}, 4.096 mg mL^{-1}, 2.048 mg mL^{-1}, 1.024 mg mL^{-1}, 0.512 mg mL^{-1}, 0.256 mg mL^{-1}, 0.128 mg mL^{-1}, 0.64 mg mL^{-1}, 0.32 mg mL^{-1}, 0.16 mg mL^{-1}, 0.8 mg mL^{-1}, 0.4 mg mL^{-1} dozlarında uygulamalar yapılmıştır (Anonim, 2000).

B. cinerea, A. alternata, A. niger ve *P. expansum* mantar türleri ile gram-negatif *Escherichia coli* 35218, *Klebsiella pneumonia* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, ve gram pozitif *Enterococcus faecalis* 51299 bakteri türlerine Müşküle, Kara Dimrit, Öküzgözü üzüm çeşitlerinin çekirdeklerinden ekstrakte edilen ÜÇY uygulamalarının sınırlayıcı veya engelleyici bir etkisi tespit edilemezken gram-pozitif *Staphylococcus aureus* 44300, 32,768 mg mL^{-1}'lik Müşküle ve 65,536 mg mL^{-1} Öküzgözü çeşitlerinden elde edilen ÜÇY ile engellenmiştir. *Streptococcus pneumoniae* 49619 bakterisinin gelişmesi 2,048 mg mL^{-1}, 4,096 mg mL^{-1} ve 32,768 mg mL^{-1}

konsantrasyonlardaki Kara Dimrit, Öküzgözü ve Müşküle ÜÇY uygulamaları ile engellenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anti bakteriyel etki, Antifungal etki, Üzüm çekirdeği ekstraktları, *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonia*e.

ABSTRACT

MS THESIS

EFFETS OF GRAPE (VITIS VINIFERA L.) SEED OIL ON SOME HARMFUL MICRORGANISMS IN VITRO DEVELOPMENT

Didem EGE

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE / DOCTOR OF PHILOSOPHY IN MECHANICAL ENGINEERING

Advisor: Prof. Dr. Zeki KARA

2015, Pages 37

Jury
Prof. Dr. Zeki KARA
Yrd. Doç. Dr. Metin DOĞAN
Prof. Dr. Mahmut BAYKAN
Doç. Dr. Ali SABIR

Grape (*Vitis vinifera* L.) seeds from 3 grape varieties Müşküle (white), Öküzgözü and Kara Dimrit (blue-black) were powdered and the fatty material was extracted in a Soxhlet extractor with petroleum ether (60–80 °C) for 6 h. These extracts were tested for grape storage restriction fungus *Botrytis cinerea, Alternaria alternata, Aspregillus niger* and *Penicillium expansum* and antibacterial activity for harmful organisms in the human body gram-negative *Escherichia coli* 35218*, Pseudomonas aeruginosa* 27853*, Klebsiella pneumonia* 700603, and gram-positive *Enterococcus faecalis* 51299*, Streptococcus pneumonia* 49619 and *Staphylococcus aureus* 44300 by pour plate method. The grape seed extracts (GSE) were tested against peri-implantitis microflora. Suspension of micro-organisms was made in sterile normal saline and adjusted to 0.5 Macfarland standard (10^8 Cfu mL^{-1}). From the stock of *65,536* mg mL^{-1} GSEs, serial dilutions were made to 65.536, 32.768, 16.384, 8.192, 4.096, 2.048, 1.024, 0.512,0. 256, 0.128, 0.64, 0.32, 0.16, 0.8, 0.4 mg mL^{-1} (Anonim, 2000).
It was found that, no effective restriction and/or inhibition for fungus *B. cinerea, A. alternata, A. niger* and *P. expansum* and Gram-negative *Escherichia coli* 35218, *Klebsiella pneumonia* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, and gram positive *Enterococcus feacalis* 51299 bacteria while gram-positive *Staphylococus aureus* 44300 was inhibited at 32768 μg mL^{-1} GSE of Müşküle variety and GSE 65.536 mg mL^{-1} GSE of Öküzgözü and *Streptococcus pneumonia* 49619 bacteria were inhibited at 2.048 mg mL^{-1} 4.096 mg $mL^{-1}$and 32.768 mg mL^{-1} concentration of Kara Dimrit, Öküzgözü and Müşküle GSEs.

Keywords: Antibacterial activity, Antifungal activity, Grape seed extracts, *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae.*

ÖNSÖZ

Beni bağcılık konusuna yönlendiren ve bu tez çalışmasının planlanmasını sağlayan, çalışmalarım sürecinde her aşamada yol gösteren, yardımlarını eksik etmeyen, akademik kariyerimin oluşmasında bana derin bilgisiyle yardımcı ve destek olan Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi danışman hocam Prof. Dr. Zeki KARA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın laboratuvar aşamalarında sınırsız yardım ve desteklerini gördüğüm Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ikinci danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Metin DOĞAN'a teşekkür ederim.

Denemede kullanmış olduğumuz depo mantarlarını temin eden İstanbul Okan Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Yahya Şems YONSEL teşekkürlerimi arz ederim.

Ayrıca Denemede kullanmış olduğum üzüm çeşitlerinin temininde yardımcı olan Dimes-Tokat'tan Koray SUNER ve ekibine, Nevşehir'den Kara Dimrit ve İznik'ten Müşküle üzüm çeşitlerinin temininde yardımcı olan üreticilere teşekkür ediyorum.

Uzun ve yorucu laboratuvar çalışmalarımda yardım eden, destek veren ve isimlerini burada sayamadığım Ziraat Fakültesi Lisans Öğrencilerine, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencilerine ve Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına şükranlarımı sunarım.

Bu günlere ulaşmamda her türlü maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan aileme şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Didem EGE
KONYA-2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **vi**

ÖNSÖZ ..... **vii**

İÇİNDEKİLER ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **7**

2.1. ÜÇY'nin Antifungal Etkileri Üzerindeki Çalışmalar 7
2.2. ÜÇY'nin Antibakteriyel Etkileri Üzerindeki Çalışmalar 9

3. MATERYAL VE YÖNTEM **13**

3.1. ÜÇY'nın Elde Edilmesinde Kullanılan Bitkisel Materyal 13
3.2. Denemede Kullanılan Mikroorganizmalar 14
3.2.1. Mantarlar 14
3.2.2. Bakteriler 15
3.2.3. Mikroorganizmaların kaynağı ve devamlılığının sağlanması 19
3.3. Metot 20
3.3.1. ÜÇY'nın elde edilmesi 20
3.3.2. ÜÇY'nın mantar türlerinde antifungal etkilerinin tespiti 20
3.3.3. ÜÇY'nin bakteri türlerinde antibakteriyel etkilerinin tespiti 21
3.3.4. Disk difüzyon yöntemi 21
3.3.5. Antimikrobiyal etki mekanizması 22
3.3.6. Kültür ortamları 23

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **25**

4.1. Antifungal Ekiler 25
4.2. Antibakteriyel Etkiler 25
4.2.1. Kara Dimrit üzüm çekirdeği yağının antibakteriyel etkisi 26
4.2.2. Öküzgözü üzüm çekirdeği yağının antibakteriyel etkisi 26
4.2.3. Müşküle üzüm çekirdeği yağının antibakteriyel etkisi 27

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **29**

5.1 Sonuçlar 29
5.2 Öneriler 29

KAYNAKLAR **31**

ÖZGEÇMİŞ **37**

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat Derece
Cm	Santimetre
%	Yüzde
G	Gram
µL	Mikro litre
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
mg	Miligram
SO_2	Kükürt dioksit
Ppm	Milyonda kısım
ÜÇY	Üzüm çekirdeği yağı

1. GİRİŞ

Türkiye 4622959 da bağ alanı ve 4185126 ton yaş üzüm üretimi ile dünyanın önemli bağcı ülkeleri arasındadır. Türkiye sahip olduğu bağ alanı ile İspanya, Fransa ve İtalyadan sonra 4. sırada, yaş üzüm üretiminde Çin, İtalya, ABD, İspanya ve Fransa'dan sonra 6. sırada yer almaktadır. Bağ alanlarının %52.8'i sofralık, %36.4'ü kurutmalık ve %10.8'i şıralık-şaraplık çeşitlerden oluşmaktadır (Tuik, 2015; Fao, 2015) Anadolu, *Vitis vinfera L.*'nin gen merkezi, bağcılık kültürünün başladığı ve çeşit zenginliğinin en üst seviyede olduğu bir bölgedir.

Dünyada üzümün değerlendirme şekilleri % 64 şaraplık, %21 kuru üzüm üretimi, %8 sofralık üzüm ve %7 diğer değerlendirme şekillerinden oluşmaktadır. Türkiye'de üzümün değerlendirme şekilleri ise %40 kuru üzüm üretimi, %30 sofralık üzüm, %27 pekmez üretimi 3.sırada ve %3 ile şarap üretimi 4. sırada yer almaktadır.

Üzüm salkımının bileşimi; Tane %72 ve salkım iskeleti %28'dir. Tanenin bileşimi; Meyve eti %75, kabuk%10, çekirdek %10 ve kabuk %5'lik kısmı oluşturur. Üzüm çekirdeğinin bileşimi; %71 yağ asitleri ve %29 tanenlerden oluşur. Kabuğun bileşimi; %71 tanenler ve %29 kitinden oluşur.

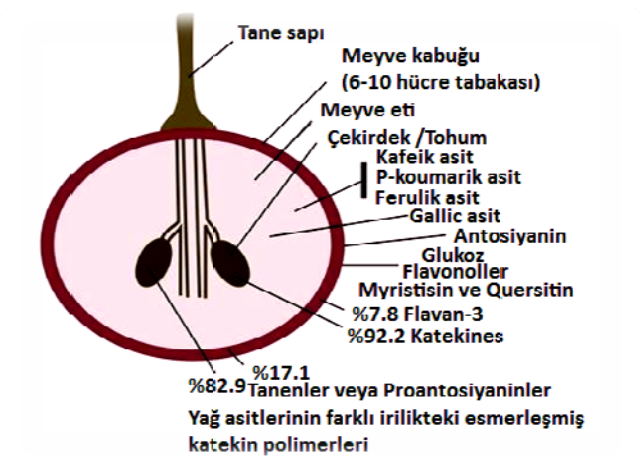
Asmanın meyvesi olan üzüm tanesinin yapısı çok komplex olup orijin, çeşit veya tipe göre de farklılıklar gösterir. Çeşitli miktarlarda glukoz, levuloz ve sukroz içerir. Üzüm tanesi tannik asit, tartarik asit ve gallik asidin kalsiyum tuzlarını da içermektedir. Üzüm kabuğunda vitamin C ve bazı uçucu yağlar da bulunmaktadır.

Üzüm çekirdekleri meyve eti içerisinde yer alır, çok sert koruyucu kabuk dokusuna sahiptir, çeşide bağlı olarak farklılık gösterir. Tohumlar asma çiçeğinin iki karpelli ve her karpelde iki tohum taslağı olduğundan normalde 4 tanedir. Bununla birlikte her karpeldeki tohum taslağı döllenerek tohuma dönüşmediğinden tohum sayısı 1-4 aralığındadır. Üzüm çekirdeği ekstraktları *Vitis vinifera* tohumlarından elde edilmektedir.

Üzüm (*Vitis vinifera L.)* ve ÜÇY'nın geleneksel kullanımı toprağa bağlı yaşayan antik uygarlık dönemlerinden gelmektedir. MÖ 2400 yıllarına ait Mısır hiyeroglifleri ve İncil'de çok sayıdaki ayet üzüm ve bunlardan üretilen şaraptan bahsetmektedir. Hipokrat, Teofrasto, Galeno, Dioscorides ve Plinio kendilerinde üzüm ürünlerinde keşfettikleri tıbbi özelliklere işaret etmişler, örneğin beyaz şarabın iyi bir idrar söktürücü, kırmızı şarabın da tonik ve sıkılaştırıcı özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Üzüm çekirdeğinden elde edilen yağ tamamlayıcı bir diyet ürünü olarak

kullanılmıştır. Güney Afrika popüler Tıbbında üzüm çekirdeği yağları (ÜÇY) müshil, asit giderici, ve ülser yaraların iyileştirilmesinde kullanıldığından bahsedilmektedir.

Antioksidan polifenoller: tümü birlikte polifenoller olarak adlandırılan en önemli doğal antioksidanların çoğu aşağıda gruplandırılmış olup bunlar şekilde işaret edildiği gibi sentezlenebilmektedirler.



Şekil 1. Üzüm tanesinin bileşenleri

Üzümde bulunan polifenol içeriği; fenolik asit, sinamik asit, tirosin türevleri, stilbenler, yoğunlaşmış tanenler ve flavonoidlerden oluşur. Flavonoidler ise flavononlar, flavoneller, flavonlar ve antosiyanidinlerden oluşur.

