

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTLARININ  
ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ayşe SARIÇAM**

**Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Serap COŞANSU AKDEMİR**

**Aralık 2014**

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTLARININ  
ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

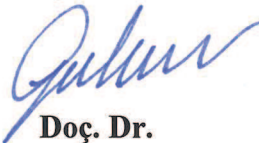
Ayşe SARIÇAM

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

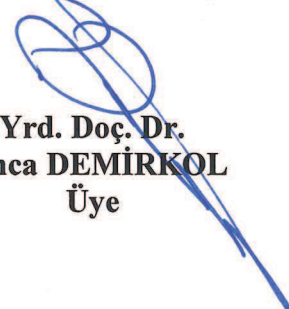
Bu tez <sup>25/12</sup>/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



Doç. Dr.  
Serap C. AKDEMİR  
Jüri Başkanı



Doç. Dr.  
Gülnur ARABACI  
Üye



Yrd. Doç. Dr.  
Omca DEMİRKOL  
Üye

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Doç. Dr. Serap COŞANSU AKDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2014-50-01-027) teşekkür ederim.

Laboratuvar olanakları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Doç. Dr. Ahmet AYAR' a ve bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Omca DEMİRKOL'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında anlayış ve desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Hatice SİÇRAMAZ'a, İnci CERİT'e, Selime MUTLU'ya ve Gülşah KARABULUT'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımda her türlü manevi desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşım Hande KETENCİ'ye tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım ve eğitimim boyunca, daha da önemlisi hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm ve görmeye devam edeceğimden emin olduğum Annem Melek SARIÇAM'a, Babam Ömer Şefik SARIÇAM'a ve Kardeşim Meryem SARIÇAM'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vii
TABLolar LİSTESİ .....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY .....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Üzüm (Vitis Vinifera) ve Üzüm Çekirdeğinin Özellikleri.....	3
2.2. Antioksidanlar.....	5
2.2.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	6
2.2.2. Fenolik Bileşikler.....	8
2.2.2.1. Fenolik Asitler.....	9
2.2.2.2. Flavanoidler .....	10
2.3. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres .....	12
2.4. Serbest Radikallerin Etkileri .....	15
2.5. Üzüm Çekirdeğindeki Fenolik Bileşikler ve İnsan Sağlığı Üzerine Olumlu Etkileri.....	16
2.6. Üzüm Çekirdeği ve Antioksidan Aktivite .....	19
2.7. Üzüm Çekirdeği ve Antimikrobiyel Aktivite.....	21

2.8. Antioksidan Aktivite Tespit Yöntemleri.....	24
2.8.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalini giderme aktivitesi	24
2.8.2. FRAP testi.....	25
2.8.3. Demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesi tayini .....	25
2.8.4. Toplam fenolik madde tayini .....	25
2.9. Çalışmada Kullanılan Kurutma Yöntemleri.....	25
2.9.1. Etüvde kurutma.....	26
2.9.2. Dondurarak kurutma .....	26
2.10. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı Gıdalarda Kullanımı ile İlgili Yapılan	
Çalışmalar.....	27
2.10.1. Et ve et ürünleri.....	27
2.10.2. Tavuk ve tavuk kıyması .....	31
2.10.3. Balık.....	31
2.10.4. Diğer gıda ürünleri.....	32

### BÖLÜM 3.

MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
3.1. Materyal.....	33
3.2. Yöntem.....	33
3.2.1. Kullanılan araç-gereçler .....	33
3.2.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler .....	34
3.2.3. DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini giderme aktivitesinde	
kullanılan çözeltiler .....	34
3.2.4. FRAP testi için kullanılan çözeltiler .....	34
3.2.5. Hidroksil (OH <sup>-</sup> ) radikali yakalama aktivitesinde kullanılan	
çözeltiler.....	34
3.2.6. Demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesi tayininde kullanılan	
çözeltiler.....	35
3.2.7. Toplam fenolik madde tayininde kullanılan çözeltiler.....	35
3.3. Kurutma İşlemleri .....	35
3.3.1. Etüvde kurutma .....	36
3.3.2. Dondurarak kurutma .....	36
3.4. Analizler.....	36

3.4.1. Antioksidan aktivite tayinleri ve toplam fenolik madde miktarı için örnek ekstraksiyonu.....	36
3.4.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalini giderme aktivitesi.....	36
3.4.3. FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma-Ferric Reducing Antioxidant Power) testi.....	37
3.4.4. Hidroksil (OH <sup>-</sup> ) radikalini yakalama aktivitesi.....	38
3.4.5. Demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesi tayini .....	38
3.4.6. Toplam fenolik madde tayini .....	39
3.4.7. Antimikrobiyel aktivite tayini.....	39
3.4.8. İstatistiksel analizler.....	40
BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA BULGULARI .....	41
4.1. Toplam Fenolik Madde İçeriği.....	41
4.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikalini Giderme Aktivitesi .....	45
4.3. FRAP Değerleri.....	49
4.4. Demir Şelatlama Aktivitesi .....	54
4.5. Hidroksil Radikalini Yakalama Aktivitesi.....	57
4.6. Antimikrobiyel Aktivite Analiz Sonuçları.....	61
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ .....	64
KAYNAKLAR.....	75
ÖZGEÇMİŞ .....	96

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BHA	: Bütillendirilmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksi toluen
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
ROT	: Reaktif oksijen türleri
TBARS	: Tiobarbutirik asit reaktif maddeleri
TPTZ	: 2,4,6-Tripiridil-s-triazin
TSA	: Tyriptic Soy Agar
TSB	: Tyriptic Soy Broth
ÜÇE	: Üzüm çekirdeği ekstraktı

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması .....	7
Şekil 2.2. Hidroksi benzenin (fenolün) yapısı.....	8
Şekil 2.3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması .....	9
Şekil 2.4. Basit Basit bir flavanoid iskeleti .....	10
Şekil 2.5. Yaygın olarak bulunan kateşinler ve kimyasal yapıları .....	11
Şekil 2.6. Serbest radikallerin hücresel hedefleri.....	16
Şekil 2.7. ÜÇE'deki fenolik bileşiklerin insan sağlığına etkileri.....	18
Şekil 2.8. Bir antiradikal (AH)a tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi [(AH)a : Antiradikal, DPPH: İndirgenmiş DPPH formu] .....	24
Şekil 4.1. Gallik asit standart eğrisi .....	42
Şekil 4.2. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde iktarı.....	43
Şekil 4.3. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı. ....	44
Şekil 4.4. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı. ....	44
Şekil 4.5. Bütün ve toz halde liyofilizasyonda kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı .....	45
Şekil 4.6. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi .....	47
Şekil 4.7. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdek ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi .....	48
Şekil 4.8. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi.....	48
Şekil 4.9. Bütün ve toz halde liyofilizasyonda kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi .....	49



Şekil 4.10. FeSO <sub>4</sub> standart eğrisi.....	50
Şekil 4.11. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri.....	52
Şekil 4.12. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri.....	52
Şekil 4.13. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri.....	53
Şekil 4.14. Bütün ve toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri.....	53
Şekil 4.15. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi.....	55
Şekil 4.16. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi.....	56
Şekil 4.17. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi.....	56
Şekil 4.18. Bütün ve toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi.....	57
Şekil 4.19. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi.....	59
Şekil 4.20. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini aktivitesi.....	60
Şekil 4.21. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi.....	60
Şekil 4.22. Bütün ve toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi.....	61

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı .....	41
Tablo 4.2. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktiviteleri.....	46
Tablo 4.3. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri .....	51
Tablo 4.4. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi.....	54
Tablo 4.5. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi .....	58
Tablo 4.6. Bütün halde bütün ve liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitesi.....	62
Tablo 4.7. Toz halde bütün ve liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitesi.....	63

## ÖZET

Anahtar kelimeler: Üzüm çekirdeği ekstraktı, kurutma, antioksidan, antimikrobiyel aktivite

Bu çalışmada, bütün ya da toz formda etüvde veya liyofilizatörde kurutulmuş Besni ve Horoz Karası üzüm çekirdeklerinin antioksidan ve antimikrobiyel aktivitesi üzerine kurutma yöntemlerinin etkisi araştırılmıştır. Üzüm çekirdeği ekstraktlarının (ÜÇE) toplam fenolik madde içeriği, DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikalini giderme aktivitesi, demir şelatlama aktivitesi, hidroksil radikalini yakalama aktivitesi ve Fe<sup>+3</sup> iyonunu indirgeme gücü spektrofometrik yöntem ile antimikrobiyel aktivitesi ise disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir.

Toplam fenolik madde içeriğinin ve FRAP değerlerinin, genel olarak, Besni üzüm çeşidine ait ÜÇE örneklerinde, Horoz Karası çeşidine ait ÜÇE örneklerine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir ( $P<0,05$ ). DPPH radikalini yakalama aktivitesi bakımından bütün halde etüvde kurutulmuş örnekler arasında önemli fark bulunmazken ( $P>0,05$ ); bütün halde liyofilizatörde ve toz halde etüvde veya liyofilizatörde kurutulmuş örnekler arasında istatistiki açıdan önemli farklılıklar bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Demir şelatlama aktivitesi değerlendirildiğinde, Besni üzüm çeşidine ait örneklerde, genel olarak, toz halde liyofilizatörde kurutulmuş örnekler diğer gruplara göre daha yüksek aktivite göstermiştir ( $P<0,05$ ). ÜÇE'lerin hidroksil radikalini yakalama aktivitesine ait sonuçlar, fiziksel formun önemli olduğunu ve toz halde kurutmanın bütün olana kıyasla daha yüksek aktiviteye neden olduğunu göstermiştir ( $P<0,05$ ). Toz veya bütün halde kurutulmuş tüm ÜÇE örnekleri *S. aureus*'a karşı inhibisyon zonu oluştururken, toz halde kurutulmuş bazı örnekler diğer patojenlere karşı sınırlı düzeyde antimikrobiyel aktivite göstermiştir.

Araştırmada elde edilen bulgulara göre, bütün halde ve etüvde kurutmaya kıyasla toz halde liyofilizatörde kurutma işleminin antioksidan aktivitedeki kayıpları en aza indirdiği sonucuna varılmıştır.

# DETERMINATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF GRAPE SEED EXTRACTS

## SUMMARY

Keywords: Grape seed extract, Drying, Antioxidant, Antimicrobial activity

In this study, the effects of drying methods on antioxidant and antimicrobial activities of grape seed extracts of Besni and Horoz Karası grape varieties dried in oven or by lyophilization in whole or powdered forms were investigated. The total phenolic contents, DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) scavenging activity, iron chelating activity, hydroxyl radical scavenging activity and ferric reducing power of grape seed extracts were determined by spectrophotometric methods, while their antimicrobial activities were tested by disc diffusion method.

Generally, the total phenolic contents and FRAP values were higher in grape seed extracts of Besni variety than those of Horoz Karası variety ( $P < 0.05$ ). There were not statistically significant differences among the samples dried as whole ( $P > 0.05$ ), however, there were significant differences ( $P < 0.05$ ) among the samples of lyophilized as whole, dried in oven or lyophilized as powdered. Grape seed extracts of Besni variety lyophilized as powdered showed generally higher iron chelating activity than the other groups ( $P < 0.05$ ). The results of hydroxyl radical scavenging activity analyses revealed that the physical form of seeds is important and drying as powdered form was resulted in higher antioxidant activity than drying as whole. While all grape seed extracts dried as whole or powdered formed inhibition zones against *S. aureus*, very few of the samples that dried as powdered showed limited antimicrobial activity against the other pathogens.

According to the findings obtained in this research, it was concluded that the lyophilization as powdered minimized the antioxidant activity loses rather than drying as whole or drying in oven.

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Lipit oksidasyonu, gıdanın raf ömrünü ve böylece ürün kabul edilebilirliğini azaltan; mikrobiyal aktivite ise, gıdalarda kalite ve güvenlik kayıplarından sorumlu olan ve birçok gıdada meydana gelebilen temel bozulma nedenleridir. Gıda endüstrisinde, bu bozulmaları önlemek ve gıdanın raf ömrünü, kalite ve güvenliğini artırmak için antioksidan ve antimikrobiyel kullanımı geerklidir. Ancak tüketiciler, kanserojen olma riski taşıdıklarından dolayı kimyasal ve sentetik koruyucularla hazırlanan gıdalardan sakınılmaktadırlar. Bu nedenle doğal alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır (Madhavi ve Salunkhe, 1995; Tauxe, 1997; Cowan, 1999; Rauha ve ark., 2000; Cortinas ve ark., 2005).

Gıda endüstrisinde, tüketici istekleri doğrultusunda, sentetik koruyucuların risklerinden korunmak, aynı zamanda bozulmaları engellemek için fenolik bileşiklerce zengin bitki ekstraktlarının kullanımı artmıştır. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik içeriği ile antioksidan ve antimikrobiyel kapasitesi arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Fenolik bileşikler güçlü bir serbest radikal yakalayıcısı olduğundan, işleme endüstrisi doğal koruyucu olarak bitki ekstraktlarının kullanımını alternatif olarak sunmaktadır (Löligler, 1991; Cowan, 1999; Ahn ve ark., 2004; Katalinic ve ark., 2006; Bisha ve ark., 2010).

Antioksidanlar, çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle çevrede ve hücrel koşullarda oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşturduğu hasarları engellemekle görevlidirler. Antioksidan yetersizliğinde ROT fazlalığıyla meydana gelen oksidatif stres, böbrek fonksiyonlarının azalması, göz bozukluklarının, akciğer, kalp ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi problemlerin oluşmasına neden olmaktadır (Simone, 1992; Kozluca, 1993; Cos ve ark., 2000; Desmarchelier ve ark., 2000; Katalinic ve ark., 2006).

Vitaceae familyasından olan üzüm (*Vitis vinifera*), dünyada en çok yetiştirilen meyve türlerinden olup (Bagchi ve ark., 2002; Uzun ve Bayır, 2008), iklim şartlarının elverişli olmasından dolayı Türkiye dünya bağcılığı içerisinde önemli bir yere sahiptir (Barış ve ark., 1990; Tangolar ve ark., 2007). Ülkemizde üretilen üzümün %40'ı sofralık olarak tüketilmekte, %35'i kurutulmakta, %23'ü pekmez, pestil, şıra gibi çeşitli ürünlerin yapımında kullanılmakta, %2'si şaraba işlenmektedir (Bilici Başkan ve Pala, 2008). Üzüm proseslerinden elde edilen üzüm çekirdeği önemli bir yan üründür (Şimşek ve ark., 2004).

Üzüm çekirdekleri, güçlü biyolojik etkiye sahip, polifenolik bileşiklerce zengindir. Flavonoidler ve fenolik asitlerden oluşan bu polifenoller (Monagas ve ark., 2005), antioksidan, antibakteriyel ve antiülser aktiviteye sahiptir (Saito ve ark., 1998; Jayaprakasha ve ark., 2003). Bunların yanında, üzüm çekirdeğindeki fenolik bileşikler, kardiyoprotektif, antikanserojenik, anti-hipertansiyon ve anti-hiperglisemik gibi çeşitli fizyolojik etkiler de göstermektedirler (Arii ve ark., 1998; Sato ve ark., 1996; Roy ve ark., 2002; Shafiee ve ark., 2003; Pinent ve ark., 2004; Rodriguez Vaquero ve ark., 2007). Üzüm çekirdeği, içerdiği bileşikler ve yaptığı fizyolojik etkilerle gıda katkısı ve takviyesi olarak kullanım potansiyelini ortaya koymuştur (Nakamura ve ark., 2003; Kim ve ark., 2006).