Üzüm tanesinin kompozisyonu ve tanenin farklı kısımlarının bileşimi şekilde verilmiştir. Şekil den de görülebileceği gibi Polifenoller çekirdek ve tane kabuğunda yoğun olarak bulunurken meyve etinde bulunmamaktadır.

Antioksidanlar, genel olarak elektronlarının değerlikleri değişmeden serbestçe dolaşabilen yapılar olup (bunların elektronları çiftleşmemişlerdir) bu sayede serbest radikalleri tehlikeli olmadan stabil hale getirebilirler. Gerçekte antioksidanlar elektronlarını tüketinceye kadar bağışlarlar. Böylece bir antioksidan molekülü serbest radikallerin çoğunu nötralize edebilir. Belirli bir antioksidanın etkinliği antioksidatif maksatla alınabilir elektronlarının sayısı ile hesaplanabilir. Eğer antioksidan A antioksidan B'den iki kere daha fazla alınabilir elektrona sahipse antioksidan A antioksidan B'den iki kat daha güçlüdür. Kaba bir karşılaştırma olmak üzere proantosiyanin (OPC), C vitamininden 20 kat ve E vitamininden 50 kat daha güçlüdür. Proantosiyanin polifenol ailesinin bir parçası olup flavonoidlerden bir gruptur.

Polifenoller; Anti-serbest radikaller, Mikro sirkülasyon koruyucusu, Anti-irritant (tahriş önleyici) ve Anti-oksidant etkilere sahiptirler. Antioksidanlar doğal

ürünlerin kullanım eğiliminin bir unsuru olup bunlardan asıl birileri polifenollerdir. Antioksidanların avantajları; daha iyi asimile olmaları, doğal ürünler olmaları ve serbest radikallere bağlanarak bozulmalarını önlenmeleridir.

Üzüm çekirdeklerinde en çok bulunan polifenolik bileşikler katekinezler (katekinez, epikatekinez ve proanthosiyanidinez) ve bunların polimerleridir. Gerçekte bizim tespitlerimize göre gallik asit, monomerik katekin flavan-3-ol, epikatekine, gallokatekine, epigallokatekine ve epikatekine 3-O galato ve yine proanthosiyanidine dimmerleri ile trimerleri ve biraz daha fazla polimerize olmuş proanthosiyanidinlerdir.

Üzüm çekirdeğinden elde edilen proteinler oransal olarak (%7-10) düzeyinde olup amino asit kompozisyonu: arginine, leukine, (%11.4), valine ve fenilalaline şeklindedir.

Üzüm çekirdeğinde bulunan trigliseritler oransal olarak (%6-20) düzeyindedir. Palmitik asit, stearik asit, oleik asit (%37) ve linoleik asit (%55) yağ asitlerini içerirler.

Üzüm çekirdeğinde yağlar ve mumsu maddeler grubundan **Fitosteroller** (%0.5-1); B-sitosterol. Fitosteroller sebze sterolleri bulunur. Bu bileşiklerin kimyasal yapısı ve fonksiyonları kolesterole benzer olup hayvanlar aleminde bulunan tipik bir steroldür.

Fosfolipidler bir glicerolle iyonize olmuş lipidler olup iki yağ asidi ve bir fosfat eklenmiştir (1,2 diacilglicerol). Fosfatidilserine Fosfatidilinositol, lecitin cefaline, cerebrocidler ve fosfatidik asitler.

Bir fosfat grubu; fosfat grup diğer bir gruba bağlanmıştır ki böylece bir fosfodiester bağı diğer çoğunlukla azot içeren korin, serin veya etanolamin gibi bir gruba bağlanır ve bunlar çoğunlukla elektrik yüküne sahiptir.

Tüm hücre çeperleri fosfolipidlerin çiftli bir tabakasına sahiptirler . En iyi bilinen fosfolipidler arasından fosfatidilserini, Fosfatidilinositol,l, phosphatidik acstler ve fosfatidilserine ÜÇY'nda tespit edilmiştir. Fospfolipidler lesitin içerisinde de yaklaşık %50 oranında bulunmaktadır.

Vitamin E veya A- tokoferol yağda eriyen vitamin olup antioksidan aktiviteye sahip olmasıyla karakterize edilir.

Revilla ve ark. (1995), yirmiden fazla sofralık üzüm çeşidinin fenolik bileşimi kolorimetrik ve kromatografik yöntemlerle incelmişlerdir.

Baydar ve ark. (1999), 18 üzüm çeşidi çekirdeklerinin yağ içeriği ve yağ kalite özellikleri inceleyerek farklılıklarını ortaya koymuşlardır.

Kennedy ve ark. (2000), farklı sulama seviyeleri uygulanan Vitis vinifera Cabernet Sauvignon çeşidi tohumlarından ekstrakte edilen ¯avan-3-ol monomerleri ile

prosyanidinlerin miktarlarındaki değişimi incelemişlerdir. Tane başına ekstrakte edilen tüm polifenollerin miktarının olgunlaşmanın ilerlemesiyle azaldığını bunlardan ¯avan-3-ol monomerlerin en hızlı bunu prosiyanidin türevleri ile terminal ürünlerdeki azalmanın takip ettiğini bildirmişlerdir. Prosiyanidin türevlerinin nispi oranları olgunlaşmaya bağlı olarak farklılık göstermemiştir. Meyvenin olgunlaşma sürecinde prosyanidinlerin ortalama polimerizasyon derecesi HPLC yönteminde yapılan analizde değişmemiş fakat thiolytik yöntemde azalmıştır. Ekstrakte edilmiş procyanidinler asitle katalize olmuş thiolysis e dayanıklı olup bu durum olgunlaşmanın ilerlemesine paralel olarak artmıştır. Asmanın sulanma durumu da polifenol içeriğini etkilemektedir.

Shi ve ark. (2003), üzüm çekirdeklerinin şarap ve meyve suları üretiminde atık ürün olduğunu ve bunların yağ, karbonhidrat, protein ve % 5-8 düzeyinde de polifenol ihtiva ettiğini bildirmiştirler. Üzüm çekirdeklerinde bulunan polifenoller esas itibariyle flavonoidler, gallik asit, monomerik flavan-3-oller katekin, epikatekin, gallokatekin, epigallokatekin, ve epikatekin 3-*O*-gallate ve prosiyanidin dimerleri ile trimerleri ve daha yüksek düzeyde polimerize olmuş prosiyanidinler olarak bildirilmiştir. ÜÇE güçlü bir antioksidan olarak bilinmekte olup insan vücudunu erken yaşlanma, hastalık ve tahrişlerden korumaktadır. Üzüm çekirdeği proanthosiyanidinleri (oligomerik proantosiyanidinler) büyük oranda içermektedir. ÜÇY'nın insan sağlığına yararlı etkisi kallojenle bağlayarak antioksidan etkide bulunması, ciltte gençliğin korunmasını uyarması, hücre sağlığı, elastikiyeti ve esnekliğini uyarmasıdır. Yine üzüm çekirdeğinden elde edilen proanthosiyanidinlerin insan vücudunu güneş yanıklıklarından koruduğu, görünümü iyileştirdiği, eklemlerin, damarların ve kalp dokusunun esnekliğini düzenlediği ve damarlarda kan dolaşımını atar damarlar, toplar damarlar ve kılcal damarlarda kolaylaştırdığı da bildirilmektedir. Üzüm çekirdeğinden elde edilen en önemli fenolik bileşikler katekin, epikatekin, prosiyanidin, ile bazı dimerler ve trimerlerdir.

Artık (2006), Türkiye'de yetiştirilen 12 farklı üzüm çeşidine ait çekirdeklerin flavan 3-ol içeriği ve antioksidan aktivitesi araştırmıştır.

Tangolar ve ark. (2009), 9 vitis cinsi üzüm çeşitleri (Alphonse Lavallée, Hamburg Misketi, Alicante Bouschet; Razakı, Narince, Öküzgözü ve Horoz Karası (*V. vinifera* L. cultivars) ile Salts creek (*Vitis champinii*), ve Cosmo 2 (*Vitis berlandieri x Vitis riparia*) anaçlarının çekirdek ekstraktlarını proximate (protein, yağ, nem, kül) ile yağ asitleri ve mineral kompozisyonları bakımından değerlendirmişlerdir. Yağ verimi her çeşitte farklı %10.45 (Razaki) ile %16.73 (Salt creek) bulunmuştur. Tüm

varyetelerde yağ asitleri bakımından linoleik asit (C18:2*n* 6) en fazla bulunurken bunu oleik asit oleik (C18:1) ve palmitik asit (C16:0) takip etmiştir. Mineral analiz sonuçlarına göre tüm çeşitler önemli miktarlarda makro ve mikro elementleri içerdikleri tespit edildiği ve bu üzüm çekirdeklerinin insan gıdası olarak kullanımında bir destekleyici ürün olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Akgün ve ark. (2006), üzüm çekirdeğinin süper kritik akışkan ortamında ekstraksiyonu, basınç (80–120 bar), sıcaklık (40-50 °C) ve modifiyer konsantrasyonu (%10-30) olmak üzere farklı yöntemlerle araştırılmışlardır.

Şahin ve ark. (2007), kanser hücre dizilerinde kırmızı üzüm çekirdeği özütü ÜÇY ve bileşiminde bulunan resveratrolün sitotoksik etkinliklerini incelemişlerdir.

Çetin ve ark. (2008), sıçan karaciğerinde radyasyonun neden olduğu toksisite üzerine ÜÇY'nın koruyucu etkisini incelemişlerdir.

Uslu ve ark. (2009), Bozcaada-Çanakkale yöresinde yetiştirilen farklı üzüm çeşitlerinin çekirdekleri materyal olarak kullanılmıştır. Presleme sonrası atık materyal olarak ortaya çıkan cibreden temin edilen çekirdeklerin bazı pomolojik özellikleri ile yağ asitleri bileşenleri incelenmiştir.

Dünya'da çok geniş bir alanda yapılmakta olan bağcılıkta asma veya omca (*Vitis* sp.) denilen bitki yetiştirilmektedir. Milyonlarca yıl öncesine dayanan asmanın anavatanı konusunda birbirinden çok farklı görüşler bulunmakta; lakin çok büyük form zenginliği göstermesi sebebiyle de anavatanı olarak Kafkasya, Hazar Denizi'nin güneyi ve Kuzey Doğu Anadolu yöreleri gösterilmektedir. Fakat 20. yy'da bu konuda yapılan jeolojik ve arkeolojik araştırmalar sonunda günümüzden yaklaşık 60 milyon yıl öncesinde bile asmanın dünyanın bir çok yöresinde yetişmekte olduğu tespit edilmiştir.

İlk insan yaşamının başladığı 10.000 yıl önceki dönemden kalma olduğu tespit edilen pres artığı üzüm çekirdekleri bize üzümden şarap yapılmasının insanlık tarihi kadar eski olduğunu ve bağcılık kültürünün de bu yıllarda Anadolu'da başladığını göstermektedir.

Bağcılık için yerkürenin en elverişli iklim kuşağı üzerinde bulunan ülkemiz, kültür asması *(Vitis vinifera* L.) ve bağcılık kültürünün anavatanı olması nedeniyle zengin bir gen potansiyeline sahiptir ve iklim koşullarının uygun olması ve asmanın heterozigotik yapısından dolayı çok geniş çeşit ve tip zenginliğine sahiptir.

Ülkemizde üretilen toplam yaş üzümün %52.8'i sofralık, %36.4'ü kurutmalık, %10.8'i şıralık-şaraplık olarak çeşitli gıda ürünleri elde etmek amacıyla kullanılmaktadır.

Türkiye'nin sofralık üzüm ihracat miktarı 2011 yılında 239577 tondur (Tuik, 2015). 2011 yılı verilerine göre sofralık üzüm ihracatından elde edilen gelir 175325 milyon $'dır (Tuik, 2015). Pazarlanma öncesinde üzümler ön soğutma ve soğutma işlemleri yapılmaktadır. Bu işlemlerde depo ömrünü uzatmak için SO_2 kullanılmaktadır. Ancak SO_2 kullanımının insan sağlığına yaptığı zararlardan dolayı alternatif yöntemler aranmaktadır.

Bu çalışmada son Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde Farklı üzüm çeşitlerinin çekirdeklerinden elde edilen ekstraktların sofralık üzüm muhafazasında SO_2'ye alternatif olabilme nitelikleri üzerinde yapılan çalışmalardaki ümitvar bulgular üzerine sofralık üzümün depolandırılmasında en etkin mantarların (*Botrytis cinerea, Aspergillus niger, Cladosporium herbarum, Penicillium expansum,* ve *Rhizopus stolonifer*) *in vitro* denemelerle ÜÇY ile gelişmelerinin sınırlandırılması ve/veya fungusit etkilerinin tespiti amaç edinilmiştir. Diğer taraftan ÜÇY uygulanan sofralık üzüm doğrudan bu ekstrakttan arındırılmadan tüketilmektedir. Bu tüketimin insan organizmasında zararlı mikroorganizmalar olarak bilinenlerden *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Staphylococcus aureus* 44300, *Escherichia coli* 35218, *Streptococcus pneumonia* 49619, *Klebsiella pneumonia* 700603 ve *Enterococcus feacalis* 51299 bakteri türleri streinlerine anti bakteriyel ve/veya anti bakterisit etkileri de yine *in vitro*'da test edilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. ÜÇY'nin Antifungal Etkileri Üzerindeki Çalışmalar

Üzüm üreticisi ülkelerde *Botrytis cinerea, Aspergillus niger, Cladosporium herbarum, Penicillium expansum,* ve *Rhizopus stolonifer* etkisiyle ortaya çıkan çürümeler sofralık üzümlerin (*Vitis vinifera* L.) üretim ve ticaretini sınırlandıran asıl faktörlerdir (Franck ve ark., 2005). Genellikle sofralık üzümün hasadı, soğuk depolaması ve pazarlara taşınması sırasında önemli ekonomik kayıplar meydana gelir (Latorre ve ark., 2002; Franck ve ark., 2005; Donoso ve Latorre, 2006).

Botrytis cinerea Pers. dünya çapında sofralık üzüm üretimi etkileyen en önemli patojen olup bağlarda önemli ekonomik zararlara neden olması (Elmer ve Reglinski, 2006), izolatlar arasındaki yüksek genotipik çeşitlilik ve biyolojik özelliklerin yüksek değişkenlik göstermesiyle izah edilebilir (Cotoras ve ark., 2009). Hasat öncesi ve hasat sonrası çürümelere *Aspergillus niger* Tiegh, *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link, *Penicillium expansum* Link ve *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill, türlerinin de çürümelere neden olduğu rapor edilmektedir (Zahavi ve ark., 2000;. Latorre ve ark., 2002).

Botrytis hastalığından korunmada kimyasallar ve fungisitlerin kullanımı (Leroux, 1996) en etkili önlemdir. Ancak, kamu sağlığı konusunda artan endişe ve mantarların fungusitlere karşı hızlı direnç geliştirmesi nedeniyle, biyo-kontrol geleneksel yöntemlere ilginç bir alternatif haline gelmiştir (Raspor ve ark., 2010). Patojenlerin baskı altına alınması için çok az seçenek olup hastalık kontrolü çeşitlerin doğal direncine bağlıdır (Töpfer ve Eibach, 2002). Biyo-kontrolün temel ilkeleri zararlı popülasyonlarını kontrol etmede canlı organizmalarla, bir biyolojik süreçte bunların ürünlerinin kullanılması olarak tanımlanmaktadır (Droby ve ark., 2009).

Botrytis cinerea bir mantari patojen olup tüm Avrupa ve özellikle soğuk nemli iklime sahip İsviçre ve Fransa'nın doğusu gibi alanlarda sıkça ortaya çıkmaktadır. Kurşuni küf üzüm salkımları üzerinde çok hızlı yayılarak üzüm ürünlerinde de kusurlara yol açabilir ve bu nedenle *Botrytis cinerea*'in kontrolü önemli bir sorundur. Buna ek olarak, bağların verimliliğini korumak ve mantar direnci önlemek için uygun farklı pestisit karışımlarına ve / veya farklı mekanizmalarla alternatif tedaviler gerek duyulmaktadır. Bu usulde hasat edilen üzümde çeşitli pestisit kalıntılarına rastlanması mümkündür. Üzümdeki kalıntıların bazıları şarap üretim sürecinde kaybolmadan nihai

ürüne taşınır (Edder ve Ortelli, 2005)

Kara ve ark. (2012), sofralık üzümün depolama sürecinde fitopatojenik mantarlara karşı korunması için bir koruyucu madde olarak ÜÇY kullanımı, SO_2 üreten pedlerle karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu bildirmiştir.

Adrian ve ark. (1997), 90 μg resveratrol mL^{-1} *B. cinerea* konidyumlarının çimlenmesini yaklaşık % 50 oranında azalttığını ve resveratrol 60 ile 140 μg mL^{-1} arasında değişen konsantrasyonlarda *B. cinerea* misel gelişimini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir.

Salzman ve ark., (1998) tarafından üzüm meyvelerinin (*Vitis labrusca* L. cv Concord) olgunlaşma sırasında heksozlarla koordineli artan ve bol miktarda bulunan çeşitli proteinlerin yumurtalıkta baskın protein haline geldiği ölçülmüştür. Bu proteinler arasında N-terminal amino asit bileşeni analizi, ve / veya bir taumatin benzeri protein (üzüm osmotin) olarak, lipid transfer proteini, ve bir bazik ve bir asidik kitinaz işlevi gösterir. *In vitro* büyüme deneylerine göre temel kitinaz ve üzüm osmotin, üzüm fungal patojeni *Guignardia bidwellii* ve *Botrytis cinerea'*ya karşı aktiviteler sergilemiştir. Antifungal proteinlerin büyümeyi inhibe edici aktivitesi, olgunlaşan meyvelerde kıyaslanabilir seviyelerde önemli olduğu ve bu faaliyetlerin 1 mg glikoz varlığında %70 kadar geliştiği, meyvelerde fizyolojik bir heksoz konsantrasyonu görülmüştür. Meyve olgunlaşması esnasında antifungal proteinler ve şekerlerin eşzamanlı birikimi olgunlaşma sırasında meyvede meydana gelen patojene karşı direnç etkisi karakteristik gelişimi ile korelasyon edilmiştir. Birlikte ele alındığında, şeker ile birlikte bu proteinlerin birikimi olgunlaşan meyvede patojenlerin karşı gelişimsel savunma mekanizması düzenlediği görülmüştür.

Zahavi ve ark. (2000) tarafından şaraplık ve sofralık üzümlerde *Botrytis*, *Aspergillus* ve *Rhizopus* çürümelerinin biyolojik kontrolü araştırılmış ve şaraplık ve sofralık üzümlerden izole edilen epifitik mikroorganizmaların *Botrytis cinerea'*ya karşı antogonist aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Zahavi ve ark (2000), sofralık ve şaraplık üzümlerden izole ettikleri mikroorganizmalardan *Candida gulliermondi* A42 ve *Acremonium cephalosporium* B11'in antagonistik aktivitesini üzümlerde *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* ve *Rhizopus stolonifer*'in neden olduğu bozulmaların kontrolü için değerlendirmişlerdir. *B. cinerea*, *A. niger* ve *R. stolonifer*'in neden olduğu bozulmaları ayrı ayrı incelemişler ve sonuçta, A42'nin, *Botrytis cinerea*'nın gelişimini %8, *A. niger*'in gelişimini %14 ve *R. stolonifer*'in gelişimini %22 oranında, B11'in ise, *B.cinerea*'nın gelişimini %16, *A.*

niger'in gelişimini %82 ve *R. stolonifer*'in gelişimini %60 oranında azalttığını belirlemişlerdir.

2.2. ÜÇY'nin Antibakteriyel Etkileri Üzerindeki Çalışmalar

Üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdekleri antioksidan ve antimikrobiyal etkilere sahip polifenolik bileşiklerin zengin bir kaynak olarak kabul edilir. ÜÇY ler, minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC) yöntemi ile, anti bakteriyel aktivite yönünden test edilmiştir. Çekirdek ekstraktlarından elde edilen fenolik bileşikler gram-pozitif bakterilere gram-negatif bakterilerden daha engelleyici olmak üzere (Monagas *ve ark.,* 2003; Arnous and Meyer, 2008; Nirmal and Narendhirakannan, 2011; Adámez, ve ark., 2012) ÜÇY'nın antimikrobiyal aktiviteleri (Shrestha ve ark., 2012) belirlenmiştir.

ÜÇYnın hücre, bileşenlerinde sızıntıya neden olma ve sporların vegetatif hücrelerin içerisine gelişimini engelleyebilmeleri nedeniyle *Alicyclobacillus acidoterrestris* gelişmesini engellemede doğal antimikrobiyal maddeler olarak potansiyel kullanıma sahiptirler (Shrestha ve ark., 2012).

Son zamanlarda, klinik açıdan önemli patojenlerin antibiyotiğe dirençli soylarda artış olması, çoklu-dirençli bakteri suşlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Aibinu ve ark., 2004).

Yeni nesil antibiyotiklerin yüksek maliyeti ve erişilir olmamaları etki alanlarının dar olması, morbidity ve mortalitede bir artışla sonuçlanmıştır (Williams, 2000). Bu nedenle, kanıtlanmış antimikrobiyal etkiye sahip diğer kaynaklardan maddeler aramak ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak, potansiyel olarak faydalı aktif maddelerin keşfini amacıyla bitki kökenli materyaller arasında daha etkin bir antimikrobiyal maddelerin araştırılması, yeni antimikrobiyal ilaçların sentezine kaynaklık ve şablon olarak hizmet edebilir (Pretorius *ve ark.,* 2003; Moreillion *ve ark.,* 2005; Brown *ve ark.,* 2008).

ÜÇY yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktivite göstermiş olup *S. aureus* için pozitif inhibitör etkisi tıbbi özellik olarak sırasıyla minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC) ve minimum (MCC) ortaya. 0.625 mg mL^{-1} ve 1.25 mg mL^{-1} olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan ÜÇEları, *E. coli, K. pneumonia, C. parapsilosis* ve *C. albicans* türlerine karşı az veya hiç reaksiyon göstermediği bildirilmiştir (Nirmal ve Narendhirakannan, 2011).

Muskadin üzüm kabuğu ekstreleri genel *Helikobakter pilori*'ye karşı toptan

güçlü bir etkinlik aktivitesi sahip bulunmuştur (Brown ve ark., 2008).

Campylobacter cinsi 14'ü insan hastalıkları ile ilişkili olan 17 türü ihtiva eder, ve bunlar arasında, enfeksiyon hastalıklarının % 95'den fazlası atfedilen *C. jejuni* ve *C. coli* cinsleri de bulunur (Park, 2002). *Campylobacter* türleri tüm dünyada bakteriyel gıda kaynaklı ishal hastalıklarının önde gelen nedenidir (Ganan ve ark., 2012). GSE 5.08-6.97 CFU mL^{-1} log aralığında *Campylobacter* büyümesini güçlü bir şekilde inhibe kapasitesi göstermektedir (Silvan ve ark., 2013).

Porphyromonas gingivalis ve *Fusobacterium nucleatum* bakteriler dişeti hastalıkları ve kötü ağız kokusunun sorumlu olup ÜÇY (% 97 polifenoller) tarafından inhibe edilmektedir (Furiga ve ark., 2009).

ÜÇY plakaya dökme yöntemiyle *Bacillus cereus, Bacillus coagulans, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa'*ya karşı anti bakteriyel aktivitesi için test edilmiş, gram pozitif bakteriler, 850-1000 ppm dozunda tamamen önlenirken gram-negatif bakterilerin 1250-1500 ppm konsantrasyonu engellediği tespit edilmiştir (Jayaprakasha ve ark., 2003).

Baydar ve ark. (2004) tarafından *Bacillus cereus* FMC 19, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Bacillus subtilis* IMG 22, *Enterobacter aerogenes* CCM 2531 *Enterococcus feacalis* ATCC 15753, *Escherichia coli* DM, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5, *Listeria monocytogenes* Scott A, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *Proteus vulgaris* FMC 1, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Staphylococcus aureus Bacillus brevis* FMC 3 dahil olmak üzere bazı gıda bozulmaları ve patojen bakterilere karşı kağıt disk difüzyon yöntemi kullanılarak anti bakteriyel etkileri test edilmiş ve yöntemin etkinliği değerlendirilmiştir.

Baydar ve ark. (2006), üç farklı ÜÇÖ % 1, % 2.5, % 5 ve % 10 konsantrasyonlarında *Aeromonas* hydrophila dahil olmak üzere on beş bakteriye karşı agar difüzyon yöntemi ile bazı patojenik ve bozucu *Bacillus cereus, Enterobacter aerogenes, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, E. coli O157: H7, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium smegmatis'in, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Tüm test bakterileri agarda iyi difüzyon yönteminde ÜÇY tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir.

% 4 yoğunlukta ÜÇY'ları, A. hydrophila, B. amyloliquefaciens, B. megaterium, B. subtilis ve karşı etkili değilken, aseton : su: asetik asit (90: 9.5: 0.5) yöntemiyle elde

edilen % 4'lük ekstreler 15 test bakterisinin çoğuna karşı etkili olmuştur. Test bakterileri. ÜÇYlar % 4 ve% 20 konsantrasyonlarında antibakteriyel maddeler, gıda ürünlerinin bozulmasını önlemek için yararlı olabilir (Baydar ve ark., 2006).