Bu çalışmada, farklı fiziksel hallerde kurutmanın ve kurutma yöntemlerinin ÜÇE'nin antioksidan ve antimikrobiyel özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, zengin antioksidan ve antimikrobiyel içeriğe ve endüstriyel yan ürün olarak oldukça büyük kapasiteye sahip olan üzüm çekirdeği, iki farklı fiziksel halde (bütün ve toz halde) ve iki farklı kurutma yöntemiyle (etüvde ve dondurarak kurutma) kurutularak ve yağı uzaklaştırılarak ekstrakte edilmiştir. Elde edilen üzüm çekirdeği ekstraktının (ÜÇE), DPPH serbest radikalini giderme aktivitesi, Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolik madde miktarı,  $Fe^{+2}$  iyonunu şelatlama aktivitesi, hidroksil radikalini yakalama aktivitesi,  $Fe^{+3}$  iyonunu indirgeme gücü ve disk difüzyon yöntemiyle altı patojen bakteriye karşı (*Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Esherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* Tip I) antimikrobiyel aktivitesi test edilmiştir.

## **BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. Üzüm (*Vitis Vinifera*) ve Üzüm Çekirdeğinin Özellikleri**

Vitaceae familyasından olan üzüm (*Vitis vinifera*), dünyada en çok yetiştirilen meyve türlerinden biridir (Bagchi ve ark., 2002; Uzun ve Bayır, 2008). Türkiye, iklimi üzüm yetiştiriciliği için çok uygun olan 36-42° kuzey enlemleri arasında bulunmaktadır ve dünya bağcılığı içerisinde önemli bir yere sahiptir (Barış ve ark., 1990; Tangolar ve ark., 2007). Ülkemiz, sırasıyla İspanya, Fransa, İtalya ve Rusya'nın ardından beşinci sırada gelmektedir. Sofralık, kurutmalık, şaraplık ve şıralık olmak üzere 1200'ü aşkın üzüm çeşidinin yetiştirildiği ülkemizde, bağcılık tarımsal yapı içerisinde önemli bir yer tutmakta ve ülke ekonomisine çok önemli katkılar sağlamaktadır (Barış ve ark., 1990).

Doğu Anadolu'nun yüksek kesimleri ile yıllık toplam yağışın çok olduğu Doğu Karadeniz sahil şeridi dışında kalan bütün bölgelerimizde, ekonomik anlamda bağcılık yapılabilmektedir. Ülkemiz çekirdekli ve çekirdeksiz kuru üzüm üretimi ile dünyada ilk sıradadır. Çekirdeksiz kuru üzüm üretimi Ege, çekirdekli kuru üzüm üretimi ise daha çok Güneydoğu ve İç Anadolu bölgelerinde yoğunluk kazanmıştır (Barış ve ark., 1990).

Üzüm, antioksidan, antimikrobiyel, antiinflamatuvar ve antikarsinojenik özellikleri olan çeşitli faydalara sahip bir meyvedir (Xia ve ark., 2010). Gıda endüstrisinde, üzümünden kuru üzüm, şarap, sirke, üzüm suyu ve pekmez gibi birçok farklı ürün üretilmekte veya üzüm işlem görmeksizin sofralık olarak tüketilmektedir (Şimşek ve ark., 2004; Bozan ve ark., 2008). Ülkemizde üretilen üzümün %40'ı sofralık olarak tüketilmekte, %35'i kurutulmakta, %23'ü pekmez, pestil, şıra gibi çeşitli ürünlerin yapımında kullanılmakta olup sadece %2'si şaraba işlenmektedir (Bilici Başkan ve

Pala, 2008). Dünya üzüm üretiminin yaklaşık %71'i şaraplık, %27'si sofralık ve %2'si ise kurutmalık olarak değerlendirilmektedir (Akın ve Altındişli, 2010).

Üzüm proseslerinden elde edilen üzüm çekirdeği önemli bir yan üründür (Şimşek ve ark., 2004). Fermente olmamış bu hammadde, sonrasında polifenol ekstraksiyonu için değerli bir materyal haline gelmiştir (Shrikhande, 2000). Çekirdekler, meyve ağırlığının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır (Clifford, 2000). Türkiye'de yıllık üzüm çekirdeği üretim kapasitesi yaklaşık 30000 ton olarak tahmin edilmektedir (Tangolar ve ark., 2007).

Üzüm çekirdeği, %40 lif, %16 yağ, %11 protein ve %7 oranında da fenolik maddeleri içermektedir. Geri kalan kısım ise şeker ve mineral maddeden oluşmaktadır (Bagchi ve ark., 2002). Üzüm çekirdekleri, fenolik bileşiklerce zengin olup (Monagas ve ark., 2003), bu fenolik bileşikler güçlü biyolojik etkileri ile bilinen flavonoidler (antosiyenin, flavonol ve flavanoller) ve fenolik asitlerden (kateşin, proantosiyanidin) oluşmaktadır (Monagas ve ark., 2005).

Üzüm çekirdeğinin, farmakolojik yararları ve besleyiciliği, içerdiği polifenollerin serbest radikal yakalama kapasitesinden ileri gelmektedir. Üzüm çekirdeği polifenollerinin düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu inhibe ederek kansere yakalanma riskini ve kalp rahatsızlıklarını azalttığı birçok çalışmada rapor edilmiştir (Shi ve ark., 2003). Polifenoller (prosiyanidinler), antioksidatif, serbest radikal yakalayıcı (Fuleki ve Silva, 1997), kalp koruyucu, antikanserojen (Yılmaz ve Toledo, 2004), antihipertansiyon, antimutajenik, antiviral (Fuleki ve Silva, 1997), antialerjik, bağışıklık sistemini destekleyici özellik gösterir ve bazı istenmeyen enzim aktivitelerini inhibe etmektedir (Bagchi ve ark., 2000). Bunların yanında, üzüm çekirdeği polifenollerini antibakteriyel (Jayaprakasha ve ark., 2003) ve antiülser aktivite göstermektedir (Saito ve ark., 1998).

Üzüm çeşitlerinden Besni, orta eşitlikte palamut tanesi şeklinde uzun, oval ve iri taneleri olan; dolgun, etli, çok gevrek ve sulu bir üzümdür. 2-3 çekirdeklidir. Kirli sarımsak-yeşil rengindedir. Verimi az olup her omcadan ortalama 3 kg ürün



alınmaktadır. Kurutmalık ve kısmen de ilk turfanda sofralık olarak kullanılmaktadır. Yetiştigi yer Gaziantep Beylik bağlarıdır (Anonim, 2014).

Horoz Karası ise, çok büyük, üzeri beyaz puslu, eşit uzunlukta yumurta veya palamut tanesi şeklinde taneleri olan; üzeri hafif puslu, koyu morumtırak-siyah bir üzüm çeşididir. Tane içi; dolgun, etli ve orta suludur. Çekirdek sayısı genellikle 2-3 nadiren 1 veya 4'tür. Çekirdekler tane etinden kolaylıkla ayrılmaktadır. Açık kahve renklidir. Verimi iyi ve çok olup bir omcadan ortalama 8-15 kg ürün alınmaktadır. Kurutmalık ve esas olarak şaraplık olarak kullanılmaktadır. Yetiştigi yer Gaziantep Beylik bağlarıdır (Anonim, 2014).

## 2.2. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir (Byung, 1994). Antioksidanlar da, oksidasyon ürünlerini inhibe edebilen (Niki, 2010) ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemede etkili olan savunma mekanizmalarıdır (Keser, 2012).

Kalıtsal bozukluklar, hasarlar, ağır fiziksel aktiviteler, çevredeki fiziksel ve kimyasal (ozon, sigara dumanı ve güneş ışığı) etkilere maruz kalma ile dengesiz beslenme gibi etkilerle oksidatif stres ve bunun sonucunda serbest oksijen radikaller büyük ölçüde artmaktadır (Aslan ve ark., 1997). Son zamanlarda, serbest radikallerin birçok hastalıkta en etkili faktörlerden olduğunun tespit edilmesi özellikle antioksidanlara karşı olan ilgiyi arttırmıştır (Diplock, 1991). Antioksidanlar, hastalıkların önlenmesinde ve insan sağlığının korunmasında büyük bir role sahiptir (Niki, 2010).

Serbest radikallerin olumsuz etkileri yalnızca insan sağlığı ve metabolizması üzerinde gözlenmemektedir (Simone, 1992). Tıpta, biyolojide, toksikolojide ve gıda endüstrisinde, serbest radikallerin etkileri üzerinde yoğun bir ilgi mevcuttur. Lipid peroksidasyonunun serbest radikal reaksiyonları, gıda endüstrisinde imalat süreçleri boyunca karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir. İmalatçılar antioksidanları kullanarak, lipid içeren gıdaların oksidasyonunu en aza indirmeyi hedeflerler. Bunun

yanı sıra biyomedikalçiler ve hekimler de vücudu, reaktif oksijen türleri tarafından oluşan hasara karşı korudukları için antioksidanlara ilgi duymaktadırlar (Aruoma, 1993, 1996; Pezzuto, 1997).

Antioksidanlar, oksidanlar üzerine başlıca iki şekilde etki ederler;

- Koruyucu antioksidanlar: Transferin, ferritin, DETAPAC ve EDTA gibi antioksidanlar metalleri inaktive ederek; katalaz, prüvat ve glutatyon (GSH) gibi antioksidanlar hidroperoksitleri uzaklaştırarak;  $\beta$ -karoten, likopen gibi antioksidanlar ise singlet oksijeni baskılayarak koruyucu etki gösterirler.
- Zincir reaksiyonlarını kırıcı etki: Tokoferol, askorbat gibi antioksidanlar peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek zincir kırıcı etki gösterirler.

### **2.2.1. Antioksidanların sınıflandırılması**

Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize eden birlikte ve karşılıklı etkileşim gösteren hem endojen hem de eksojen orjinli farklı bileşiklerdir (Percival, 1998). Antioksidanlar, katalitik aktiviteye göre, kaynağına göre (Surveswaran ve ark., 2007), lokalizasyonuna göre (Aydın, 2011; Pradedova ve ark., 2011), savunma seviyelerine göre (Antolovich ve ark., 2002) sınıflandırılırlar (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar kaynağına göre doğal ve sentetik antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. BHT (butillenmiş hidroksi tolüen), BHA (butillenmiş hidroksi anizol) ve tert- butylhydroquinon (TBHQ), sentetik antioksidanlar olarak birçok gıdada yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Hudson, 1990; Fki ve ark., 2005). Sentetik antioksidanların çeşitli yan etkilere sebep olduklarının anlaşılmasının ardından kullanımı birçok ülkede kısıtlanmıştır (Gülçin ve ark., 2005). Bu maddeler, canlı organizmalarda kanserojen etkiler gösterebilmekte ve karaciğerde büyümeye ve mikrozomal enzim aktivitelerinde artışa sebep olabilmektedir. Bu nedenle gıdaların bozulmasını engelleme, çeşitli hastalıklardan insanları koruma, yağların oksidatif bozulmalarını geciktirme ve serbest radikal reaksiyonlarını önleme kapasitesine sahip doğal antioksidanlara olan ilgi son yıllarda artmaktadır (Ebrahimabadi ve ark., 2010). Epidemiyolojik çalışmalarda meyve-sebze tüketiminin artmasıyla birçok kronik hastalık riskinin azaldığı gösterilmiştir. Hastalıkları önlemek tedavi etmekten çok daha önemli olduğu için, gıdalardaki ve bitkilerdeki besleyici faktörler insan sağlığı için oldukça önemlidir (Moure ve ark., 2001).

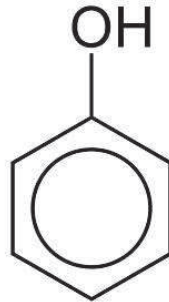
Fitokimyasalların yani bitkisel kökenli kimyasalların antioksidan aktiviteleri gün geçtikçe daha fazla anlaşılmaya başlamıştır (Percival, 1998). İnsan sağlığı üzerindeki olumlu rolleri nedeniyle bitkilerdeki antioksidan bileşenler ve fitokimyasallar bilim adamları, gıda üreticileri ve tüketiciler açısından önemli bir yere sahiptir (Lako ve ark., 2007). Sebze ve meyveler, oksidatif zararlanmaya karşı hücreleri koruyan

biyoaktif özelliklere sahip fenoller ve flavanoidler gibi fitokimyasalları bol miktarda içerirler (Jones ve ark., 1992).

### 2.2.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler veya polifenoller, benzen halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren organik bileşiklerdir (Urquiaqa ve Leighton, 2000; Liu, 2004). Bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşikler, antioksidan aktivite dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahiptirler (Lölişer, 1991; Hagerman ve ark., 1998). Antioksidatif etkiye sahip olmaları, fenolik bileşiklerin beslenme açısından önemini ortaya koymaktadır (Salah ve ark., 1995). Gıda endüstrisinde, meyve, baharat, sebze, tahıl ve diğer bitkisel ürünlerin fenolikçe zengin ekstraktlarına olan ilgi artmıştır; çünkü fenolik maddeler lipidlerin oksidatif yıkılmasını geciktirir ve böylece gıda kalitesini ve gıdanın besinsel değerini geliştirir (Lölişer, 1991).

Fenolik bileşikler veya daha yaygın adıyla polifenoller, benzen halkası içermektedirler. Çoğunlukla fenol adıyla anılan hidroksi benzen, benzen halkasına eklenmiş bir tane –OH grubu içeren bir bileşiktir (Şekil 2.2). Diğer tüm fenolik bileşikler buradan türemişlerdir (Hagerman ve ark., 1998).

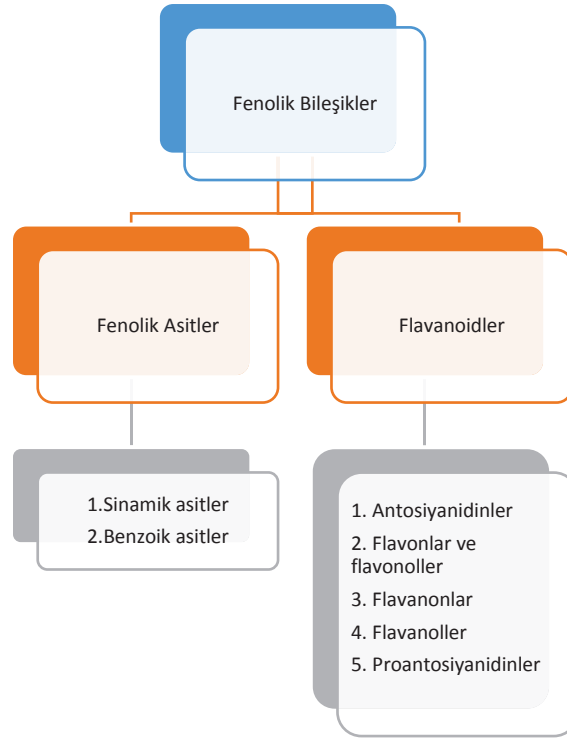


Şekil 2.2. Hidroksi benzenin (fenolün) yapısı

Fenolik bileşiklerin bir kısmı, acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsuru taşımaktadır. Bir kısmı sarı ve daha koyu sarı, esmer renkte iken, antosiyanin denen grup mavi-mor tonlardaki renklerde bulunmaktadır (Cemeroğlu, 2013a).

Diyetle alınan fenolik bileşikler çeşitli alt gruplar olarak sınıflandırılabilir, temel olarak fenolik asitler ve flavanoidler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar (Pietta,

2000). Fenolik asitler ve flavanoidler de Şekil 2.3'te görüldüğü gibi sırasıyla iki ve beş alt gruptan oluşmaktadırlar (Adams, 2006; Manach ve ark., 2008; Cemeroğlu, 2013a).



Şekil 2.3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Cemeroğlu, 2013a)

### 2.2.2.1. Fenolik Asitler

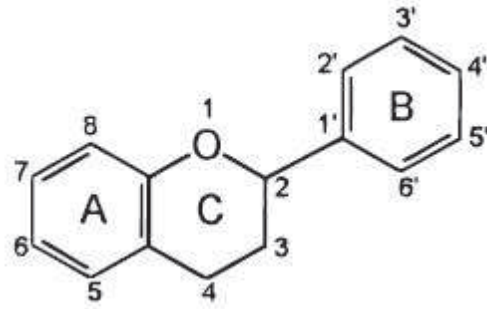
Fenolik asitler, ikisi de tek bir halka yapısına sahip olan hidroksibenzoik asit ve hidroksisinamik asit olmak üzere ikiye ayrılırlar (Manach ve ark., 2008).