ÜÇY (*Vitis vinifera*), antimikrobiyal aktivitesi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* için MIC ve minimum bakteri öldürücü konsantrasyon (MBC) değerleri sırasıyla 3.84 mg mL^{-1} ve 7.68 mg mL^{-1} olarak bulunmuştur. ÜÇÖ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'a karşı önleyici ve bakterisidal etkiye sahiptir. *Streptococcus mutans* karşı herhangi bir önleyici antimikrobiyal, bakterisidal, bakteriyostatik ve etki tespit edilememiştir (Mirkarimi ve ark., 2013).

Jayaprakasha ve ark. (2003), üzüm çekirdeğini toz haline getirip 6 saat petrol eteri içeriği olan bir Soxhlet cihazında (60-80 °C) ekstre etmişlerdir. Bir başka yöntem olmak üzere 8 saat için herbiri ayrı ayrı aseton: su: asetik asit (90:9.5:0.5) ve metanol: su: asetik asit (90:9.5:0.5) ile ekstre etmişlerdir. Ekstraktlar 280 nm'de yüksek performanslı sıvı kromatografisinde analiz edilmek üzere vakum altında konsantre edilmiştir. Bu özlerin, *Bacillus cereus, Bacillus coagulans, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı antibakteriyel aktivitesi plaka yöntemi ile test edilmiştir. Gram-negatif bakteriler 1250-1500 ppm konsantrasyonda inhibe edilirken Gram-pozitif bakteriler 850-1000 ppm de inhibe edildikleri bildirilmiştir.

Arserim ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmada ipeksi fibroin-karragenan filmlere ÜÇÖ ilave edilerek antimikrobiyal yenebilir filmler üretilmiş ve bu filmlerin antimikrobiyal özellikleri *Listeria innocua, Staphylococcus aureus, Staphylococcus carnasus, Bacillus amyloliquefaciens, Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens, Escherichia coli* O157:H7 *ve Salmonella Typhimurium* gibi bakterilere etkileri test edilerek derecelendirilmiştir.

Serra ve ark. (2008), iki atık kaynaklı zeytinyağı ve şarap özünün antimikrobiyal faaliyet üretimi, hem polifenoller bakımından zengin ve iyi tanınan standart üç antioksidanın (quercetin, hidroksitirosol ve oleuropein) beş mikrobiyal bakteri türlerine karşı etkisi incelenmiştir (*Escherichia coli Salmonella poona, Bacillus cereus, Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans*).

Pretel ve ark. (2006), sofralık üzüm kalitesini korumak için paketleme atmosferin modifiye yeteneğini araştırmıştır. Hafif CO_2 ile zenginleştirilmiş atmosfer ile birlikte SO_2 jeneratörleri ağırlık oranlarını, doku ve renk kayıpları ile mantar saldırılarını geciktirdiğini bulmuştur. Bununla birlikte ağartıcı madde olan kükürt

dioksit problemleri ve rachis ve yaralanmalar ve üzümde aşırı sülfit artık birikmesi vardır. Ethanole daldırma *Escherichia coli*'yi öldürmek için yetenekli olup (Pinto ve ark., 2006) üzüm tanesi üzerinde büyümesini engellemektedir (Lichter ve ark., 2002).

El-Adawi ve El-Deeb (2012), Karsinojenik bakteriler üzerinde üzüm çekirdeği ekstresinin (ÜÇY) inhibitör etkisi diş çürüğü gelişiminde önemli bir rol oynayan *Streptococcus* mutanlarını üzerine florür ile kıyaslamalı olarak denendiğinde ÜÇY diş çürüklerinde dramatik bir düşüşe yol açmasına rağmen, gerçek enfeksiyonu kontrol etme yeteneği sınırlı kaldığı bildirilmiştir.

Palma ve ark. (1999), üzüm çekirdeklerinden ardışık süper kritik akışkan ekstraksiyonu ile elde ettikleri ekstraktın mikrobiyolojik biyoassayda antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Farklı insan patojenleri üzerinde yapılan testlerde ÜÇY'nin antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir.

Bu çalışmanın amacı üç üzüm Müşküle (beyaz sofralık), Öküzgözü ve Kara Dimrit (mavi siyah, şıralık-şaraplık) çeşidinden elde edilen (aseton : su : asetik asit 90:9.5:0.5) ÜÇY'larının sofralık üzümün depolanmasını sınırlandıran *Botrytis cinerea, Alternaria alternata, Aspregillus niger* ve *Penicillium expansum*'a karşı antifungal etkinlikleri ile gram negatif *Escherichia coli* 35218, *Klebsiella pneumonia* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ve gram pozitif *Enterococcus feacalis* 51299, *Staphylococcus aureus* 44300, *Streptococcus pneumonia* 49619 bakterilerine karşı antibakteriyel etkilerinin *in vitro*'da test edilmesidir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. ÜÇY'nın Elde Edilmesinde Kullanılan Bitkisel Materyal

Üzüm çeşitlerine bağlı olarak çekirdeklerin yağ kompozisyonları da değişmektedir. Bu çalışmada birisi beyaz (Müşküle, Bursa İli özellikle İznik yöresinde geç olgunlaşan beyaz sofralık çeşit olarak geniş alanlarda yetiştirilmektedir. Denemede kullanılan ürün kendi ekolojisinde tam olgunlaşma zamanında hasat edilerek kullanılmıştır.) ve ikisi siyah [Kara Dimrit (Gülşehir-Nevşehir yöresinde geniş alanlarda siyah renkli, şıralık-şaraplık maksatla yetiştirilmektedir. Denemede kullanılan ürün kendi ekolojisinde tam olgunlaşma zamanında hasat edilerek şaraplık maksatla sıkılmış üründen çekirdekler ayrılarak kullanılmıştır.) ve Öküzgözü (Elazığ ve Malatya yöresinde siyah renkli, şıralık-şaraplık maksatla yetiştirilmektedir. Denemede kullanılan ürün kendi ekolojisinde tam olgunlaşma zamanında hasat edilerek şaraplık maksatla Tokat Dimes'te sıkılmış üründen çekirdekler ayrılarak kullanılmıştır.)] üzüm çeşidi çekirdeklerinin ekstraktları 2013 yılı ürününden ekstrakte edilerek kullanılmıştır. Bu üzüm çeşitlerinin özellikleri kısaca aşağıda sunulmuştur.

Müşküle: İznik ve Geyve civarında yetiştirilen son turfanda sofralık bir çeşittir. Omcaları kuvvetli gelişir. Kordon şeklinde terbiye edildiğinde iyi ve kaliteli ürün alınmaktadır. Kısa budanır. Omcaların üzerinde bekletilerek veya soğuk hava depolarında muhafaza edilerek pazar süresi uzatılmaktadır. İhraçlık çeşitlerimizden biridir. Kalın kabuklu ve beyaz renklidir.

Kara Dimrit: Kurutmalık çeşitlerdendir. Kırmızımsı mor renkli, hafif oval şekilli, küçük, 1-2 çekirdeğe sahiptir. Salkım yapısı sık, kanatlı silindirik, orta büyüklüktedir. Orta mevsimde olgunlaşır. Kısa budanır. Nevşehir, Niğde, Konya, Kayseri yörelerinde yetişmektedir.

Öküzgözü: Birçok yerde lokal pazarların sofralık çeşidi olmakla birlikte tek başına şarabının toplam asidi yüksek, alkolü az olmasına rağmen, dolgun bukeli kaliteli ve kendine has aromalı şarap veren bir çeşittir. Boğazkere çeşidinin şekeri daha yüksek olduğundan Öküzgözü-Boğazkere 2:1 oranında paçal yapılmaktadır. Bu paçal şarabın alkol derecesi %12-13, toplam asidi 5-6 g L^{-1} ve şekersiz kuru maddesi 22-24 g L^{-1} olup dengeli ve dolu bir yapıdadır. Karışık budanır, orta verimliktedir. Orta kalın kabuklu ve siyah renklidir.

3.2. Denemede Kullanılan Mikroorganizmalar

3.2.1. Mantarlar

***Botrytis**:* Bu organizma uzun, ince ve çoğu kez renkli konidioflar oluşturur. Miselleri, septalı olup konidiler en uçtaki hücre üzerinde meydana gelir. Konidileri tek hücreli olup, gri renklidir. Birçok bitki ve bitkisel gıda üzerinde gri küflenmeye yol açarlar. Meyve ve sebzelerin pazarlanması sırasında büyük sorun oluştururlar. *B.cinerea* bağlarda görülen külleme hastalığını yapar. Turunçgiller, çilek, armut, elma, üzüm gibi pek çok sebze ve meyvelerde de gri küf çürümesine neden olurlar. *B.allii* soğanların boyunlarında gri çürüme yaparak boğazdan itibaren dokuyu yumuşatır.

Aspergillus, dünyanın her yerine yayılmış yaklaşık 200 mantar (küf) türünden oluşmuş bir cinstir. Yuvarlak hücrelerden oluşmuş mayalardan farklı olarak, *Aspergillus*lar hif olarak adlandırılan hücre zincirlerinden oluşan ipliksi mantar türleridir. *Aspergillus* türleri aerobiktirler ve bol oksijenli hemen her ortamda rastlanırlar, yüzeyde küf olarak büyürler. Mantarlar genelde bol karbonlu yüzeylerde, glikoz gibi monosakkaritler ile büyümelerine karşın, *Aspergillus* amilaz enzimleri salgıladığı için nişasta gibi polisakkaritleri de kullanabilir. Bu yüzden *Aspergillus* türleri ekmek ve patates gibi nişastalı yiyeceklerin bozulmalarında sıkça görülür, ayrıca çoğu bitki ve ağaç üzerinde de büyürler.

Alternaria fungal hastalık etmeni olup, sporlarının bol miktarda üretildiği serin nemli havalar hakim olduğu zamanlarda bu hastalık etmeni ortaya çıkar. Birçok durumda hastalık etmeninden çoğunlukla alt yapraklar daha fazla etkilenir, buna rağmen hastalık şiddetli olarak ortaya çıktığında ise tüm bitki etkilenmektedir. Hastalık etmeni özellikle hasada yakın zamanda ya da hemen sonrası meyvelerde görüldüğünde ekonomik zararlara neden olmaktadır. Hastalık etmeni kış gibi olumsuz koşulları tarlada bitki artıkları üzerinde geçirmektedir. Patojenin enfeksiyonları hasattan önce meyvelerde ortaya çıkarsa meyveler üzerinde çöküntülere sebep verir. Enfekte olan alanın yüzeyi etmenin gri siyah sporları ile kaplanmaktadır. *Alternaria* sporları rüzgâr ve su sıçramaları ile yayılabilir. Hasat sonrası ise enfekte olan meyveler üzerinde fungusun tüylü misel gelişmesi görülebilir.

Penicillium; *Ascomyceteous* mantar cinsidir. Cinsinin bir kaç türü özellikle, *Penicillium expansum* sebze ve meyvelerin hastalanmasına neden olur (Stange ve ark., 2002; Gabier ve ark., 2005) ve potansiyel kanserojen etkiye sahip olan (Andersen ve

ark., 2004) mikotoksin patulin üretebilir. *Penicillium expansum* sarı ve mavi-yeşil renkte değişen misellere sahiptir. Meyvelerde yumuşak çürüme etkenidir. Citrinin, patulin, roquefortine C, chaetoglobosin C mikotoksinlerini üretir (Fischer ve ark., 2003).

3.2.2. Bakteriler

Pseudomonas aeruginosa: Bakteriler sınıfının Gamma Proteobacteria sınıfındadır. Gram-negatiftir, ve Pseudomonadaceae ailesinin aerobik kolundandır. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalayan fakat fermantasyon yapmayan bakterilerdir. Bu cinsin diğer üyeleri gibi, *Pseudomonas aeruginosa* serbest yaşayan bir bakteri olup toprak ve suda bulunur ve insanlarda en sık hastalık oluşturan *Pseudomonas* türleridir. Bunun yanı sıra genel olarak bitki yüzeylerinde ve daha az sıklıkta olmak üzere hayvansal organizma yüzeylerinde bulunmaktadır. ***Pseudomonas*** türlerini bitki patojeni olduğu bitki uzmanlarınca iyi bilinmektedir. Diğer taraftan *Pseudomonas aeruginosa* türü izolatlarının antibiyotik dayanıklılığının arttığı klinik deneylerle tespit edildiğinden daha fazla dikkat çekmektedir (Todar, 2013).

Klebsiella pneumoniae: *Klebsiella* türleri, çoğu klinisyen tarafından tedavi edilmediği zaman yüksek fatalite oranına sahip, ciddi piyojenik infeksiyonlara bağlı olarak gelişen toplumsal kaynaklı bakteriyel pnömoni nedeni olarak bilinmektedir. Fırsatçı patojenlerden olan *Klebsiella* türleri primer olarak hospitalize edilmiş ve diabetes mellitus veya kronik pulmoner obstrüksiyon gibi hastalığı olan immünkompromize bireylerde görülmektedir. Nozokomiyal *Klebsiella* infeksiyonlarının çoğu, genusun en önemli türleri olan *Klebsiella pneumoniae* ve *K. oxytoca* kaynaklıdır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa'da, *Klebsiella* türlerinin nozokomiyal bakteriyel infeksiyonların %8'inin nedeni olduğu düşünülmektedir. *Klebsiella* türlerinin iki tür doğal yerleşim yeri vardır. Bunlardan biri, su yüzeyleri, lağımlar, toprak ve bitkilerden oluşan çevredir. Diğer yandan insanlar, atlar veya domuzların mukozal yüzeylerine kolonize olurlar. *K. pneumoniae* insanların nazofarenks ve intestinal yollarında saprofit olarak bulunur. Gaitadan yakalanma oranı %5-38 oranında değişirken bu oran nazofarenkste %1-6'dır. Genellikle bu bölgelerde floranın geçici üyeleri olarak kabul edilirler (Podschun ve Ullmann, 1998).

Üriner sistem *Klebsiella* infeksiyonlarının en çok görüldüğü yerdir ve tüm nozokomiyal üriner sistem infeksiyonlarının %6-17'sinden sorumlu olup nefropatik

mesaneli veya diabetes mellituslu gibi spesifik hasta gruplarında daha fazla insidans göstermektedir. Nozokomiyal gram-negatif bakteremilerde *Klebsiella*, *E. coli'*den sonra en sık görülen bakteri türüdür. Özellikle geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlara bağlı çoğul antimikrobiyal dirençli suşların gittikçe artan oranda karşıya çıkması *Klebsiella* infeksiyonlarına ilgiyi arttırmaktadır (Aydoğan ve Başustaoğlu, 2000).

Enterococcus faecalis: *Enterococcus faecium* ile birlikte infeksiyonların büyük çoğunluğundan sorumlu olan iki enterokok türüdür. Bu bakteriler, sağlıklı erişkinlerde sıklık sırasına göre gastrointestinal sistem, oral kavite, vajina, safra kesesi ve üretranın normal florasında bulunurlar. Önceleri düşük infeksiyon potansiyelli mikroorganizmalar olarak düşünülen bu bakterilerin artık bakteremi ve endokardit gibi ciddi infeksiyonlara neden oldukları bilinmektedir. Ayrıca, batıniçi infeksiyonlar, pelvik ve üriner sistem infeksiyonlarından da sorumludurlar. Daha az olarak menenjit, sellülit ve pnömoni nedeni de olabilirler (Moellering, 1992; Johnson, 1994).

Gram pozitif bakteriler giderek artan sıklıkta hastane infeksiyonu etkeni olarak karşımıza çıkmalarının yanısıra, ileri derecedeki antibiyotik direnci nedeniyle ciddi bir sorun haline gelmişler ve bu bakterilerin neden olduğu infeksiyonlar son yıllarda yeniden önem kazanmaya başlamışlardır (Schaberg ve ark., 1991; Ulusoy, 1999)

***Escherichia coli*:** İlk defa 1885'te Dr. Theodor Escheric tarafından tanımlanan *Escherichia coli*, 1950 yılına kadar insan ve hayvanların bağırsak sisteminde normal florada bulunan, patojen olmayan bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir. Gıda hijyeninde indikatör mikroorganizma olarak kabul edilen ve fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilen *E. coli*; bazı serotiplerinin hastalıklara neden olduğunun ortaya çıkmasıyla potansiyel bir patojen olarak tanımlanmıştır (Doyle ve ark., 1990; Adams ve Moss, 1995).

E. coli ve özellikle *E. coli* O157:H7 düşük pH (pH 3,6 altında) değerlerindeki ortamlarda gelişim gösterebilmektedir. Ayrıca aside maruz kalma durumunda asit toleransının arttığı kaydedilmiştir (Lake ve ark., 2002). Aside dayanıklı olduğundan dolayı pH'sı 1-2 olan midede yaklaşık 3 saat süren sindirime dayanmakta ve ince bağırsaklara geçebilmektedir (Park ve ark., 1999).

Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapındadır. *E.coli* gram negatif bir bakteri olup endospor oluşturmaz, pastörizasyon veya kaynatma ile canlılığını yitirir. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır. İnsanda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir.

Yeni gıda kaynaklı patojenler arasında değerlendirilen *Escherichia coli* O157:H7 Enterobacteriaceae ailesi içerisinde bulunan, Gram-negatif, fakültatif anaerob, sporsuz, çubuk şeklinde bir bakteridir. Enterohemorajik *E. coli* O157:H7, 1982 yılında gıda patojeni olarak tanınmış, insan sağlığını tehdit eden mikroorganizmalardan biri olduğu kabul edilmiştir. Oluşturduğu verotoksinler hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura gibi hastalıklara neden olmaktadır (Takikawa ve ark., 2002; Bell ve Kyriakides, 2002). Aside dirençli olması sindirim sisteminde canlılığını korumasını sağlar ve mevcut salgınlardan elde edilen verilere göre, çok az sayıdaki hücre (<100) zehirlenmeye sebebiyet verdiği bildirilmektedir (Takikawa ve ark., 2002; Friedman ve ark., 2004; Bell ve Kyriakides, 2002).

Pastörize edilmemiş süt ürünleri, meyve suları ile yetersiz pişirilmiş et ürünleri, iyi yıkanmamış salatalar, sular riskli gıdalar olup, zehirlenme vakalarında *E. coli* O157:H7'nin izole edildiği gıdalar elma şırası, kıyma, kanatlı etleri, süt, hamburger, jambon ve peynirli sandviç gibi ürünlerdir (Kim ve ark., 2004).

Ürettiği toksin *Shigella dysanteria* tip I tarafından üretilen toksine benzerliğinden dolayı Shiga-benzeri toksin olarak adlandırılır. Bağırsaklarda aktif olan bu toksinler, endotel hücrelere bağlanarak hemolitik kolite neden olmaktadır (Bell ve Kyriakides, 2002)

ABD'nde *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu yılda yaklaşık 20000 adet zehirlenme vakası ve 250 adet HUS ve çeşitli komplikasyonlara bağlı ölüm rapor edilmektedir (Temelli, 2002).

Optimum gelişme sıcaklığı 37 ºC olan patojen bakteri, 7–10°C'ler den 50°C'lere kadar geniş bir aralıkta gelişebilmektedir. En iyi pH 7'de gelişme göstermesine rağmen pH 4.5-9.0 aralığında da gelişme gösterdiği bildirilmektedir. Ek olarak, 0.95 (a_w) ve altındaki su aktivitesine sahip, pH 4.4'ten daha asidik gıdalarda gelişebilmekte, % 6.5 gibi orta seviyede tuzda canlılığını koruyabilmektedir (Bell ve Kyriakides, 2002; Temelli, 2002).

Streptococcus pneumoniae: Gram pozitif, fakültatif anaerob hareketsiz mikroorganizmalardır. Kanlı agarda gri-beyaz, değişken koloniler oluşturur. İnsanda özellikle akciğer enfeksiyonları oluşturabilmektedir. Semptomlar genellikle ateş ve titreme veya ani bir titreme ile başlayabilir. Diğer belirtiler ise baş ağrısı, öksürük, göğüs ağrısı, oryantasyon bozukluğu, nefes darlığı, halsizlik olabilir (Ekici ve ark., 2008).

Staphylococcus aureus, *Stapylococcus* ilk kez 1882 yılında Alexander Ogston tarafından insanlarda piyogenik infeksiyonlara neden olduğu belirtilerek ortaya çıkmıştır (Adams ve Moss, 1995). *Staphylococcus* spp. *Micrococcaceae* familyasında yer alan gram pozitif, kok şeklinde, aerob yada fakültatif anaerob bir mikroorganizmadır. Sıvı besiyerlerinden yapılan mikrobiyolojik muayenelerde üzüm formunda görülür. Hareketsiz olup spor oluşturmaz ancak genç hücrelerde kapsül görülmektedir. Triptik soy agar gibi seçici olmayan besiyerlerinde beyaz-krem renkte yada parlak turuncu renkte renk pigmentasyonu yapar. 0.5-1.5 μm boyutlarında olup, tek, çift, dörtlü, kısa zincir oluşturacak şekilde veya düzensiz kümeler şeklinde görülebilmektedir. Mannitol ve çeşitli şekerleri fermente ederek asit oluşturur ancak gaz oluşturmaz. Kanlı agarda beta-hemoliz yapma özelliğine sahiptir (Sutherland ve Varnam, 2002).

Staphylococcus katalaz pozitif oksidaz negatiftir. Optimum gelişme sıcaklığı 37 °C de olup, 7-48 °C sıcaklık aralığında gelişim görülmektedir. Optimum pH değeri 6-7'dir. Gelişimin görüldüğü minimum pH değeri 4 maksimum 9.8-10'dur. %5-7 tuzlu ortamda gelişim gösterir. Bazı türleri, %20'lik tuz konsantrasyonuna kadar gelişebildiği belirtilmiştir. Düşük su aktivitesine sahip ortamlarda yaşayabilmektedir. 0.83-0.99 aw aralığında gelişim gösterirken *S. aureus*, enterotoksin üretmesi için minimum 0.86 aw değerine ihtiyaç duyar. Optimum aw değeri ise 0.99-0.99'dur. Üzüm salkımına benzeyen bir şekle sahip olmasından dolayı *Staphylococcus* olarak adlandırılmıştır (Adams ve Moss, 1995).

Stafilokoklar, sporsuz bakteriler içinde çevre şartlarına ve dezenfektanlara en çok dayanan, kültürlerde 4 °C'de 2-3 ay, -20 °C'de 3-6 ay dayanma süresine sahip mikroorganizmalardır. 60 °C'deki ısıya 30 dakika dayanabilirler. Antibiyotiklere karşı çok çabuk direnç oluştururlar. Sahip olduğu penisilinaz etkisiyle penisilinin etkisini ortadan kaldırırlar (Leloğlu, 1997).

Bütün dünyada sıklıkla rastlanan bakteriyel kaynaklı gıda zehirlenmesi olguları arasında ilk sıralarda yer alan Staphylococcus intoksikasyonları, sindirim sistemi üzerine etkili enterotoksinler tarafından meydana getirilirler. Bazen diğer stafilokok türleri de stafilokokal enterotoksin üretseler de toksinler hemen hemen yalnızca *Staphlocoocus aureus* tarafından oluşturulurlar (Erol, 1999).

3.2.3. Mikroorganizmaların kaynağı ve devamlılığının sağlanması

Gram-pozitif organizmalar (*Enterococcus faecalis* 51299*, Streptococcus pneumonia* 49619 and *Staphylococcus aureus* 44300) ve gram-negatif organizmalar (*Escherichia coli* 35218*, Pseudomonas aeruginosa* 27853*,* ve *Klebsiella pneumonia* 700603) Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarından ve mantarlar (*Botrytis cinerea, Alternaria alternata, Aspregillus niger* ve *Penicillium expansum*) İstanbul Okan Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Bu mikroorganizmalar Mueller- Hinton Agar ortamında (Sigma, TR) muhafaza edilmiştir. Her deneme için 24 saat yaşlı saf kültürler hazırlanmıştır.



Şekil 3.1. Denemede kullanılan bakteri stokları

3.3. Metot

3.3.1. ÜÇY'nın elde edilmesi

Ezilip sıkılarak meyve etinden ayrılan üzüm çekirdekleri kurutulduktan sonra ezilip toz haline getirilmiş ve yağlı materyal bir Soxhlet cihazında (60–80 °C) dietileter ile 6 saatte çözdürülerek elde edilmiştir. Bu ekstraktlar aseton : su : asetik asit (90:9.5:0.5) ve methanol : su : asetik asit (90:9.5:0.5) içerisinde 8 saat süreyle ayrı ayrı olmak üzere ekstraksiyona tabi tutulmuşlardır. Kullanılan tüm solvent ve kimyasallar Merck, İstanbul'dan temin edilmiştir.



Şekil 3.2. Denemede kullanılan ÜÇY'nın elde edilmesi

3.3.2. ÜÇY'nın mantar türlerinde antifungal etkilerinin tespiti

Müşküle, Öküzgözü ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinden elde edilen ÜÇY 50'şer mikrolitre disklere emdirilerek Patates Dekstroz Agar üzerine ekilmiş olan *Penicillium expansum, Aspergillus niger*, *Botriytis Cinerea* ve *Altenaria Alternata* mantarları

üzerine yerleştirilmiştir. Disklerde inhibisyon zonu görülmesi halinde makro dilisyon yöntemi ile yeniden duyarlılık araştırması yapılmıştır.