Hidroksibenzoik asit: Gallik asit ve elajik asit bu grubun üyeleri olarak sınıflandırılabilir. Bu asit tipi soğan, siyah turp ve özellikle üzüm meyvelerinde bulunur.

Hidroksisinamik asit: Kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve sinapik asit bu grubun örnekleridir. Hidroksisinamik asitler sıcaklığa hassasiyet gösterirler. Bu tip asitler kivi, elma, yabanmersini ve kirazdan elde edilebilir.

### 2.2.2.2. Flavanoidler

Flavanoidler, bitkisel fenoliklerin en yaygın ve en çok çalışılan grubudur. Şekil 2.4'te gösterildiği gibi, flavanoidler genellikle oksijenle halka yapmış heterosiklikle bağlanmış (flavan halkası) iki benzen halkasından oluşmaktadır (Hollman ve Arts, 2000). Difenilpropan iskeletine (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) dayanan yapıdadırlar (Pietta, 2000).



Şekil 2.4. Basit Basit bir flavanoid iskeleti (Pietta, 2000; Yang ve Xiao, 2013)

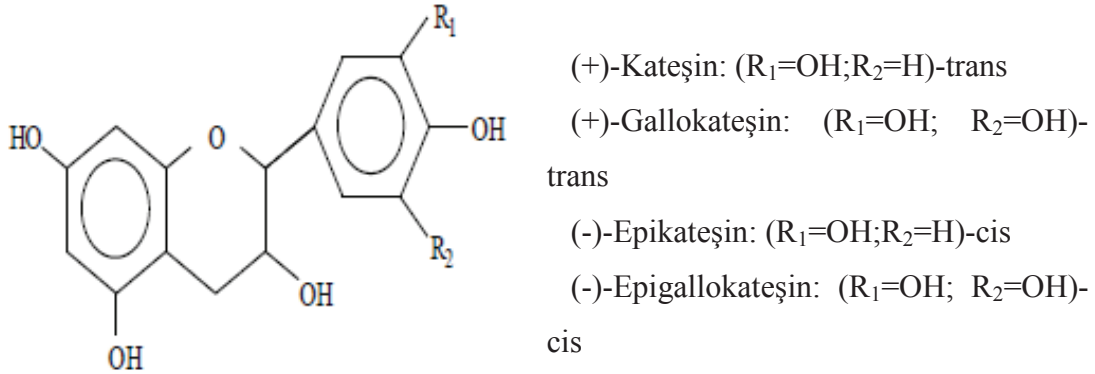
**Antosiyanidinler:** Bu grup fenolikler, şekerlerle glikozit yapmış olarak bulunur ve bu haliyle antosiyanin adını alır (Riberau-Gayon, 1982; Cemeroğlu, 2013a). Mavi, kırmızı, siyah üzümlerin kabuklarında bulunan kırmızı ve mavi rengi oluşturan maddelerdir (Shi ve ark., 2003).

**Flavonlar ve Flavonoller:** Flavonlar, bir tane karboksil grup içeren fenolik gruplardır. Temel olarak apigenin ve luteolinden oluşmaktadır (Manach ve ark., 2008).

Flavonoller ise flavanoidlerin yaygın bulunan bir çeşididir. Flavonlar içinde en çok bilinen üç tanesi kuersetin, kaemferol ve mirisetindir (Manach ve ark., 2008). Kuersetin üzüm kabuğunda glikozid formda bulunan bir flavanoldür. Kaemferol ve mirisetin de üzümlerde mevcuttur (Makris ve ark., 2006).

**Flavanoller:** Flavanoller hem kateşinler gibi monomer formda ve hem de proantosiyanidinler gibi polimer formda bulunabilirler. Monomer form kayısıda bulunurken polimer form kırmızı şarap, üzüm çekirdeği, siyah çay ve çikolatadan elde edilebilir (Manach ve ark., 2008).

Flavanoller grubundan olan kateşinler, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunurlar ve renksizdirler. Kimyasal yapıları açısından, flavan 3-ol'lerdir. Üçüncü karbon atomunda bir OH grubu içerirler (Cemeroğlu, 2013a). Üzümde bulunan en yaygın flavanol türleri, Şekil 2.5'te gösterildiği gibi (+)-kateşin, (-)-epikateşin, (+)-gallokateşin ve (-)-epigallokateşinlerdir (Yang ve Xiao, 2013).



Şekil 2.5. Yaygın olarak bulunan kateşinler ve kimyasal yapıları (Spanos ve Wrolstad, 1992).

Löykoantosiyandinler de flavanol türevidirler. Kimyasal yapıları açısından, flavan-3,4-diol'dürler. Çünkü 3. ve 4. pozisyondaki karbon atomlarında birer OH grubu içermektedirler.

Proantosiyandinler: Kondense tanenler olarak da bilinen proantosiyandinler (Iriti ve Faoro, 2006; Cemeroğlu, 2013a), üzümde bol miktarda bulunan fenoliklerdendir (Gu ve ark., 2003). Kateşinler ve löykoantosiyandinler oksijen ile kolayca reaksiyona girip dimerler, oligomerler ve polimerlere kondense olabilmekte ve proantosiyandin denilen polimerik yapıları oluşturmaktadır (Cemeroğlu, 2013a). Proantosiyandinler, genel olarak 3 ile 11 arasında, nadiren 17 ve daha fazla orandaki polimerizasyon derecesiyle tanımlanmaktadır (Iriti ve Faoro, 2006).

Prosiyanidinlerin tadı, çeşitli meyvelerde özgün tatlarının oluşmasında etkili olup acılık ve burukluk gibi duyuşsal iki özelliğın birleşmesiyle meydana gelmektedir. Hangi tadın baskın olacağı molekül ağırlığıyla değişmektedir. Düşük molekülü prosiyanidinlerde acılık, yüksek polimerlerde burukluk ağır basmaktadır (Cemeroğlu, 2013a).

### 2.3. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Atom veya moleküllerdeki elektronlar çekirdeğin etrafında orbital olarak tanımlanan bölgelerde hareket ederler. Bir atom veya molekül dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş (ortaklanmamış) elektron bulunduruyorsa “serbest radikal” olarak tanımlanır (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Serbest radikaller, aynı zamanda kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük moleküllerdir (Abdollahi ve ark., 2004; Cemeroğlu, 2013a). Bu moleküller, eşleşmemiş elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Delibaş ve Özçankaya, 1995; Madhavi ve ark., 1996). Serbest radikaller diğer moleküllerle birleşerek dış yörüngelerindeki elektron sayısını eşleştirmeye böylece kararlı bileşiklere dönüşmeye çalışırlar (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995; Benavente-Garcia ve ark., 2000).

En basit serbest radikal bir elektron ve bir protonu olan hidrojen atomudur. Serbest radikallerde eşleşmemiş elektron, atom veya molekülün üst kısmına konulan bir nokta ile belirtilir (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Aktif oksijen türleri arasındaki en reaktif formlar tek bir elektronun moleküler oksijene eklendiği süperoksit radikalleri ( $O_2^{\bullet-}$ ) ve bu radikallerin bazı metal iyonlarının varlığında ( $Fe^+$ )  $H_2O_2$  ile reaksiyona girmesi neticesi oluşan daha reaktif  $OH^{\bullet}$  radikalleridir (Kozluca, 1993).

ROT kavramı, oksijen radikallerini (süperoksit anyon, hidroksi, hidrojenperoksit vb.) ve oksijenin radikal olmayan türevlerini (hidrojen peroksit, ozon, singlet oksijen) kapsayan bir kavramdır (Cemeroğlu, 2013a). Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. (Mercan, 2004; İşbilir, 2008). Bunlar arasında  $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet}$  ve radikal olmayan  $H_2O_2$ 'nin özel yerleri vardır (İşbilir, 2008).

Reaktif oksijen türleri, insanlarda çeşitli rahatsızlıklara ve yaşlanmaya neden olduğu bilinen oksidatif stresin artmasında önemli rol oynarlar (Cos ve ark., 2000; Desmarchelier ve ark., 2000; Katalinic ve ark., 2006). Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması olarak tanımlanabilir (Cochrane, 1991; Cos ve ark., 2000; Desmarchelier ve ark., 2000; Gülçin, 2002; Katalinic ve ark., 2006).



Dengenin serbest radikaller yönüne doğru kayması çok kolaydır (Katalinic ve ark., 2006). Sağlıklı bir yapıda, serbest radikal üretimi antioksidatif savunma sistemiyle dengelenir (Cos ve ark., 2000; Desmarchelier ve ark., 2000).

Çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle çevrede ve hücrel koşullarda devamlı bir radikal yapımı vardır (Akkuş, 1995; Onat ve ark., 2002). Oksidatif strese neden olan radikal yapımı eksojen ve endojen faktörleri içeren çeşitli mekanizmalarla gerçekleşir. Çoklu doymamış yağ asitleriyle beslenme, alkol alımı, aşırı demir ve bakır alınması, antioksidan içeren gıdalarca fakir ve hayvansal proteinlerce zengin beslenme, sigara dumanı, hava kirliliği (NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>), diğer kirliticiler (asbest, pestisit) ve radyasyona maruz kalma eksojen faktörler arasındadır. Bilinçsiz yapılan veya yetersiz fiziksel egzersiz, stres, yaşlılık, doku hasarı ve kronik hastalıklar, enzim reaksiyonları, otooksidasyon tepkimeleri endojen faktörlere örnek verilebilir (Antmen, 2005).

Serbest radikaller üç temel yolla oluşur (Akkuş, 1995; Onat ve ark., 2002):

Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Kovalent bağın kopması sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır.

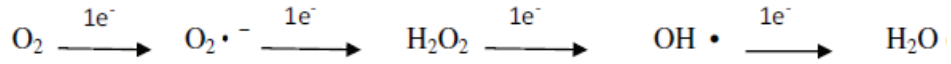
Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde eşleşmemiş elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin, askorbik asit ve tokoferol gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

Normal bir moleküle tek bir elektron transferi ile: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde eşleşmemiş elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna sebep olabilir. Örneğin, moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidi oluşturur.

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşurlar. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Biyolojik

sistemlerde en önemli radikaller, serbest oksijen radikalleri (SOR) olmakla beraber; C, N, S türevi olan radikaller ve inorganik moleküller de vardır.  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları (Fenton, haber-weiss reaksiyon) katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995).

Moleküler oksijen ( $\text{O}_2$ ), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahiptir. Biyolojik sistemlerde  $\text{O}_2$  genellikle elektron alarak aşağıdaki ürünleri oluşturur;



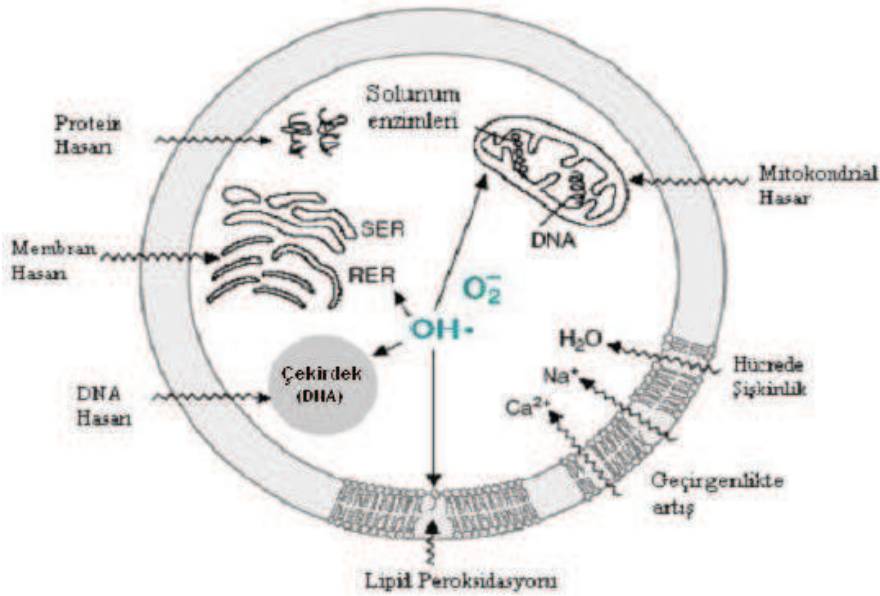
Yukarıdaki eşitlikte görüldüğü gibi  $\text{O}_2$  bir elektron alarak  $\text{O}_2^{\bullet -}$  oluşmaktadır. Bu radikalın en önemli özelliği  $\text{H}_2\text{O}_2$  oluşturmasıdır.  $\text{H}_2\text{O}_2$  ise aslında radikal olmamasına rağmen serbest radikal kimyasında çok büyük öneme sahiptir. Hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) ve süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda (Haber-Weiss reaksiyonu)  $\text{OH}^{\bullet}$  radikali meydana gelir (Halliwell, 1992; Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Memişoğulları, 2005; Matsuzaki ve ark., 2009; Çaylak, 2011). Suyun yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalması sonucunda da  $\text{OH}^{\bullet}$  radikali oluşur (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Akkuş, 1995; Girotti, 1998; Uysal, 1998; Bolanos ve ark., 2009). Biyolojik sistemlerdeki en reaktif ve hasar verici radikal türüdür (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Akkuş, 1995). Bir  $\text{OH}^{\bullet}$  radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Oluşan bu hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar (Girotti, 1998; Uysal, 1998; Bolanos ve ark., 2009). Ortamda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girmekte ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur (Kawanishi ve ark., 2001; Imahori ve ark., 2008).

#### 2.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Sağlıklı biyolojik sistemlerde antioksidasyon ile oksidasyon arasındaki denge kritik bir öneme sahiptir. Ancak serbest radikallerin artışı vücutta bu dengeyi bozar ve oksidatif stresi oluşturur. Şiddetli oksidatif stres, hücre hasarlarına ve hatta ölümlere bile sebep olabilmektedir (Gülçin, 2002). Vücutta oluşan dengesizlik, diyabet, kanser, felç, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşmasına sebep olabilir (Cos ve ark., 2000; Desmarchelier ve ark., 2000). Ayrıca yaşlanma sürecinde cilt kırışıklıkları, böbrek fonksiyonlarında azalma ve immün hastalıklara yatkınlığın artması, göz bozukluklarının, akciğer rahatsızlıklarının, kalp ve kardiyovasküler hastalıkların oluşması gibi tablolara da serbest radikallerin neden olduğu bildirilmektedir (Simone, 1992; Kozluca, 1993). Oksidatif hasara en duyarlı bölge beyindir. Merkezi sinir sisteminin patolojik durumlarının pek çoğunda, serbest radikaller direkt olarak doku hasarı meydana getirirler (Güven ve ark., 2003).

Çevre kirliliği, radyasyon, kimyasallar, toksinler, yağda kızartılmış yiyecekler, psikolojik stres ve daha pek çok nedenden dolayı oluşan serbest radikaller, bağışıklık sistemi antioksidanlarının tükenmesine, gen ifadesinde değişmelere ve mutasyonların oluşumuna neden olur (Pourmorad ve ark., 2006).

Güçlü reaktif özelliğe sahip olan serbest radikaller hücrenin farklı kısımlarında bulunan protein, karbonhidrat, lipid ve DNA gibi molekülleri etkileyerek önemli değişikliklere neden olurlar (Şekil 2.6) (Delibaş ve Özcankaya, 1995; Keser, 2006).



Şekil 2.6. Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Onat ve ark., 2002)

Organizma, sisteminde var olan donanımı sayesinde, metabolik faaliyetler dolayısıyla oluşan serbest radikal nitelikli ürünleri “oksidan-antioksidan denge” olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmayı başarır. Tehlikeli olan durum, radikallerin varlığından daha çok oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin herhangi biri lehine bozulmasıdır (Aalt ve ark., 1991; Aslan ve ark., 1997).