3.3.3. ÜÇY'nin bakteri türlerinde antibakteriyel etkilerinin tespiti

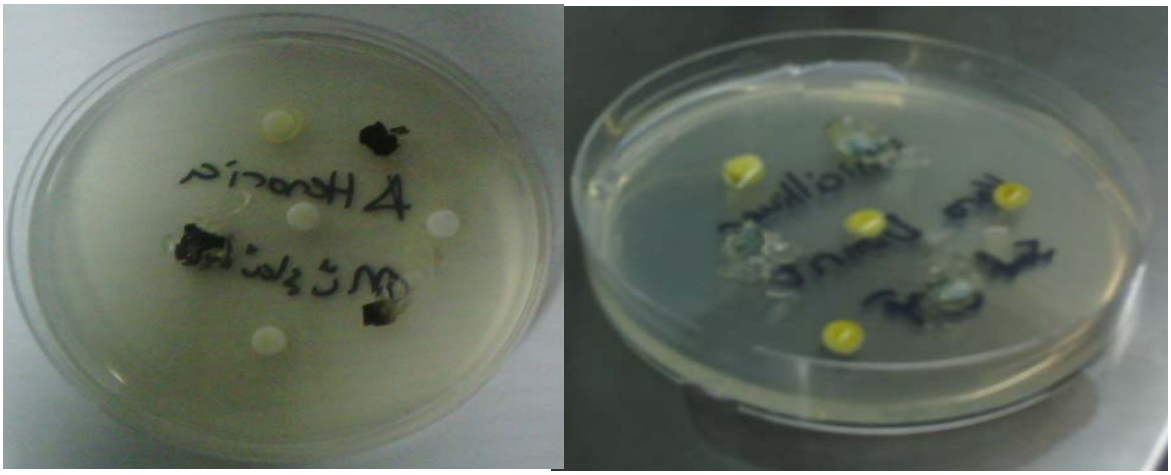
Pseudomonas Aeruginosa, *Klebsiella Pneumoniae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus* bakterileri makro dilüsyon yöntemi ile inhibe edilebilme nitelikleri incelenmiştir. Stok solüsyonlar oluşturulup 37 °C 24 saat seri dilüsyonlar elde edilerek inhibisyon etkileri araştırılmıştır.



Şekil 3.3. Denemede kullanılan ÜÇY stok solüsyonları

3.3.4. Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yönteminde test edilen mikroorganizma ile inokule edilmiş katı agar üzerinde yer alan disk ya da oluşturulan havuzcuk/kuyuya antimikrobiyal eklenmektedir. Agar bünyesinde antimikrobiyalin tekdüze bir şekilde difüzlenebilme yeteneğine dayanarak inhibisyon zonları oluşmakta, bu zonların çapları ölçülerek antimikrobiyal etki hakkında bilgi edinilmektedir (Davidson and Parish, 1989; Nychas ve Skandamis, 2003; Kim ve ark., 2004; Mann ve Markham, 1998).



Şekil 3.4. Disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel etkilerin tespiti

İnhibisyon zonunun büyüklüğü etken maddenin çözünürlüğüne ve difüzlenebilme yeteneğine bağlı olmaktadır (Hao ve ark., 1998). Çok sayıda mikroorganizma ya da çok sayıda antimikrobiyali incelemek için pratik bir yöntem olup, birbiri içerisinde bağıl antimikrobiyal etkiyi belirleme imkanını sağlamakta, yine de test edilen mikroorganizma üzerindeki etkisini belirlemek için tek başına yeterli olmamaktadır (Kim ve ark., 2004).

3.3.5. Antimikrobiyal etki mekanizması

Fenolik bileşenlerin gösterdiği antimikrobiyal etki mekanizması konsantrasyona bağlı gerçekleşmektedir. Düşük konsantrasyonlarda enerji üretiminde görev alan enzimlere etki ederken, yüksek konsantrasyonlarda protein denaturasyonuna neden olduğu belirtilmektedir. Etki mekanizması ile ilgili bir diğer yaklaşımda mikrobiyal gelişim ve toksin oluşumuna engel olacak şekilde hücre zarının tahrip olduğu ve makro moleküllerin hücre dışına çıkarak hücresel bütünlüğün kaybolduğu ileri sürülmektedir. Hücresel enerji üretimi ve yapısal bileşenlerin sentezinde etkili olan enzim sisteminin hasara uğratılması da hücresel ölümü beraberinde getirmektedir (Kim ve ark. 2004; Tassaou ve Nychas, 2004; Meyer ve ark., 2002; Cutter, 2000).



Şekil 3.5. Antibakteriyel etkinin tespiti

3.3.6. Kültür ortamları

Bu çalışmada mantar türleri olarak *Penicillium expansum, Aspergillus niger*, *Botriytis cinerea* ve *Altenaria alternata* bakteri türleri olarak da gram negatif *Escherichia coli* 35218, *Klebsiella pneumonia* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ve gram pozitif *Enterococcus feacalis* 51299, *Staphylococcus aureus* 44300, *Streptococcus pneumonia* 49619 kullanılmıştır.

Mantar türleri üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda besi yeri olarak Patates Dekstroz Agar (Merck KgaA, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Stok kültürler Kan Agar (TSA) (Merck KgaA, Darmstadt, Almanya)'da +4 °C'de muhafaza edilecek, 35 °C'de 24 saat inkübe edilerek tazelenmiştir.

Müşküle, Kara Dimrit ve Öküzgözü üzüm çeşitlerinden elde edilen üzüm yağı dimetilsülfoksit içerisinde çözdürülerek nihai konsantrasyon olarak ilk tüpte 2.04 mg

mL^{-1} olacak şekilde stok solüsyonu hazırlanmıştır. 14 adet steril tüpler hazırlanarak Mueller-Hintonbroth mayisinden 500'er µL dağıtılmıştır. Stok solüsyonundan ilk tüplere 500'er µL eklenerek aktarım yolu ile dilüsyonlar yapılmıştır. 14. tüpe yalnızca bakteri solüsyonu, 13. tüplere ise sadece üzüm yağından oluşturulan stok solüsyonundan ilave edilmiştir. Bu şekilde her üç madde için ayrı ayrı altışar tane seri dilüsyonlar oluşturulmuştur. Oluşturulan bu dilüsyon tüplerine *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Staphylococcus aureus* 44300, *Escherichia coli* 35218, *Streptococcus pneumonia* 49619, *Klebsiella pneumonia* 700603 ve *Enterococcus feacalis* 51299 standart suşları ile nihai konsantrasyonda 0.5 McFarland standardında bakteri solüsyonu içerecek şekilde hazırlanan bakteri solüsyonlarından 500'er µL eklenmiştir. Bahsedilen konsantrasyonlarda inhibisyon vermeyenler için üzüm yağı konsantrasyonları artırılarak (ilk tüp 65.53 mg mL^{-1} olacak şekilde, önceki çalışma ile uyumlu konsantrasyonda) beşer tüp daha eklenmiş ve çalışma benzer şekilde tekrarlanmıştır. Gözle inhibisyon olduğu gözlenen tüpler ve bir önceki ve bir sonraki tüplerden kanlı agara (Mueller-Hinton Agar Sigma, TR besi yeri üçe bölünerek) ekimler yapılmış ve inhibisyon kontrol edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Antifungal Ekiler

Müşküle, Öküzgözü ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinden elde edilen ÜÇY 50'şer mikro litre disklere emdirilerek Patates Dekstroz Agar üzerine ekilmiş olan *Penicillium expansum, Aspergillus niger*, *Botriytis Cinerea* ve *Altenaria Alternata* mantarları üzerine 0.004 mg mL^{-1}, 0.008 mg mL^{-1},0.016 mg mL^{-1}, 0.032 mg mL^{-1}, 0.064 mg mL^{-1}, 0.128 mg mL^{-1}, 0.256 mg mL^{-1}, 0.*512* mg mL^{-1}, 1.024 mg mL^{-1}, 2.048 *mg* mL^{-1}, 4.09 mg mL^{-1}, 8.19 mg mL^{-1}, 16.38 mg mL^{-1}, 32.76 mg mL^{-1}, 65.53 mg mL^{-1} *seri solüsyonlar* ve saf yağ konsantrasyonlarında çalışma yapılmıştır. Konsantrasyonlar disklerde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmamıştır.



Şekil 4.1. ÜÇY'nın antifungal etkileri

4.2. Antibakteriyel Etkiler

İlk çalışmada *Streptococcus pneumonia* için Müşküle ÜÇY ile yapılan duyarlılık çalışmasında dilüsyonların ilkinde (2.04 mg mL^{-1} konsantrasyonunda) inhibisyon gözlenmiştir. Diğer çalışmaların hiçbirinde inhibisyon gözlenmemiştir. Daha sonraki çalışmada, Müşküle, Öküzgözü ve Kara Dimrit türlerinde *Streptococcus pneumonia* için sırası ile; 2. (32.76 mg mL^{-1} konsantrasyonunda), 6. (2.04 mg mL^{-1} konsantrasyonunda) ve 5. (4.09 mg mL^{-1} konsantrasyonunda) dilüsyonlarda, *Staphylococcus aureus* için

Müşküle'de 2. (32.76 mg mL^{-1} konsantrasyonunda) dilüsyonlarda, Öküzgözü için birinci (65.53 mg mL^{-1} konsantrasyonunda) dilüsyonlarda inhibisyon gözlenmiştir. Diğerler mikroorganizmalar için hiçbir dilüsyonda inhibisyon gözlenmedi.

4.2.1. Kara Dimrit üzüm çekirdeği yağının antibakteriyel etkisi

Kara Dimrit üzüm çeşidi çekirdeğinden elde edilen yağın antibakteriyel etkisi kültür ortamına konulan artan dozlardaki (0-65.53 mg mL^{-1}) ekstraktın *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus* inhibisyon etki düzeylerine bakılarak tespit edilmiştir (Çizelge 1). *Streptococcus pneumoniae* dışında denemede kullanılan hiçbir bakteri türünün *in vitro* gelişimini engelleme etkisi tespit edilememiştir. *Streptococcus pneumoniae* bakteri türünün *in vitro* gelişimi engelleme 2.04 mg mL^{-1} 4.09 mg mL^{-1} ve 32.76 mg mL^{-1} dozlarında engellendiği belirlenmiştir.

4.2.2. Öküzgözü üzüm çekirdeği yağının antibakteriyel etkisi

Öküzgözü üzüm çeşidi çekirdeğinden elde edilen yağın antibakteriyel etkisi kültür ortamına konulan artan dozlardaki (0-65.53 mg mL^{-1}) ekstraktın *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus* inhibisyon etki düzeylerine bakılarak tespit edilmiştir (Çizelge 1). *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* dışında denemede kullanılan öteki bakteri türlerinin *in vitro* gelişimini engelleme etkisi tespit edilememiştir. *Streptococcus pneumoniae* bakteri türünün *in vitro* gelişimi 2.04 mg mL^{-1} 4.09 mg mL^{-1} ve 32.76 mg mL^{-1} dozlarında engellendiği belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* bakteri türünün *in vitro* gelişimini engelleme etkisi ise sadece mg mL^{-1} dozunda tespit edilmiştir.

Çizelge 1. ÜÇY'nın antibakteriyel etkileri

Doz (µg mL^{-1})	*Ec-KD*	*Ec-Ö*	*Ec-M*	*Kp-KD*	*Kp-Ö*	*Kp-M*	*Pa-KD*	*Pa-Ö*	*Pa-M*	*Ef-KD*	*Ef-Ö*	*Ef-M*	*Sa-KD*	*Sa-Ö*	*Sa-M*	*Sp-KD*	*Sp-Ö*	*Sp-M*
Saf bacteri																		
Saf yağ																		
1																		
2																		
4																		
8																		
16																		
32																		
64																		
128																		
256																		
512																		
1024																		
2048																+	+	+
4096																+	+	+
8192																		
16384																		
32768															+	+	+	+
65536														+				

Ec-KD: *Escherichia coli* 35218-Kara Dimrit, Ec-Ö: *Escherichia coli* 35218-Öküzgözü, Ec-M: *Escherichia coli* 35218-Müşküle; Kp-KD: *Klebsiella pneumonia* 700603-Kara Dimrit, Kp-Ö: *Klebsiella pneumonia* 700603, Kp-M: *Klebsiella pneumonia* 700603-Müşküle; Pa-KD: *Pseudomonas aeruginosa* 27853 - K Dimrit; PA-Ö: *Pseudomonas aeruginosa* 27853, Pa-M: *Pseudomonas aeruginosa* 27853-Müşküle; Ef-KD: *Enterococcus feacalis* 51299-Kara Dimrit, Ef-Ö: *Enterococcus feacalis* 51299-Öküzgözü, Ef-M: *Enterococcus feacalis* 51299-Müşküle; Sa-KD: *Staphylococus aureus* 44300-Kara Dimrit, Sa-Ö: *Staphylococus aureus* 44300-Öküzgözü, Sa-M: *Staphylococus aureus* 44300-Müşküle; Sp-KD: *Streptococcus pneumonia* 49619-Kara Dimrit, Sp-Ö: *Streptococcus pneumonia* 49619-Öküzgözü, Sp-M: *Streptococcus pneumonia* 49619-Müşküle.

4.2.3. Müşküle üzüm çekirdeği yağının antibakteriyel etkisi

Müşküle üzüm çeşidi çekirdeğinden elde edilen yağın antibakteriyel etkisi kültür ortamına konulan artan dozlardaki (0-65.53 mg mL^{-1}) ekstraktın *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae, Enterococcus faecali, Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus* inhibisyon etki düzeylerine bakılarak tespit edilmiştir (Çizelge 1). *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* dışında denemede kullanılan öteki bakteri türlerinin *in vitro* gelişimini engelleme etkisi tespit edilememiştir. *Streptococcus pneumoniae* bakteri türünün *in vitro* gelişimi engelleme 2.04 mg mL^{-1} 4.09 mg mL^{-1} ve 32.76 mg mL^{-1} dozlarında engellendiği belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* bakteri türünün *in vitro* gelişimini engelleme etkisi ise sadece 32.76 mg mL^{-1} dozunda tespit edilmiştir.

ÜÇY'nın antibakteriyel and antimikrobiyal etkileri Jayaprakasha *ve ark.,* (2003); Baydar, *ve ark.,* (2006); Brown *ve ark.,* (2008); Furiga *ve ark.,* (2009), Nirmal ve Narendhirakannan, (2011); Adámez *ve ark.,* (2012); Shrestha *ve ark.,* (2012); Mirkarimi *ve ark.,* (2013); Silván *ve ark.,* (2013); Molva and Baysal, (2015) tarafından raper edilmiş olup bu etkiler tür ve streinlere göre değişiklikler göstermektedir. Diğer taraftan ÜÇE'nin kompozisyonları da çeşitlere göre değişmektedir (Baydar, *ve ark.,* (2006) and Sabir *ve ark.,* (2012)).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Dietileter ekstraksiyonu ile üç farklı üzüm çeşidinden elde edilen ÜÇY *in vitro* uygulamalarının *Botriytis cinerea, Penicillium expansum, Aspergillus niger* ve *Altenaria alternate* mantar türlerine sınırlayıcı, engelelyici veya fungusit olarak bir etkisi tespit edilememiştir. Bununla birlikte üzüm çeşitleri düzeyinde edile edilen ekstrakt kompozisyonlarının da değiştiği bilinmektedir. Farklı üzüm çeşitlerinden farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilecek ekstraklarının antifungal potansiyellerinin araştırılmasına devam edilmelidir.

Müşküle, Öküzgözü ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinden ekstrakte edilen ÜÇY uygulamaları denemede kullanılan gram negatif bakteri streinlerine sınırlandırıcı, engelleyici veya antibakterisid etki ortaya koymamışlardır.

Bu denemede kullanılan Müşküle, Öküzgözü ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinden ekstrakte edilen ÜÇY uygulamaları gram pozitif bakterilerden *Staphylococus aureus* ve için antibakteriyel etki ortaya koymuşlardır. Gram pozitif bakterilerden *Streptococcus pneumonia* için antibakteriyel etki Öküzgözü ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinden elde edilen eksratlarla sağlanmıştır.

Bu sonuçlar ÜÇY'nın antibakteriyel potansiyele sahip oldukları, üzüm çeşitlerine göre elde edilen ekstarktların antibakteriyel etki potansiyellerinin farklı olduğu, gram pozitif bakterilere Müşküle, Öküzgözü ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinden ekstraktların daha etkili oldukları ortaya konmuştur.

Antimikrobiyal etkilerin mantar ve bakteri streinleri üzerinde detaylı çalışmalarla devamı ile alternatif antibakteriyel uygulamalar için bir alternatif oluşturabilir.

5.2 Öneriler

Üzüm çeşitlerine göre ekstre edilen ÜÇY da farklı olduğundan değişik üzüm çeşitleriniden elde edilecek ÜÇY ile farklı mantar türleri üzerine fungusit etki çalışmalarına devam edilmelidir. Bu şekilde elde edilebilecek bir ÜÇY özellikle sofralık üzümün hasat sonrası sürecindeki kalitenin organik yöntemlerle korunmasına katkı sağlayabilir. Benzer etkiler diğer çabuk bozulan bahçe ürünleri için de araştırılabilir.

Staphylococus aureus bakteri türünün zararlı olduğu alanlarda antibakteriyel etkisi nedeniyle Müşküle üzüm çeşitlerinden elde edilen yağ 32.76 mg mL^{-1} dozunda ve Öküzgözü ve üzüm çeşitlerinden elde edilen yağ 65.53 mg mL^{-1} dozunda bakterisid olarak kullanılabilir.

Streptococcus pneumonia bakteri türünün zararlı olduğu alanlarda antibakteriyel etkisi nedeniyle Kara Dimrit, Öküzgözü ve Müşküle üzüm çeşitlerinden elde edilen yağlar 2.04 mg mL^{-1} 4.09 mg mL^{-1} ve 32.76 mg mL^{-1} dozlarında bakterisid olarak kullanılabilir.

Özellikle Öküzgözü ve Kara Dimrit üzüm çeşitleri sanayide işlendiğinden yan ürün (atık) olarak ortaya çıkan cibre içerisinde bulunan üzüm çekirdekleri ayrılıp üzüm çekirdeği yağı elde edilmesinde temel kaynak olarak kullanılabilir. Buradan elde edilen ÜÇY katma değeri yüksek bir ürün olarak gıda sanayi ve tıbbi mikrobiyolojinin gerek duyulan tüm alanlarında girdi olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

Adámez, J.D., E.G. Samino, E.V. Sánchez, and D. González-Gómez, 2012. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Control*, **24**, 136-141.

Adams, M.R. and Moss, M.O., 1995. Food Microbiology, University of Surrey, Guildford, UK, The Royal Society of Chemistry.

Adrian, M., P. Jeandet, J. Veneau, L. Weston, and R. Bessis, 1997. Biological activity of resveratrol, a stilbenic compound from grapevines, against *Botrytis cinerea*, the causal agent for grey mold. *J. Chem. Ecol*., **23**, 1689-1699.

Aibinu, I., E. Adenipekun, and T. Odugbemi, 2004. Emergence of quinolone resistance amongst escherichia coli strains isolated from clinical infections in some lagos State Hospitals in Nigeria. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Science*. **3**(2), 73–78.

Akgün, N., Akgün, M., 2006. Extractıon of grape seed by supercritical carbon dioxide. Journal of Engineering and Natural Sciences Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi **4**, 49-58.

Akinyemi, K.O., O. Oladapo, C.E. Okwara, C.C. Ibe, K.A. Fasure, 2005. Screening of crude extracts of six medicinal plants used in southwest Nigerian unorthodox medicine for antimethicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **5**(6), 1-7.

Andersen, B., Smedsgaard, J., Frisvad, J.C., 2004. *Penicillium expansum*: consistent production of patulin, chaetoglobosins, and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products. *J. Agric. Food Chem,* **52**, 2421–2428.

Anonim, 2000. National committee for clinical laboratory standards, author. Methods for dilution, antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 5th ed. pp 30.

Anonim, 2013., http://tr.wikipedia.org Erişim tarihi: 15.12.2013

Anonim, 2014a. http://web.inonu.edu.tr/~iozerol/iozerol/bakterıyoloji/Streptococcus_spp/Streptococcus_pneumoniae/index.htm, Erişim tarihi: 15.12.2013

Anonim, 2014b. http://www.idph.state.ia.us/cade/DiseaseIndex.aspx?disease=Streptococcus%20pneumoniae, Erişim tarihi 11.02.2015.

Arnous, A. and A.S. Meyer, 2008. Comparison of methods for compositional characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) and apple (*Malus domestica*) skins. *Food and Bioproducts Processing*, **86**(7), 9–86. □

Arserim, D.K., Korel, F. ve Bayraktar, O., 2008. Antimicrobial activities of silk fibroin-carrageenan films incorporating grape seed extract, The 21st International ICFMH Symposium, 462, September 1-4, Aberdeen, İskoçya, 2008.

Artık, N., 2006. Türkiye'de yetiştirilen başlıca üzüm çeşitlerinden elde edile çekirdeklerin flavan-3 ol bileşimi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Raporu; http://acikarsiv.ankara.edu.tr/browse/2089/2760.pdf?show Erişim tarihi: 23.11.2013

Atata, R., A. Sani, and S.M. Ajewole, 2003. Effect of stem back extracts of *Enantia chlorantaon* some clinical □isolates. *Biokemistri*, **15**(2), 84–92. □

Aydoğan, H. ve Başustaoğlu, A., 2000. Nozokomiyal Patojen Olarak Klebsiella Türlerinin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri. *Hastane İnfeksiyonlari Dergisi*, **4**, 135-143.

Baiano A., Lamacchia, C., Previtali, M.A., Tufariello, M., Arace, E., La Notte, E., 2013. Influence of post-harvest treatments on the quality of table grape from Apulia (Italy). Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Foggia Via Napoli, 25 – 71100 Foggia – ITALY

Baydar, N., Akkurt, M., 1999. Bazı üzüm çekirdeklerinin Yağ içeriği ve yağ kalite özellikleri, Turk J Agric For 25: 163-168.

Baydar, N., Özkan, G., Sağdiç, O., 2004, Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, **15**(5), 335–339.

Baydar, N.G., O. Sağdıç, G. Özkan, and E.S. Çetin, 2006. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, **41**, 799-804.

Bell, C. and Kyriakides, A., 2002. Pathogenic Escherichia coli in: Foodborne pathogens, Hazard, risk analysis and control, Edited by; Blacburn, C.W., McClure, J., CRC Press, Washington, DC,279-306.

Brown, J.C., G. Huang, V. Haley-Zitlin, and X. Jiang, 2008. Antibacterial Effects of Grape Extracts on *Helicobacter pylori. Applied and Environmental Microbiology,* **75**(3), 848–852.

Burr T.J., Reid C.L. , Tagliati E., Bazzi C., and Süle, S., 1997. Biological control of grape crown gall by strain F2/5 ıs not associated with agrocin production or competition for attachment sites on grape cells. *Phytopathology*, **87**(7), 706-711.

Cotoras, M., C. Garcia, and L. Mendoza, 2009. *Botrytis cinerea* isolates collected from grapes present different requirements for conidia germination. *Mycologia*, **101**(3), 287–295.

Cutter, C.N., 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against *Eshericia coli O157*:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection*, **63**(5), 601-607.

Çetin, A., Kaynar, L., Koçyiğit, İ., Hacıoğlu, S., Kabuksu., Saraymen, R., Öztürk, A., Orhan, O., Sağdıç, O., 2008. Sıçan karaciğerinde radyasyonun yol açtığı oksidatif strese üzüm çekirdeği ekstresinin etkisi. http://www.mcaturk.com/kansere-karsı-uzum-cekırdegı_1674.htm Erişim tarihi: 23.06.2011.

Davidson, P.M. and Parish, M.E., 1989, Methods of testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology*, **43**, 148-155.

Donoso, A., and B.A. Latorre, 2006. Characterization of blue mold caused by *Penicillium* spp. in cold stored table grapes. *Cien. Inv. Agr.,* (on line) **33**,119-130.

Doyle, M.Pi and Cliver, DiO., 1990. *Escherichia coli*, Chapter 13, Foodborne Diseases, Ed, DO Cliver, 209-215, Academic Press, Inc, San Diego, California 92101, USA.

Droby, S., M. Wisniewski, D. Macarisin, and C. Wilson, 2009. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm?, *Postharvest Biol. Technol*., **52**, 137–145.

Edder, P., Ortelli, D., Corvi, C., 2005. Survey of pesticides residues in pomes fruits and tomatoes from local and foreign productions. *Trav Chim Aliment Hyg.* **95**, 437–446.

Ekici, L., Telli, R., YetiM, H. 2008. Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyon bakterileri-I. Teknolojik Araştırmalar: *GTED*, 2, 29-42.

El-Adawi, H., El-Deeb, N., 2012, Inhibitory effect of grape seed extract (GSE) on cariogenic bacteria. *Planta Med,* **78**(11), 1288.

Elmer, P.A.G. and T. Reglinski, 2006. Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. *Plant Pathology*, **55**, 155–177.

Erol, İ., 1999. Besin Hijyeni, Ankara Üniv. Vet Fak., Ankara.

Fao, 20115. www.fao.org, Erişim tarihi 11.02.2015.

Fischer, G., Braun, S., Dott, W., 2003. Profiles of Microfungi- Penicillium chrysogenum and P. expansum. *International Journal of Hygiene Environmental Health*, **206**, 65-67.

Franck, J., B.A. Latorre, R. Torres, and J.P. Zoffoli, 2005. The effect of preharvest fungicide and postharvest sulfur dioxide use on postharvest decay of table grapes caused by *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology*, **37**, 20-30.