## 2.5. Üzüm Çekirdeğindeki Fenolik Bileşikler ve İnsan Sağlığı Üzerine Olumlu Etkileri

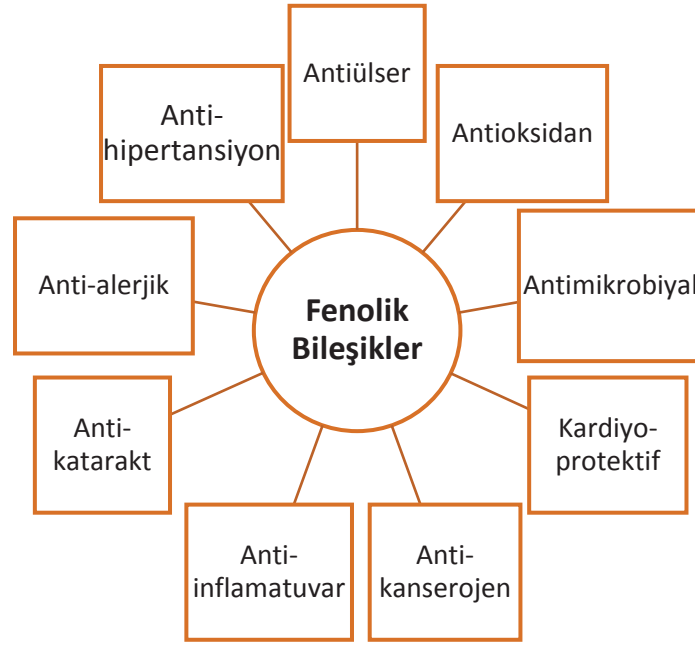
Hücre zararlanmasına neden olan serbest radikaller, ksenobiyotik metabolizmadan dolayı veya çevresel oluşumlarla, çeşitli metabolik reaksiyonların yan ürünleri olarak oluşabilmektedirler. Bu yüksek seviyedeki reaktif radikaller hücre membran lipidleri ve DNA gibi biyolojik moleküllerle, sonunda hücre ölümüyle sonuçlanan reaksiyona girebilirler (Kappus, 1986). Bunun yanında, bunlar biyolojik fonksiyonları yürütmek için metabolizma tarafından oluşturulmaktadır. Radikallerin oluşturacağı zarar, vücutta çeşitli enzimatik antioksidan savunma sistemleriyle (süperoksit dismutaz, katalaz vs.) önlenmektedirler (Ross, 1989; Stocker ve Frei, 1991). Bu hastalıkları önlemek için, antioksidan alımının üzerinde de çokça durulmuştur (Vinson ve ark., 1995; Teissedre ve ark., 1996; Cao ve ark., 1997; Leanderson ve ark., 1997; Wiseman ve ark., 1997; Cohly ve ark., 1998). Birçok antioksidanın, aynı zamanda

antikanserojen (Ames, 1983; Ferguson, 1994) ve antimutajenik ajan olduğu belirlenmiştir (Ferguson, 1994). Bu yzden, antimutajenik ajanların dzenli alımının, mutajenik ve kanserojenik faktörlerin genotoksik etkilerini azaltabileceği belirtilmektedir (Ikken ve ark., 1999).

Flavonoidler meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Üzüm çekirdekleri, zengin flavonoid kaynağıdırlar. Üzüm çekirdeğindeki flavonoidler, gallik asit, monomerik flavon-3-ol'ler ((+)-kateşin, (-)- epikateşin gibi) ve dimerik, trimerik, tetramerik prosiyanidinlerdir (Oszmianski ve Sapis, 1989; Saito ve ark., 1998; Guendez ve ark., 2005).

ÜÇE'de bol miktarda bulunan proantosiyandinler, büyük oranda farmakolojik aktiviteye ve terapatik güce sahip olduğu bilinen polifenolik biyoflavonoidlerin bir grubudur (Bagchi ve ark., 2002). Bu polifenolik bileşikler antioksidant ve antimikrobiyel gibi çeşitli biyolojik etkiler göstermektedir (Jayaprakasha ve ark., 2003; Baydar ve ark., 2006).

ÜÇE'deki fenolik bileşikleri insan sağlığı üzerine etkileri şekil 2.7'de özetlenmiştir. ÜÇE'deki fenolik bileşiklerin, antioksidan (Castillo ve ark., 2000), antimikrobiyel ve kardiyoprotektif (Sato ve ark., 1996; Shafiee ve ark., 2003) etkilerinin yanında, antikanserojenik (Arii ve ark., 1998; Roy ve ark., 2002) ve katarakt önleyici (Yamakoshi ve ark., 2002) ajan olarak görev yaptığı da bilinmektedir. Fenolik bileşikler; anti-inflamatuar (Sen ve Bagchi, 2001), anti-alerjik, anti-hipertansiyon, anti-romatizmal (Rodriguez Vaquero ve ark., 2007), anti-hiperglisemik (Pinent ve ark., 2004) ve antiülser (Saito ve ark., 1998) gibi çeşitli fizyolojik etkiler göstermektedirler. Ayrıca, damar tıkanıklığına (Kovac ve Pekic, 1991) ve damar sertliğine (Yamakoshi ve ark., 1998) karşı da ÜÇE'deki fenoliklerin etkili olduğu bildirilmiştir. Kandaki düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu önlediği de yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Frankel ve ark., 1995; Teissedre ve ark., 1996).



Şekil 2.7. ÜÇE'deki fenolik bileşiklerin insan sağlığına etkileri

Birçok araştırmacı, potansiyel aktivitelerinden dolayı polifenollerin beslenme ile alınımının sağlık üzerindeki faydalarına odaklanmıştır (Adebamowo ve ark., 2005; Lambert ve ark., 2005). Yi ve ark. (2005), muskadin üzümündeki fenolik bileşiklerin kanser hücreleri üzerine etkilerini araştırmış, Muskadin üzümünün beslenme ile alınımının kolon kanser riskini azaltma potansiyeline sahip olduğunu bildirmiştir. Bu aktif bileşiklerin gıda işleme süresince koruyucu olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Üzüm polifenollerinin özellikle üzüm çekirdeği ekstraktındaki polifenollerin, güçlü antioksidanlar ve serbest radikal yakalayıcılar olarak yer almasına rağmen, hayvanlar ve insanlardaki klinik çalışmalarla bu bileşiklerin faydalı rolleri üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonrası ortaya çıkan sonuçlar, üzüm polifenollerinin vücut tarafından absorbe edildiğini ve kan plazmasındaki toplam antioksidatif kapasitesini artırdığını ve LDL peroksidasyonunu azalttığını açık bir şekilde göstermiştir (Shrikhande, 2000). ÜÇE'nin kan plazmasını oksidatif strese koruduğu (Koga ve ark., 1999) ve çoklu doymamış yağ asitleri bulunan sisteme, fare karaciğeri ve beyninin mikrozomlarına üzüm çekirdeği proantosiyanidinlerinin ilavesinin UV ışınıyla oluşan peroksidasyonu inhibe ettiği rapor edilmiştir (Bouhamidi ve ark., 1998). ÜÇE'nin fare epidermisi (Bomser ve ark., 1999; Zhao ve

ark., 1999), karaciğer hücreleri (Ray ve ark., 1999) ve in vitro olarak test edilmiş insan prostat hücreleri (Agarwal ve ark., 2000) üzerinde antikanserojen özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. ÜÇE'nin farelere beslenme yoluyla verildiği bir deneyde, kolon kanserine karşı koruyucu bir etki gösterdiği (Singletary ve Meline, 2001); ÜÇE'nin farelere suda çözündürülerek ağız yoluyla verildiği başka bir deneyde ise oligomerlerin antiülser özelliğe sahip olduğu bulunmuştur (Saito ve ark., 1998). Bir diğer araştırmada ise ÜÇE'nin bazı kanser hücrelerine sitotoksik etki yaptığı rapor edilmiştir (Ye ve ark., 1999). ÜÇE'nin, ayrıca, virüs çoğalmasını inhibe ederek HIV'e karşı aktif olduğu bildirilmiştir (Nair ve ark., 2002).

Önemli bir soru, yüksek konsantrasyonda polifenol tüketiminin fizyolojik olarak güvenilir olup olmadığıdır. Fareler üzerine yapılan iki haftalık toksisite çalışması, üzüm çekirdeği polifenollerinin diyetle alım miktarının 3g/kg vücut ağırlığı oranına kadar güvenli olduğunu göstermiştir (Shrikhande, 2000).

ÜÇE'nin sağlığa olan faydaları ve antioksidan gücü, bilimsel araştırmalarda gösterilmiştir ve bu durum ÜÇE'nin gıda katkısı ve takviyesi olarak kullanım potansiyelini ortaya koymuştur (Nakamura ve ark., 2003; Kim ve ark., 2006).

## **2.6. Üzüm Çekirdeği ve Antioksidan Aktivite**

Antioksidan kullanımı, lipit oksidasyonunu önlemedeki ve sonucunda raf ömrünü arttırmadaki temel stratejilerden biridir. Gıdalarda oksidasyonu azaltmada veya kontrol altına almada etkili olabilmektedir (Teissedre ve ark., 1996; Mazza ve Francis, 1995). Oksidanın radikal zincir reaksiyonunu önlemek için gıdalara sıklıkla ilave edilen antioksidanlar, başlangıç noktasındaki reaksiyonu inhibe ederek, ilerleme aşamasında reaksiyonun bitişine yol açarak ve oksidasyonu işlemini erteleyerek aktivite gösterir (Shahidi ve ark., 1992). Antioksidan aktivitesi; lipit kompozisyonu, antioksidan konsantrasyonu, sıcaklık, oksijen basıncı, gıdanın bileşimi ve işleme koşulları gibi birçok faktöre bağlıdır (Houlihan ve ark., 1985; Giese, 1996). Antioksidan kapasitesi fenolik bileşiğin yapısı ile de ilişkilidir. Fenolik bileşiklerde –OH grubu sayısı (Cotelle ve ark., 1996, Çimen, 1999) ve bunun bileşikteki pozisyonu antioksidan kapasitesini belirler (Arora ve ark., 1998).

Prosiyanidinlerin polimerizasyon derecesi de antioksidan aktiviteyi belirleyebilmektedir; polimerizasyon derecesi arttıkça antioksidan aktivite de artar (Spranger ve ark., 2008).

Antioksidan aktivitesi doğal olarak ortaya çıkan bileşikler üzerine yapılan araştırmalar önemli ölçüde artmaktadır (Moure ve ark., 2001). Tarım endüstrisinin oluşturduğu sayısız atık maddeler, sürdürülebilir tarımın sağlanabilmesi adına azaltılabilir veya bertaraf edilebilir. Bu anlamda, bu atıkların gıda endüstrisinde doğal antioksidan olarak kullanılması, ekolojik dengenin devamlılığında önemli bir basamak oluşturur. Örneğin şarap üretiminde, üzümün toplam hacminin yaklaşık olarak % 30'u kullanılmaktadır. Çekirdek ve posa gibi yan ürünler, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen fenolik bileşiklerce zenginlerdir (Guendez ve ark., 2005). ÜÇE, yüksek konsantrasyonda E vitamini, flavonoid ve linoleik aside sahip bütün haldeki üzüm çekirdeklerinden elde edilen endüstriyel yan üründür (Reddy ve ark., 2013). ÜÇE, vücudu hastalıktan ve erken yaşlanmadan koruyan güçlü bir antioksidan olarak bilinmektedir (Shi ve ark., 2003; Rababah ve ark., 2004; Rababah ve ark., 2008).

Üzümün farklı kısımları kıyaslandığında, üzüm çekirdekleri en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Bunu sırasıyla üzümün kabuk kısmı ve etli kısmı takip eder (Pastrana-Bonilla ve ark., 2003). Üzüm çekirdeği ekstraktının antioksidan özellikleri çok sayıda araştırmaya konu olmuştur (Yamaguchi ve ark., 1999; Jayaprakasha ve ark., 2001; Jayaprakasha ve ark., 2003; Lau ve King, 2003; Rababah ve ark., 2004; Bakkalbaş ve ark., 2005; Kim ve ark., 2006; Göktürk Baydar ve ark., 2007; Bozan ve ark., 2008; Yemiş ve ark., 2008). ÜÇE'nin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması, yapısındaki kateşin ve epikateşin gibi monomerik flavonoidler ve polifenolik bileşik konsantrasyonunun yüksek olmasındandır (Escribano-Bailon ve ark., 1995; Mazza, 1995; Mazza ve Francis, 1995; Peng ve ark., 2001; Alonso ve ark., 2002; Torres ve ark., 2002). ÜÇE'de bu bileşiklerin miktarlarının fazla olması dolayısıyla (Yılmaz ve Toledo, 2004), antioksidan potansiyeli vitamin E ve C'den sırasıyla 20 ve 30 kat daha fazladır (Shi ve ark., 2003).



ÜÇE'nin birincil lipit oksidasyonuna karşı indirgeyici etkisi konsantrasyona bağlıdır. ÜÇE'deki antioksidan etkiye sahip bileşikler, oksidasyonun başlangıç aşamasında serbest radikal oluşumunu inhibe etmede, serbest radikal zincir reaksiyonunda elektron verici olarak rol alarak reaksiyonun ilerlemesinin sekteye uğramasında veya örnekte serbest radikal yakalayıcısı olarak önemli bir yere sahip olmaktadır (Poiana ve ark., 2012).

Üzüm çekirdeği, kateşin, epikateşin, prosiyanidin oligomerleri, prosiyanidinler, gallik ve elajik asit gibi fenolik asitleri ve stilbenler (resveratrol) gibi antioksidan aktiviteye neden olan fenolik bileşikleri büyük miktarda içerir (Shrikhande, 2000; Jayaprakasha ve ark., 2003; Yılmaz ve Toledo, 2006). Masquelier (1987), üzüm çekirdeğinde serbest radikal oksidasyonunu engelleyen bileşiğin prosiyanidin türevi flavan-3-ol olduğunu bildirmiştir. Bu bileşiklerin gıdalarda lipit antioksidanları oldukları kanıtlanmıştır (Bonilla ve ark., 1999). Antioksidatif aktivitelerinin mekanizması, radikal yakalama, metal şelatlama kapasiteleriyle ve diğer antioksidanlarla olan sinerjizmleriyle bağıntılıdır (Pastrana-Bonilla ve ark., 2003; Negro ve ark., 2003; Yemiş ve ark., 2008). Flavonoidler, serbest radikalleri (süperoksit, hidroksil ve DPPH) yakalama aktivitesinden, metal (Fe ve Cu) şelatlama özelliğinden ve hidoperoksit oluşumu indirgemesinden dolayı, ÜÇE'nin antioksidan özellik göstermesini sağlayan bileşiklerdir (Sato ve ark., 1996; Soobrattee ve ark., 2005; Surveswaran ve ark., 2007; Jacob ve ark., 2008). ÜÇE'nin antioksidan aktivitesi, DPPH ve fosfomolibden kompleks indirgeme yöntemlerinin (Yılmaz ve Toledo, 2006) yanında  $\beta$ -karoten linoleat ve linoleik asit peroksidasyon yöntemleriyle de araştırılmıştır (Lafka ve ark., 2007). Birçok flavonoidler, tokoferoller ve fenolik asitler antioksidan aktiviteye sahiptirler ve lipit metabolizmasında faydalı etkileri vardır (Teissedre ve ark., 1996; Mazza ve Francis, 1995).

## 2.7. Üzüm Çekirdeği ve Antimikrobiyel Aktivite

Mikrobiyal aktivite, birçok gıdada temel bir bozulma nedenidir ve genelde kalite ve güvenlik kayıplarının sorumlusudur. Gıdalarda patojen mikroorganizmalar ve bozulma mikroorganizmalarıyla ilgili kaygıların artışı, gıda kaynaklı salgın

hastalıkların artışından kaynaklanmaktadır (Tauxe, 1997). Bunun yanında tüketiciler kimyasal orijinli koruyucularla hazırlanan gıdalardan da sakınmaktadırlar (Rauha ve ark., 2000). Kimyasal orijinli koruyucu içeren gıdaların güvenliği üzerine ortaya çıkan kaygılar dolayısıyla gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı yüksek oranda gıda güvenliğini ve yeterli uzunlukta raf ömrünü sağlayabilmek için doğal alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır (Rauha ve ark., 2000; Rhodes ve ark., 2006). Doğada, canlı organizmaların tüm çeşitlerine karşı savunmada önemli rol alan, farklı tipte birçok antimikrobiyel bileşik mevcuttur (Hertog ve ark., 1993).

Klasik olarak kullanılan sentetik antimikrobiyellerin, doğal bitki ekstraktlarıyla birlikte kullanılması ve böylece sentetik antimikrobiyel kullanım miktarının azalması tüketici ilgisini çekmektedir. İşleme endüstrisi de daha etkili olan doğal antimikrobiyel kullanımını alternatif olarak sunmaktadır (Ahn ve ark., 2004; Bisha ve ark., 2010).

Bitkisel ekstraktlar, gıda kaynaklı patojenlere karşı etkili inhibitör aktiviteler göstermektedir (Cowan, 1999; Oussalah ve ark., 2004). Doğal bitki ekstraktları, düşük depolama sıcaklığı, düşük pH, sıcaklık, organik asitler, bakteriyosin ve radyasyon gibi diğer engellerle birlikte kullanıldığında, çeşitli gıda sistemlerinde sinerjistik antimikrobiyel etki göstermektedir (Beuchat ve ark., 1994; Gadang ve ark., 2008; Over ve ark., 2009).

Üzümde, gallik asit (Tesaki ve ark., 1999; Panizzi ve ark., 2002), hidrokşisinamik asit (Wen ve ark., 2003), flavanoller (Ikigai ve ark., 1993; Rauha ve ark., 2000), flavonoller (Mori ve ark., 1987), *trans*-resveratrol (Docherty ve ark., 2001), antosiyanidinler (Pratt ve ark., 1960; Powers, 1964) ve tanen (Palma ve ark., 1999; Jayaprakasha ve ark., 2003) gibi bileşikler dahil antimikrobiyel aktivite gösteren çok sayıda fenolik bileşik mevcuttur (Rhodes ve ark., 2006). Fenolik bileşikler, bakterilerin metabolizmasını ve gelişimini etkilerler. Yapılarına ve konsantrasyonlarına göre mikrobiyal gelişimde aktive edici veya inhibe edici etki gösterebilirler (Alberto ve ark., 2001, 2002, 2004).

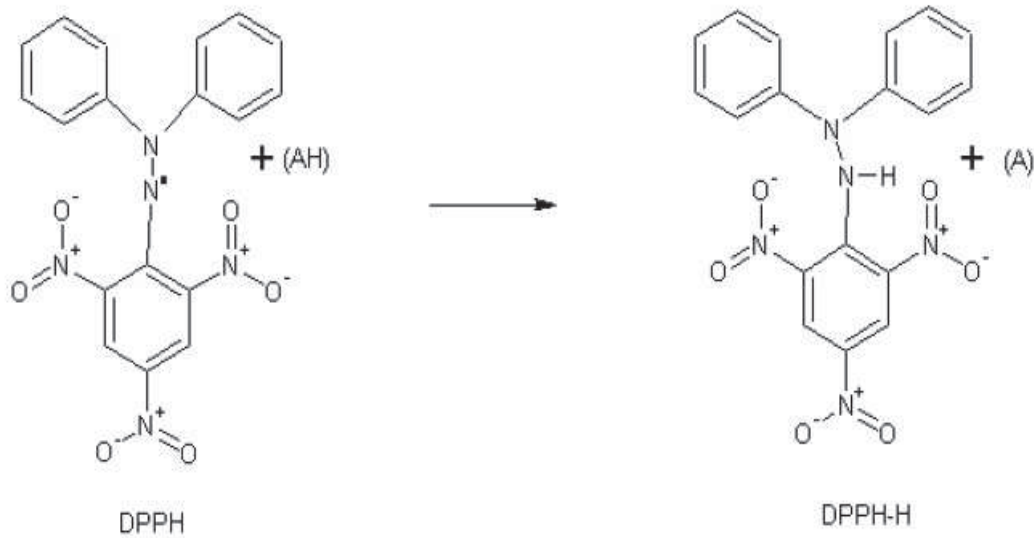
Üzüm çekirdeği ekstraktı antioksidan aktivitesinin yanında antimikrobiyel aktivite de göstermektedir (Ahn ve ark., 2002; Jayaprakasha ve ark., 2003). Üzümün farklı kısımları için rapor edilen antimikrobiyel aktivitenin artış sırası şu şekildedir; üzümün etli kısmı, bütün olarak elde edilen üzüm ekstraktı, fermente edilmiş posa kısmı, kabuk kısmı, yaprakları ve en yüksek antimikrobiyel aktiviteye sahip olan çekirdek kısmıdır (Xia ve ark., 2010). Anastasiadi ve ark. (2009), üzüm çekirdeğinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan flavonoidler ve onların türevlerinin antimikrobiyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. ÜÇE, (+)-kateşin ve (-)-epikateşin gibi flavan-3-ollerin polimerlerce zengin bir kaynağı olduğundan, antimikrobiyel özellikleri içerdiği fenoliklerin mekanizmasına bağlanabilir (Rhodes ve ark., 2006). Üzüm çekirdeğindeki fenolik bileşiklerin hidrofobik özelliği, kısmen üzüm çekirdeğinin antimikrobiyel aktivitesinden sorumlu olmaktadır. Bu fenoliklerin, bakterilerin sitoplazma membranına bağlanması ve orada birikmesi, hücrenin ölümüne yol açar (Lin ve ark., 2004).

Üzüm çekirdeğinden hazırlanan fenolik ekstraktların, gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyel etkiye sahip oldukları bilinmektedir (Bisha ve ark., 2010; Elgayyar ve ark., 2001; Hong ve ark., 2009; Juven ve ark., 1994; Larson ve ark., 1996; Shelef, 1984). *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* Typhimurium gibi patojenlerin gelişiminde çoklu öldürücü engellerle, üzüm çekirdeği ekstraktındaki doğal antimikrobiyeller birlikte uygulandığında daha az sentetik antimikrobiyel madde kullanımı sağlanabilmektedir (Gadang ve ark., 2008). Üzüm çekirdeği ekstraktının, *E. coli* ve *S. Typhimurium* bakterilerinin sayısını etkili bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (Ahn ve ark., 2007). Patojen mikroorganizmalarda antimikrobiyel etki fenolik bileşiklere ve test edilen suşlara bağlıdır (Puupponen-Pimia ve ark., 2005; Wen ve ark., 2003). Hidroksil grupların kullanılabilirliği ve reaktif gruplardaki konjuge çift bağlar da, doğal ekstraktların patojen inhibisyonunda etkinliğini belirler (Ultee ve ark., 2002).

## 2.8. Antioksidan Aktivite Tespit Yöntemleri

### 2.8.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalini giderme aktivitesi

Yöntem, antioksidanların kararlı serbest radikal olan DPPH radikalini yakalama etkisini ölçmeye dayalıdır. DPPH, bir elektron veya hidrojen radikali ile etkileşerek stabil bir molekül olma eğilimi göstermektedir. Koyu menekşe renginde olan DPPH radikalleri, ortamda bulunan radikal giderici veya süpürücü antioksidan varlığında, açık sarı renkli olan indirgenmiş DPPH formuna (DPPH-H) dönüşmektedir (Şekil 2.8) (Soares ve ark., 1997; Cemeroğlu, 2010).



Şekil 2.8. Bir antiradikal (AH)a tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi [(AH)a : Antiradikal, DPPH: İndirgenmiş DPPH formu] (Keser, 2012)

DPPH miktarında meydana gelen azalma, 517 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. Bu dalga boyunda azalan absorbans geriye kalan DPPH miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verir. Bu yöntem antioksidanların radikal giderme aktivitesini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir. Bu yüzden DPPH, antioksidan aktivite tayininde sıklıkla substrat olarak kullanılır (Soares ve ark., 1997; Cemeroğlu, 2010).

### 2.8.2. FRAP testi

$Fe^{+3}$  iyonlarının düşük pH'da  $Fe^{+2}$  iyonlarına indirgenmesi, renkli bir  $Fe^{+2}$ -tripridiltriazin ( $Fe^{+2}$ -TPTZ) kompleksinin oluşumuna neden olur. Bu indirgenmeyle, 593 nm'de maksimum absorpsiyonlar birlikte yoğun bir mavi renk gelişir (Stookey, 1970; Liu ve ark., 1982). FRAP değerleri, bilinen konsantrasyonlarda  $Fe^{+2}$  iyonlarını içeren reaksiyon karışımlarının 593 nm'deki absorbans değişimleriyle karşılaştırılarak elde edilebilir (Benzie ve Strain, 1996).

### 2.8.3. Demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesi tayini

Yöntem,  $Fe^{+2}$  iyonlarını bağlamak üzere, güçlü bir demir şelatlayıcı olan ferrozin reaktifi ile ortamda bulunan metal bağlayıcı bileşiklerin yarışmasına dayanır. Ortamdaki bileşiklerin şelatlama gücü yüksekse kırmızı renkli  $Fe^{+2}$ /ferrozin kompleksinin oluşumu engellenir (Dinis ve ark., 1994). Bileşiklerin metal şelatlama aktivitesi, lipid peroksidasyonuna sebep olan metalleri bağladıklarından dolayı önemlidir (Gülçin, 2002).

### 2.8.4. Toplam fenolik madde tayini

Folin-Ciocalteu reaktifi fosfotungstik ve fosfomolibdik asitlerin karışımı olup fenol oksidasyonu sırasında bu oksitler mavi renkli bileşiklere indirgenir. Bu renk değişimi polifenolik bileşik miktarı ile orantılı olup 765 nm'de spektrofotometrede takip edilir. Polifenol miktarı genellikle gallik asit veya pirokateşol eşdeğeri olarak ifade edilir (Aydın, 2011).

## 2.9. Çalışmada Kullanılan Kurutma Yöntemleri

Kurutma gıdalarda mevcut suyun büyük bir kısmının uzaklaştırılarak, su aktivitesinin kimyasal, enzimatik ve mikrobiyal faaliyetlerini önleyecek seviyeye düşürülmesi işlemdir. Isı ve kütle transferinin birlikte gerçekleştiği bir proses olan kurutma işleminin temel amacı gıdaların içeriğinde bulunan suyun reaksiyonlarda kullanımını

kısıtlayarak gıdanın raf ömrünü arttırmaktadır (Orak ve ark., 2012; Polat ve ark., 2012).

Kurutulmuş gıda maddesi rutubet alırsa küf ve bakteri faaliyeti hızlanır. Renk değişimi ve istenmeyen koku meydana gelir. Enzim aktivitesi hızlanır. Topaklaşma ve diğer fiziksel değişimler meydana gelir. Ortamdan uzaklaştırılan su serbest sudur. Kurutulan ürünlerin su aktivitesi değerinin düşmesi dayanıklılığı arttırmaktır.

Çalışmada üzüm çekirdeklerine etüvde kurutma ve dondurarak kurutma olmak üzere iki farklı yöntem uygulanmıştır.

### **2.9.1. Etüvde kurutma**

Etüvde kurutmada, belli bir sıcaklıkta gerçekleştirilen bir yöntem olup, suyun buharlaşması için gerekli olan ısı hava tarafından taşınır (Cemeroğlu, 2013b). Bu yöntemde dikkat edilecek faktörlerden biri uygulanacak olan sıcaklık değeridir. Bazı bileşikler sıcaklığa karşı hassastır ve yüksek sıcaklık uygulanan kurutma işlemlerinde bozunmaktadır. Bu durum ürün kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Tambunan 2001). Sıcaklığın azaltılması gereken durumlarda vakum altında kurutmaya başvurulmaktadır. Bu sayede ürünlerin kalite ve besin değerleri daha iyi korunabilmektedir (Doymaz, 2007).

### **2.9.2. Dondurarak kurutma**

Ürün özelliklerini taze forma en yakın şekilde korumayı başaran bir kurutma metodu olan, liyofilizasyon olarak da bilinen dondurarak kurutma, ürün sıcaklığının düşürülerek ürünün dondurulması ve sonrasında ürün etrafındaki basıncın düşürülmesi ile yapıdaki buz haldeki nemin süblimleştirilmesi temeline dayanmaktadır (Telis ve Sobral, 2002). Yüksek kaliteli kurutulmuş ürün elde edilebilen modern bir kurutma yöntemidir (Ratti, 2001). Kurutma iki aşamada gerçekleşmektedir. Birinci kurutma aşamasında donmuş halde bulunan serbest su uzaklaşırken, ikinci kurutma aşamasında vakum altında bağlı suyun uzaklaştırılması sağlanır (Sadıkoğlu ve ark., 2006; Çam ve Ersus, 2008, Dinçer ve Topuz, 2009;

Menlik ve ark., 2009). Dondurarak kurutma esnasında suyun katı formda olması ile ürünün şeklini koruması sağlanır. Bu kurutma yöntemi, gıdada sıvı hadd suyun bulunmamasını ve düşük sıcaklıkları gerektirmektedir. Böyle koşullarda mikrobiyal ve diğer bozulmalar durdurulduğu için son üründe yüksek kalite sağlanır (Ratti, 2001).

Dondurarak kurutma çok fazla avantaja sahip olmasına rağmen, pahalı bir sistem olması kullanımını azaltmaktadır (Ratti, 2001). Diğer kurutma yöntemleriyle karşılaştırıldığında kurutma süresi oldukça uzundur, ayrıca birinci ve ikinci kurutma aşamaları için gereken enerji oldukça fazladır (Sadıkoğlu ve ark., 2006; Çam ve Ersus, 2008, Dinçer ve Topuz, 2009; Menlik ve ark., 2009). Hem yatırım hem de işletme maliyeti yüksektir (Cemeroğlu, 2013b).

Gıda sanayinde, pahalı bir kurutma yöntemi olmasına rağmen, değerli ve ısıya duyarlı birçok ürünün kurutulmasında ticari boyutlarda uygulanmaktadır (Cemeroğlu, 2013b). Özellikle süt gibi besleyici değeri yüksek ve meyve suyu gibi sıcaklığa hassas ürünlerin yanında çay, kahve, baharat gibi aromatik ürünlerin kurutulmasında kullanılmakta ve tavsiye edilmektedir (Sadıkoğlu ve ark., 2006; Çam ve Ersus, 2008; Dinçer ve Topuz, 2009; Menlik ve ark., 2009).

## **2.10. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı Gıdalarda Kullanımı ile İlgili Yapılan Çalışmalar**

### **2.10.1. Et ve et ürünleri**

Lipit oksidasyonu, et ve et ürünlerinde kötü tat ve koku üreten çeşitli ürünlerin oluşmasıyla sonuçlanan temel bir kalite bozulma işlemidir (Faustman ve Cassens, 1990). Et ve et ürünleri gıda kaynaklı hastalıklara yol açan mikrobiyal kontaminasyona karşı hassastırlar. Ayrıca renk değişimi et ve et ürünlerindeki kabul edilebilirliği ve kaliteyi etkileyen önemli bir faktördür (Carpenter ve ark., 2007). Birçok çalışma, sentetik veya doğal antioksidan ilavesiyle, lipit oksidasyonunun azaltılabileceğini veya geciktirilebileceğini göstermiştir (Fadhel ve Amran, 2002; Rababah ve ark., 2004; Rababah ve ark., 2008). Et endüstrisinde yaygın olarak

kullanılan EDTA, BHA, BHT ve fosfat gibi birçok yapay katkıları vardır. Bu katkıları etkili ve doğal olanlarına kıyasla genel olarak ucuzdur. Fakat yapay olduklarından dolayı olumsuz tüketici algısına sahiptirler (Brannan ve Mah, 2007). Son zamanlarda bitkilerden elde edilen doğal antioksidanlar ve antimikrobiyel ajanların artan kullanımı, sağlık ve besleyici etkilerinin genişletilmesiyle, raf ömrü ve kalitesinin geliştirilmesiyle, gıda üreticilerine alternatif sağlamaktadır (Carpenter ve ark., 2007). Bu durum üzüm gibi bitkilerden ekstrakte edilen doğal antioksidanların ve antimikrobeyellerin ticarileşmesine yol açmıştır. Jayaprakasha ve ark. (2003), ÜÇE'nin yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini ve gıda koruyucusu ve gıda takviyesi olarak kullanılabilceğini rapor etmiştir.

Carpenter ve ark. (2007), pişmiş ve çiğ domuz köftesinin lipit oksidasyonu, renk ve duyusal özelliklerinde ÜÇE'nin etkisini araştırmıştır. Eklenen ÜÇE miktarı 0-1000 µg, depolama süresi çiğ domuz köftesi için 4°C'de 12 gün, pişmiş olanda ise 4°C'de 4 gündür. Depolamanın 9. ve 12. günlerinde yapılan analizde ÜÇE ilavesi çiğ domuz köftesinde lipit oksidasyonunu kontrole kıyasla azaltırken; depolamanın 0, 2 ve 4. günlerinde yapılan analizler sonucu çiğ domuz köftesinde tiyobarbutirik asit reaktif maddelerinin (TBARS) oluşumunu kontrole kıyasla inhibe etmiştir. ÜÇE ilavesiyle pişmiş ürünün duyusal özellikleri etkilenmezken, ilave edilen ÜÇE konsantrasyonunun artmasıyla renkteki kırmızılık değeri pişmiş ve çiğ üründe artış göstermiştir.

Domuz eti üzerine yapılan başka bir çalışmada, ÜÇE ilavesinin taze domuz eti kalitesinde önemli bir değişime neden olmadığı görülmüştür. Kimyasal yapı ve kimyasal kompozisyon, yapısında var olan bileşiklerin büyüklüğü ve moleküler ağırlığı, proteinlerle etkileşimi veya pH hassasiyeti gibi faktörlerin ÜÇE'nin antioksidan aktivite eksikliğinde etkili olabilmektedir (O'Grady ve ark., 2008).

Domuz eti ve sığır etinden elde edilen, soğukta depolanmış pişmiş kıyma üzerinde yapılan bir çalışmaya göre %0,02 gibi düşük oranda ÜÇE ilavesi, oksidatif acılaşmayı azaltarak, kıymanın duyusal özelliklerini ve kimyasal raf ömrünü geliştirmiş fakat rengini etkilememiştir. ÜÇE'nin her iki et türünde de iyi bir antioksidan olduğu görülmüştür (Rojas ve Brewer, 2007).



Pişmiş kıymada ÜÇE'nin etkinliğini değerlendirmek için, Ahn ve ark. (2002) kıymadaki TBARS değerini ve hekzanal içeriğini analiz etmiştir. Antioksidan ilave edilmemiş olan kontrol grubunda, en yüksek TBARS değeri ve hekzanal içeriği gözlenmiştir. ÜÇE pişmiş kıymanın oksidatif stabilitesini geliştirmiştir ve soğukta depolanan örneğin, depolama sonunda hekzanal içeriği kontrole kıyasla %97 oranında daha düşük bulunmuştur. Normal süreçte et ürünlerindeki TBARS değeri, depolama süresinin uzamasıyla artmaktadır. Depolamada 3 günün ardından, kontrole kıyasla (5,77 mg malonaldehit/kg örnek), ÜÇE ilave edilmiş pişmiş kıyma örneğinde çok düşük TBARS değeri (1,35 mg malonaldehit/kg örnek) çıkmıştır. ÜÇE'nin pişmiş kıymada soğuk depolama süresince yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

Ahn ve ark. (2007) tarafından yine pişmiş kıyma ile yapılan başka bir çalışmada, ÜÇE'nin mikrobiyal gelişim, renk değişimi ve lipit oksidasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Kontrole kıyasla, %1 oranında ÜÇE ilavesinin, *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* bakterilerinin sayısını etkili bir şekilde azaltmış, *L. monocytogenes* gelişimini geciktirmiştir. Depolama süresince kontrol grubu, yüksek TBARS değeri ve hekzanal içeriğine sahipken, ÜÇE TBARS oluşumunu %92 oranında azaltmıştır. ÜÇE, pişmiş et ürünündeki bozulmalarda ek bir engel olabileceği belirtilmiştir. Doğal antimikrobiyellerin, et ürününün güvenliğini ve stabilitesini geliştirdiği görülmüştür.

ÜÇE'nin pişmiş köftelerde soğukta depolama süresince raf ömrünü artırmadaki etkisi incelenmiştir. Bu sebeple, bakteriyel bozulmada, lipit oksidasyonunda ve duyu kalitede olan değişimlerine bakılmıştır. ÜÇE'nin lipit oksidasyonunu önlemede çok etkili olmuş, ancak renk değişimlerinde etkisi olmamıştır. Diğer yandan mikrobiyolojik sayımlardaki değişkenlikten dolayı, ÜÇE'de antimikrobiyel etki için net bir sonuç alınamamıştır. Doğal antioksidan olarak iyi bir kullanım olanağı sağlayabilen ÜÇE'nin, antimikrobiyel olarak diğer koruyucu mekanizmalarla birlikte kullanılması gerektiği belirtilmiştir (Price ve ark., 2013).

ÜÇE ilavesi çiğ kıymada lipit oksidasyonunu geciktirmiş ve patojen sayısında etkili bir azalma sağlamıştır (Ahn ve ark., 2004).

ÜÇE'nin hindi etindeki antioksidan aktivitesini değerlendirmek adına yapılan bir çalışmada, ÜÇE ilavesi (%1-2) etteki TBARS değerini kontrole kıyasla yaklaşık 10 kat azalttığı bulunmuştur (Lau ve King, 2003). Benzer başka bir çalışma, ÜÇE'nin, soğuk depolama süresince pişmiş hindi etinin lipid oksidasyonunu inhibe etmede etkili olduğunu göstermiştir (Mielnik ve ark., 2006).

Hindi sosisi üzerine kaplama materyaline eş zamanlı olarak katılan ÜÇE, nisin, malik asit ve EDTA'nın *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* bakterilerinin inhibisyonuna olan etkileri incelenmiştir. *L. monocytogenes* bakterisini inhibe etmede beraber kullanımları, ayrı ayrı kullanımlarından daha etkili olmuştur. ÜÇE'nin, malik asit gibi organik asitlerle birleştirilerek kullanımının tüketime hazır et ürünlerinin kalitesinin geliştirdiği ve ayrıca gıda güvenliğini sağladığı görülmüştür (Gadang ve ark., 2008).

Piştirilmeden önce dondurulmuş, sonrasında pişirilip tekrar dondurulmuş olan sosise farklı konsantrasyonlarda ÜÇE ilave edip, 4 aylık depolama sürecinde, ürünün oksidatif ve duyuşal özelliklerindeki değişimi araştıran Kulkarni ve ark. (2011), ÜÇE'nin düşük konsantrasyonlarda bile (100 ppm-300 ppm), et ürününü oksidayona karşı koruduğunu, ürün kalitesini 4 aylık depolama süresince devam ettirdiğini belirtmiştir.

İspanya'nın geleneksel bir et ürünü olan 'chorizo' formülasyonuna ÜÇE ilavesinin, ürünün güvenliği ve kalitesi üzerine etkileri Lorenzo ve ark. (2013) tarafından araştırılmıştır. Doğal antioksidan olarak kullanılan ÜÇE, olgunlaşma süresince lipid oksidasyonuna karşı sentetik antioksidan olan BHT'den daha etkili olmuştur. ÜÇE ilavesi, chorizonun güvenlik ve kalitesini geliştirmiştir. Tüketiciler için daha ilgi çekici ürünler elde edebilmek amacıyla ÜÇE'nin et ürünlerinde rahatlıkla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

ÜÇE'nin sığır etinden yapılan bir et ürünü üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, sentetik antioksidan olan BHA'ya kıyasla çok iyi antioksidan özelliklere sahip

olduğu ve mikrobiyolojik kaliteyi geliştirdiği belirtilmiştir. ÜÇE, %0,1 oranında kullanıldığında, ürünün raf ömrünü artırmıştır (Reddy ve ark., 2013).

ÜÇE, az miktarda sülfite içeren etlerde oksidasyona karşı koruyucu etki göstermiş, mikrobiyal bozulmayı ve renk kaybını geciktirmiş ve böylece raf ömrünü artırmıştır. Pişmiş ette de acı tat oluşunu geciktirmiştir. Ete katılan sülfite miktarı azaltılarak daha sağlıklı çiğ et ürünlerinin elde edilebileceği görölmüştür (Banon ve ark., 2007).

### **2.10.2. Tavuk ve tavuk kıyması**

Kıyma haline getirilmiş ve pişmiş tavuk göğsü ve butuna %0,1 oranında ilave edilen ÜÇE, 7 günlük soğukta depolamanın sonunda lipit hidroperoksit oluşumunu tamamen inhibe etmiştir (Brannan ve Mah, 2007).

Brannan (2008) tarafından yapılan çalışmada, ÜÇE'nin farklı bağıl nem seviyelerinde soğuk depolama süresince, çiğ ve tuzlanmış tavuk butu kıymasının fizikokimyasal özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Depolama süresince, ÜÇE'nin nem içeriğini ve pH değerini etkilemediği, ancak lipit oksidasyonunu inhibe ettiği ve tuzun prooksidatif etkisini azalttığı belirlenmiştir. Bu yönüyle, ÜÇE'nin çiğ tavuk butu kıymasında etkili bir antioksidan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

### **2.10.3. Balık**

Üzüm polifenolleri, depolanan balık yağı ve donmuş balık üzerine etkili bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Pazos ve ark., 2004) Dondurulmuş depolama süresince, ÜÇE'nin kolyoz balığındaki lipit oksidasyonuna etkisi Özen ve ark. (2011) tarafından araştırılmıştır. ÜÇE'nin birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerini etkili bir şekilde inhibe ettiği görölmüştür. Yağlı balıkların dondurulmuş depolaması süresince lipit oksidasyonunu kontrol etmek amacıyla ÜÇE'nin doğal antioksidan olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.

#### **2.10.4. Diğer gıda ürünleri**

Ayçiçeği yağı üzerine yapılan bir çalışmada, ÜÇE'nin, yağda oluşan birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri üzerine antioksidatif etkisi değerlendirilmiş ve etkili bir antioksidan olduğu belirtilmiştir (Shaker, 2006).

Patates cipslerinin depolanma süresince, ÜÇE, lipit oksidasyonunu minimize etmede etkili bir antioksidan olmuştur (Rababah ve ark., 2011).

## **BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM**

### **3.1. Materyal**

Araştırmada, Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü'nden (Gaziantep) kurutulmuş halde temin edilen Horoz Karası ve Besni üzüm çeşitlerinin 5'er farklı klonu kullanılmıştır.

ÜÇE'de antimikrobiyel aktivitenin saptanması amacıyla kullanılan *Salmonella* Enteritidis (ATTC 13076), *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* (ATTC 7644), *Esherichia coli* O157:H7, *Esherichia coli* Biyotip 1 ve *Staphylococcus auerus* kültürleri Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

### **3.2. Yöntem**

#### **3.2.1. Kullanılan araç-gereçler**

Çalışmada kullanılan başlıca ekipmanlar, Elektro-Mag M 6040 BP etüv, Freezone 6 Liter Benchstope (model no:7753027) liyofilizatör, Hettich Universal 320R soğutmalı santrifüj, JSR JSSB-30T su banyosu, IKA MS3 Basic vortex, IKA C-MAG-HS7 ısıtıcılı manyetik karıştırıcı, Eppendorf Research plus mikropipet, AND GR-200 hassas terazi, Inolab wtw pH metre, Gerhardt Soxhtherm otomatik yağ tayin cihazı, Buchi Rotavapor R-215 rotary evaporatör, Premier PRG-259 Kahve Öğütücü ve Shimadzu UV-1240 spektrofotometredir.

### 3.2.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Sigma ve Aldrich'den satın alınmıştır. Çözeltiler aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır;

%70' lik Metanol Çözeltisi: Balon jöjeye konulan 700 mL metil alkol, distile su ile 1000 ml' ye tamamlanmıştır.

### 3.2.3. DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini giderme aktivitesinde kullanılan çözeltiler

DPPH çözeltisi: 5 mg DPPH 250 mL' lik balon jöjeye aktarılmış ve %70'lik metanolla hacim çizgisine kadar tamamlanmıştır.

### 3.2.4. FRAP testi için kullanılan çözeltiler

300mM asetat tamponu çözeltisi (pH:3,6): 4,0824 g sodyum asetat ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) tartılmış, üzerine yaklaşık 90 mL distile su eklendikten sonra pH 3,6'ya ayarlanıp hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

40 mM HCl çözeltisi: Derişik HCl çözeltisinden 0,331  $\mu\text{L}$  alınıp 100 mL'lik balonjöjeye aktarılmış ve distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

10 mM TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine) çözeltisi: 0,3123 g TPTZ 100 mL'lik balonjöjeye aktarılmış ve 40 mM HCl ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

20 mM  $\text{FeCl}_3$  Çözeltisi: 0,5406 g  $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  100 mL'lik balonjöjeye aktarılmış ve distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

### 3.2.5. Hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) radikali yakalama aktivitesinde kullanılan çözeltiler

1,5 mM  $\text{FeSO}_4$  çözeltisi: 41,703 mg  $\text{FeSO}_4$  100 mL'lik balonjöjeye aktarılmış ve distile su ile hacim çizgisine kadar tamamlanmıştır.

6 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi: %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 63,58 µL alınıp 100 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve distile su ile hacim çizgisine kadar tamamlanmıştır.

20 mM sodyum salisilat çözeltisi: 160,1 mg sodyum salisilat 50 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve distile su ile hacim çizgisine kadar tamamlanmıştır.

### **3.2.6. Demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesi tayininde kullanılan çözeltiler**

0,6 mM FeCl<sub>2</sub> çözeltisi: 7,6 mg FeCl<sub>2</sub> 100 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve distile su ile hacim çizgisine kadar tamamlanmıştır.

5 mM Ferrozin çözeltisi: 246,23 mg ferrozin 100 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve %70'lik metanol ile hacim çizgisine kadar tamamlanmıştır.

### **3.2.7. Toplam fenolik madde tayininde kullanılan çözeltiler**

Folin-Ciocalteau reaktifi (Merck): Ticari olarak satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

%20'lik sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) çözeltisi: 20 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartılarak distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

## **3.3. Kurutma İşlemleri**

Üzüm çekirdeklerinin kurutulmasında 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlar; etüvde kurutma ve liyofilizatörde kurutmadır. Posa kısmından ayrılan ve yıkanan üzüm çekirdeklerinin yarısı öğütücüde (Premier PRG-259) öğütülerek toz hale getirilmiş olup diğer yarısı bütün olarak bırakılmıştır. Kurutma yöntemlerinin her birinde çekirdekler, iki farklı fiziksel şekilde kurutulmuştur.

### 3.3.1. Etüvde kurutma

İki farklı fiziksel formdaki çekirdekler 70°C’de 72 saat süreyle etüvde kurutulmuştur. Toz haldeki çekirdeklerin ve kurutma sonrası öğütülerek toz haline getirilmiş bütün haldeki çekirdeklerin, Soxhlet ekstraktöründe petrol eteri ile yağı uzaklaştırılmıştır.

### 3.3.2. Dondurarak kurutma

İki farklı fiziksel formdaki çekirdekler laboratuvar tipi liyofilizatörde -40°C’de 0,133 mbar vakum basıncı altında 24 saat süreyle kurutulmuştur. Toz haldeki çekirdeklerin ve kurutma sonrası öğütülerek toz haline getirilmiş bütün haldeki çekirdeklerin, Soxhlet ekstraktöründe petrol eteri ile yağı uzaklaştırılmıştır.

## 3.4. Analizler

### 3.4.1. Antioksidan aktivite tayinleri ve toplam fenolik madde miktarı için örnek ekstraksiyonu

Yağı uzaklaştırılmış toz haldeki üzüm çekirdeği örneklerinin her birinden 1 gram tartılarak deney tüplerine aktarılmış ve 9,5 mL aseton:su (70:30) çözeltisi eklenmiştir. Tüpler oda sıcaklığında bir saat çalkalamalı su banyosunda bekletildikten sonra 8750 devir/dk hızında 4°C’de 15 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatantlar erlenlere alınmıştır. Bu işlem dört kez tekrarlanmıştır. Süpernatantlar toplandıktan sonra, çözgen evaporatörde uçurularak örnek konsantre hale getirilmiştir. Konsantre haldeki örnek %70’lik metanol çözeltisi ile 25 ml’ye tamamlanmıştır (Bakkalbaşı ve ark., 2005).

### 3.4.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalini giderme aktivitesi

Antioksidan aktivite deneylerinden biri, serbest bir radikal olan DPPH radikali ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Brand-Williams ve ark. (1995)’nin yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır.



Analiz için hazırlanan 40 mg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlardan 200 µL alınıp, deney tüplerine aktarılmıştır. Taze olarak hazırlanan DPPH çözeltisinden 3 mL eklenmiş ve hızlı bir şekilde vortekslendikten sonra oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin ardından UV-VIS spektrofotometrede 517 nm’de absorbanları okunmuştur. Cihazın sıfırlanması metanol ile yapılmış olup kontrol olarak örnek ekstraktı yerine %70’lik metanol çözeltisi kullanılmıştır.

Örneklerin antioksidan aktivitesi, aşağıdaki eşitlik kullanılarak (denklem 3. 1) hesaplanmıştır.

$$\% \text{ DPPH giderme aktivitesi} = \frac{A(\text{kontrol}) - A(\text{örnek})}{A(\text{kontrol})} \quad (3.1)$$

$A_{(\text{kontrol})}$ =kontrolün absorbansını,  $A_{(\text{örnek})}$ =ekstraktın absorbansını göstermektedir.

### 3.4.3. FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma-Ferric Reducing Antioxidant Power) testi

Antioksidan aktivite deneylerinden bir diğeri, antioksidanların  $\text{Fe}^{+3}$  iyonlarını  $\text{Fe}^{+2}$  iyonlarına indirgeme yeteneğiyle ölçülen FRAP testi, Benzie ve Strain (1996)’in metodu modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir.

Bu yöntemde, 300 mM asetat tamponu (pH: 3,6), 10 mM TPTZ ve 20 mM  $\text{FeCl}_3$  çözeltileri 10:1:1 oranında karıştırılarak FRAP reaktifi hazırlanmıştır. Hazırlanan FRAP reaktifi 37°C’deki su banyosunda bekletilmiştir. Analiz için hazırlanmış ekstraktların her birinden 100 µL alınıp üzerine 5 mL %70’lik metanol eklenerek son konsantrasyon 0,8 mg/mL olacak şekilde seyreltilmiş ve seyreltilmiş olan ekstraktlardan 100 µL alınarak deney tüplerine aktarılmıştır. Üzerine 1,8 mL FRAP reaktifi ve 1,2 mL saf su eklendikten sonra 37°C’de 15 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin ardından UV-VIS spektrofotometre de 593 nm’de absorbanlar okutulmuştur. Cihazın sıfırlanması metanol ile yapılmıştır. Standart olarak  $\text{FeSO}_4$

kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Ekstraktlarda bulunan  $Fe^{+2}$  konsantrasyonu mg  $FeSO_4/g$  olarak hesaplanmıştır.

#### 3.4.4. Hidroksil ( $OH^-$ ) radikalini yakalama aktivitesi

Üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesini belirlemek amacıyla, Smirnoff ve Cumbes (1989) tarafından tanımlanan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır.

Analiz için hazırlanan ekstraktlardan 100  $\mu L$  alınmış ve deney tüplerine aktarılmıştır. Üzerine 1 mL  $FeSO_4$  çözeltisi; 0,7 mL  $H_2O_2$  çözeltisi; 0,3 mL sodyum salisilat çözeltisi ve 800  $\mu L$  distile su eklenmiştir. Bu reaksiyon karışımı  $37^\circ C$ 'de 1 saat bekletilmiştir. Ardından UV-VIS spektrofotometre kullanılarak hidroksillenmiş salisilat kompleksinin absorbansı 562 nm'de ölçülmüştür. Cihazın sıfırlanması metanol ile yapılmış ve kontrol olarak örnek ekstraktı yerine %70'lik metanol çözeltisi kullanılmıştır. Sodyum salisilat yerine ise distile su kullanılmıştır.

Üzüm çekirdeği ekstraktlarının, hidroksil radikalini yakalama etkisinin yüzdesi, aşağıdaki eşitlik kullanılarak (denklem 2) ifade edilmiştir.

$$\%Yakalama Etkisi = 1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \times 100 \quad (3.2)$$

$A_0$ =kontrolün absorbansını,  $A_1$ =ekstrakt varlığında ölçülen absorbansı,  $A_2$ =sodyum salisilat olmaksızın ölçülen absorbansı göstermektedir.

#### 3.4.5. Demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesi tayini

Üzüm çekirdeklerinin demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesini belirlemek amacıyla Cheng ve ark. (1998) tarafından tanımlanan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır.

Analiz için hazırlanan ekstraktlardan 100  $\mu L$  alınmış ve deney tüplerine aktarılmıştır. Üzerine 100  $\mu L$   $FeCl_2$  çözeltisi ve 2,5 mL distile su eklenmiş ve hızlı bir şekilde vortekslelendikten sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda

reaksiyon karışımına 100 µL ferrozin eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakika daha bekletilmiştir. Ardından UV-VIS spektrofotometre kullanılarak Fe<sup>+2</sup>-ferrozin kompleksinin absorbansı 562 nm’de ölçülmüştür. Cihazın sıfırlanması metanol ile yapılmış olup kontrol olarak örnek ekstraktı yerine %70’lik metanol çözeltisi, A<sub>2</sub> çözeltisi için ferrozin yerine aynı miktarda %70’lik metanol çözeltisi kullanılmıştır.

Üzüm çekirdeği ekstraktlarının, demir (II) iyonunu şelatlama aktivitesinin yüzdesi, aşağıdaki eşitlik kullanılarak (denklem 3) ifade edilmiştir.

$$\%Şelatlama Etkisi = 1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \times 100 \quad (3.3)$$

A<sub>0</sub>=kontrolün absorbansını, A<sub>1</sub>=ekstrakt varlığında ölçülen absorbansı, A<sub>2</sub>=ferrozin olmaksızın ölçülen absorbansı göstermektedir.

#### 3.4.6. Toplam fenolik madde tayini

Üzüm çekirdeği ekstraktlarında var olan toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile tayin edilmiştir (Gao ve ark., 2000).

Hazırlanan ekstraktlardan 100 µl alınarak 0,2 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 ml distile su eklenmiştir. Üç dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra %20’lik sodyum karbonat çözeltisinden 1 mL ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 1 saatlik inkübasyonun ardından 765 nm’de absorbanslar okunmuştur. Standart olarak gallik asit kullanılarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur ve ekstraktlarda bulunan fenolik bileşik miktarı mg GAE/g olarak hesaplanmıştır (Gao ve ark., 2000).

#### 3.4.7. Antimikrobiyel aktivite tayini

Antimikrobiyel aktivite tayini için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Bauer ve ark., 1966). Üzüm çekirdeği ekstraktları, dimetilsülfoksit (DMSO) ile %50 konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmıştır (Brayton, 1986).

Çalışmada kullanılan tüm bakterilerin (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *E. coli* Tip 1, *S. auerus*) saflık kontrolleri yapılmış, saf olmayan kültürler saflaştırılmış ve biyokimyasal testlerle doğrulanmıştır. Çalışmada kullanılan bakteri kültürleri %15 (v/v) gliserol ilave edilerek -20°C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma öncesinde standart inokulum hazırlanması amacıyla aktifleştirilerek kullanılmıştır. Bakterilerin aktifleştirilmesi, geliştirilmesi ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının antibakteriyal aktivitelerinin ölçümü amacıyla tüm bakteriler için tryptic soy broth (TSB) ve tryptic soy agar (TSA) besiyerleri kullanılmıştır. Bakteri kültürleri TSB besiyerine aşılınmış (%0,1) ve *L. monocytogenes* 30°C'de, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *E. coli* O157:H7, *E. coli* Tip 1 ve *S. auerus* 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyondan sonra, her bir bakteri kültüründen Tyryptic Soy Agar besiyerine 50 µL aktarılmış ve drigalski spatülü ile yayılmıştır. Steril boş kağıt diskler (6 mm çapında) besiyeri üzerine yerleştirilmiş ve diskler üzerine 20 µL ekstrakt aktarılmıştır. Petri kutularından, *L. monocytogenes* bakterisinin inoküle edildiği petri kutusu 30°C, diğer bakterilerin inoküle edildiği petri kutuları 37°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 7 mm veya daha geniş zon çapı ekstraktın antimikrobiyel etkisini göstermiştir. Kontrol diskine ekstrakt yerine aynı miktarda DMSO ilave edilmiştir (Bauer ve ark., 1966).

#### 3.4.8. İstatistiksel analizler

Tüm analizler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 13.0 programı kullanılmıştır.

Dondurularak kurutma ve etüvde kurutma arasındaki farkın önemi bağımsız örneklem T-testi analizi ile, üzüm çekirdeği ekstraktlar arası farklılık ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir (P<0.05).

## BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Toplam Fenolik Madde İçeriği

Çeşitli yöntemlerle ve iki farklı fiziksel halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Standart olarak gallik asit kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur (Şekil 4.1).

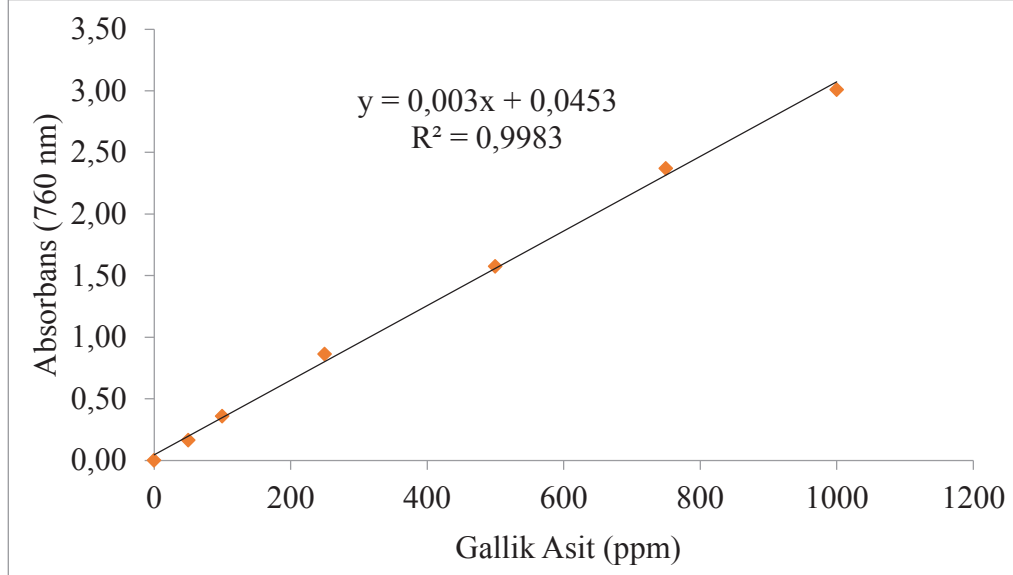
Tablo 4.1. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g)

ÜÇE örnekleri	Bütün-etüv	Bütün-liyofilize	Toz-etüv	Toz-liyofilize
HK-1	116,62±17,32 <sup>ab</sup>	106,37±39,95 <sup>ab</sup>	155,45±11,68 <sup>ab</sup>	182,53±3,18 <sup>b</sup>
HK-2	126,78±15,12 <sup>ab</sup>	103,62±14,38 <sup>ab</sup>	113,62±18,21 <sup>a</sup>	231,45±23,33 <sup>cd</sup>
HK-3	143,78±17,68 <sup>abc</sup>	83,45±12,73 <sup>a</sup>	214,95±30,64 <sup>c</sup>	258,78±17,95 <sup>d</sup>
HK-4	132,78±20,88 <sup>ab</sup>	85,45±7,78 <sup>a</sup>	112,84±25,58 <sup>a</sup>	126,62±2,59 <sup>a</sup>
HK-5	93,95±15,32 <sup>a</sup>	134,28±20,48 <sup>ab</sup>	126,67±14,89 <sup>ab</sup>	183,62±34,65 <sup>b</sup>
BE-1	255,39±124,00 <sup>d</sup>	242,34±61,68 <sup>d</sup>	166,78±47,38 <sup>b</sup>	218,28±9,17 <sup>bc</sup>
BE-2	243,28±27,81 <sup>cd</sup>	179,20±3,42 <sup>bcd</sup>	140,03±2,95 <sup>ab</sup>	238,03±5,77 <sup>cd</sup>
BE-3	197,62±4,95 <sup>abcd</sup>	225,12±22,86 <sup>cd</sup>	119,70±8,37 <sup>a</sup>	214,70±3,42 <sup>bc</sup>
BE-4	219,37±1,06 <sup>bcd</sup>	242,45±29,46 <sup>d</sup>	225,37±15,20 <sup>c</sup>	231,87±20,62 <sup>cd</sup>
BE-5	196,20±8,37 <sup>abcd</sup>	159,62±40,31 <sup>abc</sup>	209,62±3,54 <sup>c</sup>	128,53±3,42 <sup>a</sup>

a-d: Aynı sütunda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ;  $n=10$ ).

Bütün halde etüvde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin toplam fenolik madde miktarı 1 gram örnekte 93,95-143,78 mg GAE, Besni üzüm çeşidinde ise 1 g örnekteki toplam fenolik madde miktarı 196,20-255,39 mg GAE aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı HK5 örneğinde bulunurken, en yüksek HK3 örneğinde bulunmuştur.

Besni üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı BE5 örneğinde bulunurken en yüksek BE1 örneğinde bulunmuştur.



Şekil 4.1. Gallik asit standart eğrisi

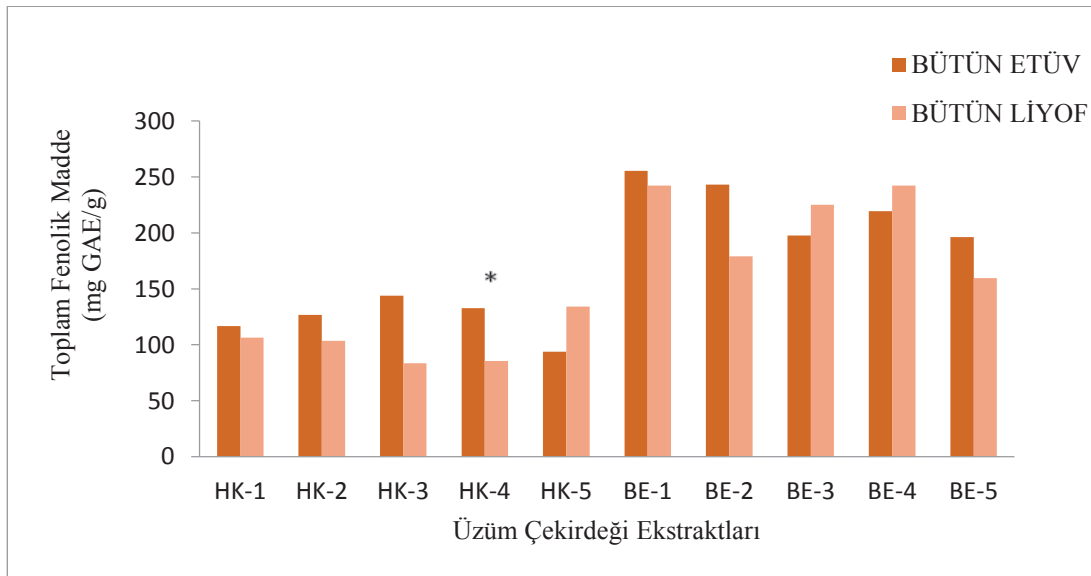
Bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin toplam fenolik madde miktarı 1 gram örnekte 83,45-134,28 mg GAE aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde 1 g örnekteki toplam fenolik madde miktarı 159,62-242,45 mg GAE aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı HK3 örneğinde bulunurken en yüksek HK5 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı BE5 örneğinde bulunurken en yüksek BE4 örneğinde bulunmuştur.

Toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin toplam fenolik madde miktarı 1 gram örnekte 112,84-214,95 mg GAE, Besni üzüm çeşidinde ise 1 g örnekteki toplam fenolik madde miktarı 119,70-225,37 mg GAE aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı HK4 örneğinde bulunurken, en yüksek HK3 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı BE3 örneğinde bulunurken en yüksek BE4 örneğinde bulunmuştur.

Toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin toplam fenolik madde miktarı 1 gram örnekte 126,62-258,78 mg GAE

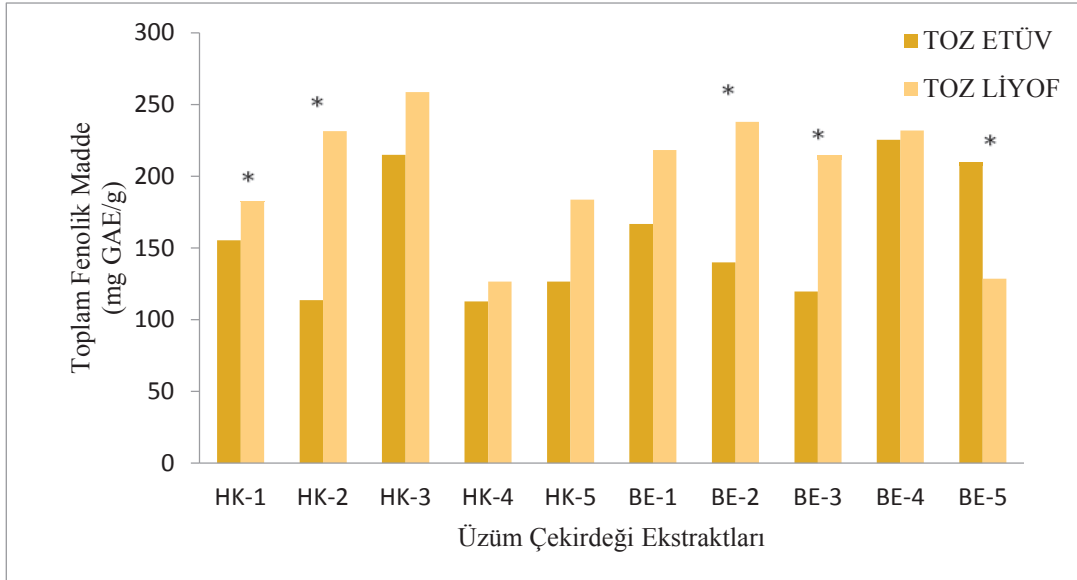
aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde 1 g örnekteki toplam fenolik madde miktarı 128,53-238,03 mg GAE aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı HK4 örneğinde bulunurken en yüksek HK3 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük toplam fenolik madde miktarı BE5 örneğinde bulunurken en yüksek BE2 örneğinde bulunmuştur.

Etüvde ve liyofilizatörde bütün halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin toplam fenolik madde miktarları arasındaki fark, HK4 örneğinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



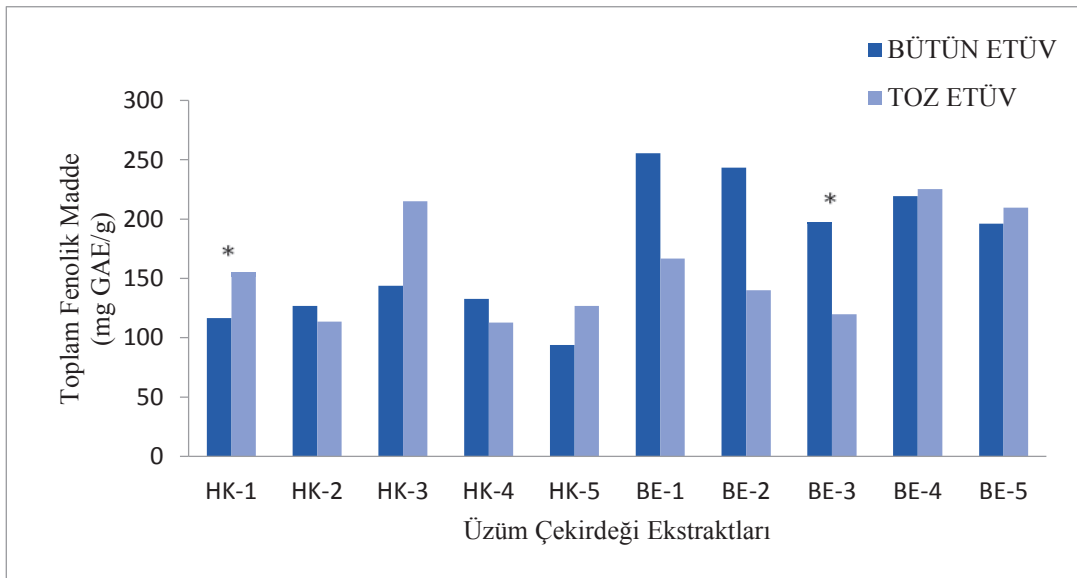
Şekil 4.2. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Etüvde ve liyofilizatörde toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin toplam fenolik madde içeriği arasındaki fark HK1, HK2, BE2, BE3 ve BE5 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.3. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0,05$ ).

Etüvde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın toplam fenolik madde miktarları arasındaki fark HK1 ve BE3 örneklerinde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ).

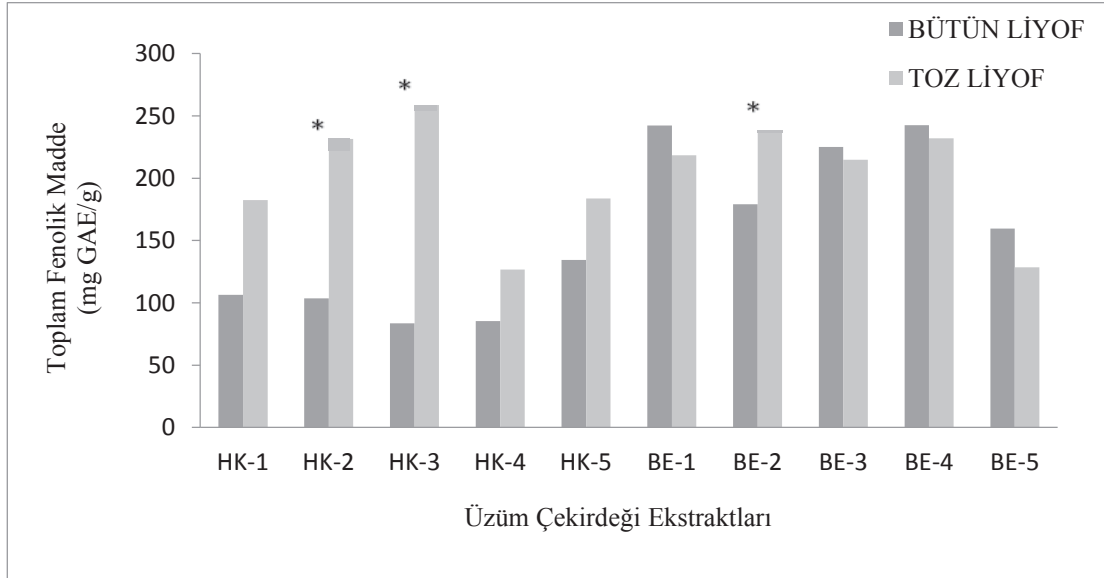


Şekil 4.4. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0,05$ ).

Liyofilizatörde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde



kurutmanın toplam fenolik madde miktarları arasındaki fark HK2, HK3 ve BE2 örneklerinde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.5. Bütün ve toz halde liyofilizasyonda kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

#### 4.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikalini Giderme Aktivitesi

Çeşitli yöntemlerle ve iki farklı fiziksel halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktiviteleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Bütün halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin DPPH radikalini giderme aktivitesi %81,40-89,07, Besni üzüm çeşidinde %83,05-85,60 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi HK1 örneğinde bulunurken, en yüksek HK5 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi BE1 ve BE4 örneğinde bulunurken, en yüksek BE5 örneğinde bulunmuştur. Örnekler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

Tablo 4.2. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktiviteleri (%)

ÜÇE örnekleri	Bütün-etüv	Bütün-liyofilize	Toz-etüv	Toz-liyofilize
HK1	81,40±2,36	85,20±1,70 <sup>ab</sup>	84,45±1,91 <sup>bc</sup>	88,67±1,62 <sup>b</sup>
HK2	86,53±0,83	88,40±2,25 <sup>bc</sup>	80,23±1,47 <sup>a</sup>	90,27±0,23 <sup>b</sup>
HK3	87,27±0,31	87,07±0,83 <sup>bc</sup>	81,83±1,21 <sup>ab</sup>	88,73±0,70 <sup>b</sup>
HK4	85,67±0,31	86,20±0,00 <sup>abc</sup>	85,53±1,55 <sup>cd</sup>	89,87±0,50 <sup>b</sup>
HK5	89,07±0,92	85,87±1,01 <sup>abc</sup>	82,97±1,12 <sup>abc</sup>	89,87±0,76 <sup>b</sup>
BE1	83,05±6,72	85,43±2,90 <sup>ab</sup>	82,87±1,10 <sup>abc</sup>	85,80±1,41 <sup>a</sup>
BE2	83,20±0,56	88,20±0,00 <sup>bc</sup>	81,67±3,67 <sup>ab</sup>	89,60±0,40 <sup>b</sup>
BE3	84,23±1,74	86,13±2,14 <sup>abc</sup>	82,93±0,45 <sup>abc</sup>	89,00±2,26 <sup>b</sup>
BE4	83,05±1,63	83,63±0,81 <sup>a</sup>	83,05±0,78 <sup>abc</sup>	84,03±1,06 <sup>a</sup>
BE5	85,60±1,80	89,13±0,70 <sup>c</sup>	88,10±0,71 <sup>d</sup>	88,70±0,42 <sup>b</sup>

a-d: Aynı sütunda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ,  $n=10$ ).

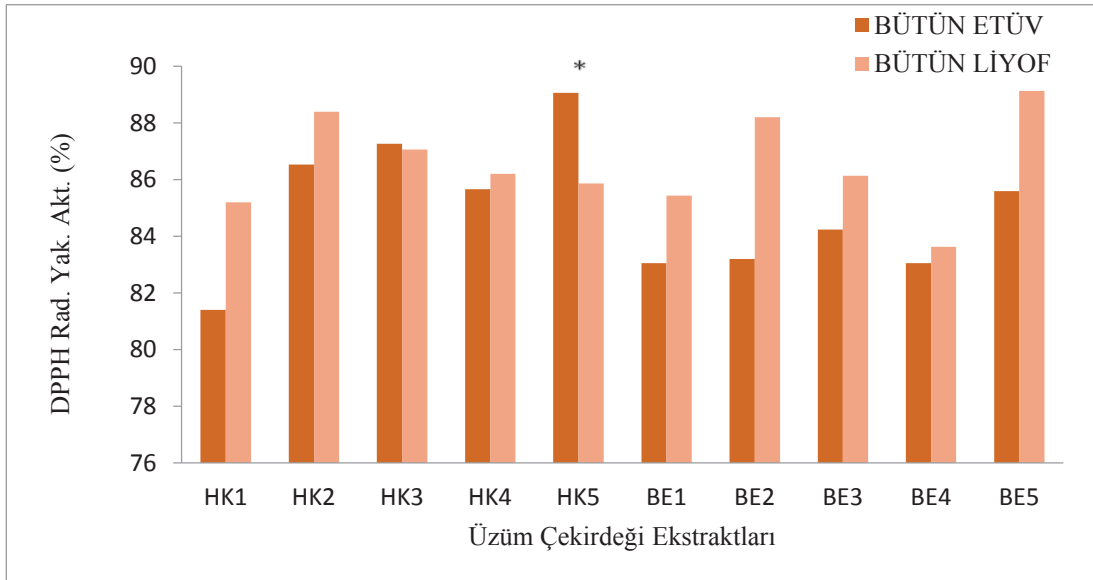
Bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin DPPH radikalini giderme aktivitesi %85,20-88,40, Besni üzüm çeşidinde %83,63-89,13 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi HK1 örneğinde bulunurken, en yüksek HK2 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi BE4 örneğinde bulunurken, en yüksek BE5 örneğinde bulunmuştur.

Toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin DPPH radikalini giderme aktivitesi %80,23-85,53, Besni üzüm çeşidinde ise %81,67-88,10 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi HK2 örneğinde bulunurken, en yüksek HK4 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi BE2 örneğinde bulunurken, en yüksek BE5 örneğinde bulunmuştur.

Toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası DPPH radikalini giderme aktivitesi %88,67-90,27, Besni üzüm çeşidinde ise %84,03-89,60 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi HK1 örneğinde bulunurken, en yüksek HK2 örneğinde

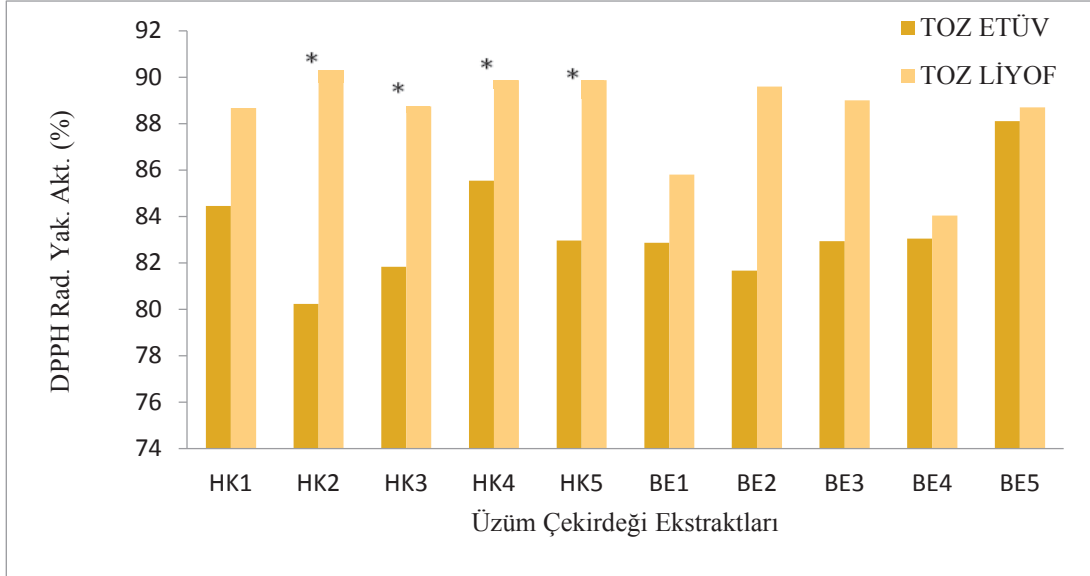
bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük DPPH radikalini giderme aktivitesi BE4 örneğinde bulunurken, en yüksek BE2 örneğinde bulunmuştur.

Etüvde ve liyofilizatörde bütün halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktiviteleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin DPPH radikalini giderme aktiviteleri arasındaki fark, HK5 örneğinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