Friedman, M., Henika, P.R., Levin, C.E. and Mandrell, R.E., 2004. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli 0157:H7* and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 6042-6048.

Furiga A., Lonvaud-Funel A., Cecile B., 2009, In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. *Food Chemistry*, **113**(4), 1037–1040.

Furiga, A., Lonvaud, Funel, A. and Badet, C., 2009. In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. *Food Chem*, **113**(4), 1037-1040.

Gabier, A.C., Gourdon, P., Reitz, J., Leveau, J.Y., Bouix, M., 2005. Intracellular physiological events of yeast *Rhodotorula glutinis* during storage at +4 °C. *Int. J. Food Microbiol,* **105**, 97–109. □

Ganan, M., J.M. Silván, A.V. Carrascosa, and A.J. Martínez-Rodríguez, 2012. Alternative strategies to use antibiotics or chemical products for controlling *Campylobacter* in the food chain. *Food Control*, **24**, 6-14.

Hao, Y.Y., Brackett, R.E. and Doyle, M.P., 1998. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated cooked poultry. *Food Microbiology*, **15**, 367-378.

Jayaprakasha, G.K., T. Selvi, and K.K. Sakariah, 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, **36**, 117–122.

Johnson, A.P., 1994. Reviews: The patogenicity of enterococci. *J Antimicrob Chemother,* **33**, 1083-1089.

Kara, Z., 2011. Bağcılık. Mevka Bağcılık Projesi eğitimi yayını, pp. 147.

Kara, Z., F.K. Sabir, K. Yazar, A. Sabir, 2012. Maintaining postharvest quality of table grapes (*V. vinifera* L.) by pre-storage grape seed oil treatment. *35th World Congress of Vine and Wine OIV 2012, 18-22 June 2012, İzmir*, (in press).

Keneddy, J., Matthews, M., Waterhouse, A., 2000. Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening, *Phytochemistry,* **55**,77-85.

Kim, H.O., Park, S.W. and Park, H.D., 2004. Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology*, **21**, 105-110.

Lake, R., Hudson, A., Cressey, P., 2002. Risk Profile: Shıga toksin-producing Escherichia coli in red meat and meat products, Institute of Environmental Science & Research Limited Christchurch Science Centre, New Zealand.

Latorre, B.A., S.C. Viertel, and I. Spadaro, 2002. Severe outbreaks of bunch rots caused by *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* on table grape in Chile. *Plant Disease*, **86**(7), 815.

Leloğlu N., 1997. Gram pozitif Koklar, Özel Mikrobiyoloji, Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N ve Akay Ö., Vol. 2, 31-39, Medisan Yayınları, Ankara.

Leroux, P., 1996. Recent developments in the mode of action of fungicides, Pe*sticide Sci.*, **47**, 191–197.

Lichter, A., Zutkhy, Y., Sonego, L., Dvir, O., Kaplunov, T., Sarig, P., Ben-Arie, R., 2002. Ethanol controls postharvest decay of table grapes. *Postharvest Biology and Technology,* **24**, 301-308.

Lydakis D. and Aked, J., 2003. Vapour heat treatment of Sultanina table grapes. I: Control of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, **27**, 109-116.

Mann, C.M. and Markham, J.L., 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, **84**, 538-544.

Meyer, A.S., Nielsen, S.P., Lyngby and Holm, F., 2002. Natural food preservatives in minimal processing technologies in the food industry. Ch 6, Eds. Ohlsson, I. & Bengtsson N., CRC Press.

Mirkarimi, M., S.M. Amin-Marashi, M. Bargrizan, A. Abtahi, and A.A.I. Fooladi, 2013. The Antimicrobial Activity of Grape seed extract against two ımportant oral pathogens. *ZJRMS*, **15**(1), 43-46.

Moellering, R.C., 1992. Emergence of enterococcus as a significant pathogen. *Clin Infect Dis,* **14**, 1173-8.

Molva, C. and A.H. Baysal, 2015. Antimicrobial activity of grape seed extract on *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 3922 vegetative cells and spores in apple juice. *LWT - Food Science and Technology*, **60**(1), 238-245.

Monagas, M., G.C. Cordoves, B. Bartolome, O. Laureano, and J.M. Ricardo da Silva, 2003. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Agri Food Chem*, **51**, 6475–6481. □

Moreillion, P., Y.A. Que, and M.P. Glauser, 2005. *Staphylococcus aureus* (Including Staphyloccal Toxic shock) In: Principles and Practice of Infectious diseases‘. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. 6th ed. Vol. 2. Pennyslyvania: Published by Churchill Livingstone; pp. 2333–2339.

Nirmal, J.G. and R.T. Narendhirakannan, 2011. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of grapes (*Vitis vinifera*. L) seed and skin extracts - Muscat variety, *Int J Pharm Pharm Sci*, **3**(4), 242-249.

Nychas, G.J.E. and Skandamis, P.N., 2003. Antimicrobials from herbs and spices in *Natural Antimicrobials for Minimal Processing of Foods*, Ch 9, Eds. Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N. and Tassou, C.C., CRC Press (http://www.foodnetbase.com/ ejournals/ books)

Palma M., and Taylor L.T., 1999. Fractional extraction of compounds from grape seeds by supercritical fluid extraction and analysis for antimicrobial and agrochemical activities. J. Agric. *Food Chem*., **47**(12), 5044–5048.

Park S, Worobo R, Durst R., 1999. Escherichia coli O157:H7 as an emerging food borne pathogen: a literature review, Crit. Rev. In Food Science and Nutrition, 39: 481-502.

Park, S.F., 2002. The physiology of Campylobacter species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, **74**, 177-188.

Pinto, R., Lichter, A., Danshin, A., Sela, S., 2006. The effect of an ethanol dip of table grapes on populations of *Escherichia coli*. Postharvest Biology and Technology, **39**, 308-313.

Podschun, R. and Ullmann, U., 1998. *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev,* **11**(4), 589-603.

Pretel M.T., Martínez-Madrid M.C., Martínez J.R., Carreño J.C., Romojaro F., 2006. Prolonged storage of 'Aledo' table grapes in a slightly CO2 enriched atmosphere in combination with generators of SO2. *LWT*, **39**, 1109–1116.

Pretorius, J.C., S. Magama, and P.C. Zietsman, 2003. Growth inhibition of plant pathogenic bacteria and fungi by extracts from selected South African plant species. *South African Journal of Botany*, **20**,188-192.

Raspor, R., D. Miklic-Milek, M. Avbelj, and N. Cadez, 2010. Biocontrol of Grey Mould Disease on Grape Caused by *Botrytis cinerea* with Autochthonous Wine Yeasts. *Food Technol. Biotechnol.*, **48**(3), 336–343.

Revilla, E., Escalona, J.M., Alonso, E., Kovač, V., 1995. The phenolic composition of table grapes. u: Charalambous G. (ur.) Food flavors: Generation, analysis and process influence, *Amsterdam: Elsevier*, *str*. 1579-1596.

Sabir, A., Unver, A. and Kara, Z. 2012. The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from twenty-one grape varieties (*Vitis* spp.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **92**(9), 1982-1987.

Salzman, R.A., Tikhonova, I., Bordelon, B.P., Hasegawa, P.M. and Bressan, R.A., 1998. Coordinate accumulation of antifungal proteins and hexoses constitutes a developmentally controlled defense response during fruit ripening in grape. *Plant Physiol*., **117**, 465–472.

Schaberg, D.R., Culver, D.H,, Gaynes, R.P., 1991. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med.* **91**(Suppl 3B), 725-728.

Serra, A.T., Matias, A., Nunes, A.V.M., Leitão, M.C., Brito, D., Bronze, R., Silva, S., Pires, A., Crespo, M.T., Romão, M.V.S. and Duarte, C.M., 2008. In vitro evaluation of olive- and grape-based natural extracts as potential preservatives for food. *Innovative Food Science & Emerging Technologies,* **9**(3), 311–319.

Shahidi Bonjar, G.H., 2004. Evaluation of Antibacterial properties of Iranian Medicinal plants against *Micrococcus aureus, Serratia marcescens, Klebsiella pneunomiae* and *Bordella bronchoseptica. Asian Journal of Sciences*, **3**(1), 82-86.

Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Kakuda, Y., 2003. Polyphenolics in Grape Seeds Biochemistry and Functionality, *J Med Food,* **6**(4), 291–299.

Shrestha, B., Theerathavaj, M.L.S., Thaweboon, S. and Thaweboon, B., 2012. In vitro antimicrobial effects of grape seed extract on peri- implantitis microflora in craniofacial implants. *Asian Pac J Trop Biomed*, **2**, 822–825.

Silván, J.M., E. Mingo, M. Hidalgo, S. Pascual-Teresa, A.V. Carrascosa, and A.J. Martinez-Rodriguez, 2013. Antibacterial activity of a grape seed extract and its fractions against *Campylobacter* spp., *Food Control*, **29**(1), 25-31.

Stange, R., Midland, S., Sims, J., McCollum, T., 2002. Differential effects of citrus peel extracts on growth of *Penicillium digitatum, P. italicum, and P. expansum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.,* **61**, 303–311.

Sutherland, J., Varnam, A., 2002. Enterotoxin-producing Staphylococcus, Shigella, Yersinia Vibrio, Aeromonas and Plesiomonas. in: Foodborne pathogens, Hazard, risk analysis and control, Edited by; Blacburn, C.W., McClure, J., CRC Press, Washington, DC, 385-390.

Şahin, F., Avcı, Ç., Avcu, F., Ural, A., Sarper, M., Yaşar, H., Omay, S., Saydam, G., 2007. Kırmızı üzüm çekirdeği özütü ve bileşiklerinden resveratrol değişik insan kanser hücre dizilerinde sitotoksik etkileri, Turkish Journal of Haematology, **24**(3), 102-109.

Takikawa, A., Abe, K., Yamamoto, M., Ishimaru, S., Yasui, M., Okubo, Y., Yokoigawa, K., 2002. Antimicrobial activity of nutmeg against Escherichia coli O157. *J Biosci Bioeng.* **94**(4), 315-20.

Tangolar, S.G., Özoğul, Y., Tangolar, S. and Torun, A., 2009. Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes, *Int. J. Food Sci. and Nutrition*, **60(**1), 32-39.

Tassou, C.C., Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N., 2004. Herbs and spices and antimicrobials in *Handbook of Herbs and Spices,* vol 2, Ch. 9, Woodhead Publishing Ltd. http://www.foodnetbase.com/ ejournals/ boks. Erişim tarihi 11.02.2015.

Temelli, S., 2002. Gıda zehirlenmesine neden olan *E. coli* O157:H7 ve önemi.*Uludağ Üniversitesi Veteriner Hekimliği Dergisi,* **21**, 133-138.

Todar, K., 2013. *Pseudomonas aeruginosa*, http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html, Erişim tarihi 11.12.2013.

Topfer, R. and R. Eibach, 2002, Breeding for organic wine production. *Beitrage zur Zuchtungsforschung – Bundesanstalt fur Zuchtungsforschung an Kulturpflanzen*, **8**, 55–62.

Topfer, R. and R. Eibach, 2002. Breeding for organic wine production. *Beitrage zur Zuchtungsforschung – Bundesanstalt fur Zuchtungsforschung an Kulturpflanzen*, **8**, 55–62.

Tuik, 2015. www.tuik.gov.tr, Erişim tarihi 11.02.2015.

Ulusoy, S., 1999. Dirençli gram pozitif bakteri enfeksiyonları. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi.* **3**, 212-221.

Uslu, A., Kardeniz, A., 2009. Bazı üzüm çeşitlerinin çekirdeklerindeki yağ asitleri bileşenlerinin belirlenmesi, Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, **23**(48), 13-19.

Williams, R., 2000. Antimicrobial resistance- a global threat. *Essential drug Monitor*, **1**, 28-29.

Yilmaz, Y. and Toledo, R.T., 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *J. Agric. Food Chem.*, **52**(2), 255–260.

Zahavi, T., L. Cohen, B. Weiss, L. Schena, A. Daus, T. Kaplunov, J. Zutkhi, R. Ben-Arie, and S. Droby, 2000. Biological control of *Botrytis, Aspergillus* and *Rhizopus* rots on table and wine grapes in Israel. *Postharvest Biology and Technology*, **20**, 115-124.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : DİDEM EGE
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : KARAMAN 25.08.1989
Telefon : 0539 251 04 96
Faks :
e-mail : didemege89@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Fatih Lisesi, KARAMAN	2007
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, KONYA	2011
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, KONYA	Devam ediyor

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2011	UZAY PEYZAJ LTD.ŞTİ	Ziraat Mühendisi
2014	AGRE TARIMSAL DANIŞMANLIK LTD.ŞTİ	Tarım Danışmanı
2014	TİMAC AGRO AVRASYA	Bölge Satış Sorumlusu

UZMANLIK ALANI

Bağ Yetiştirme ve Islahı

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR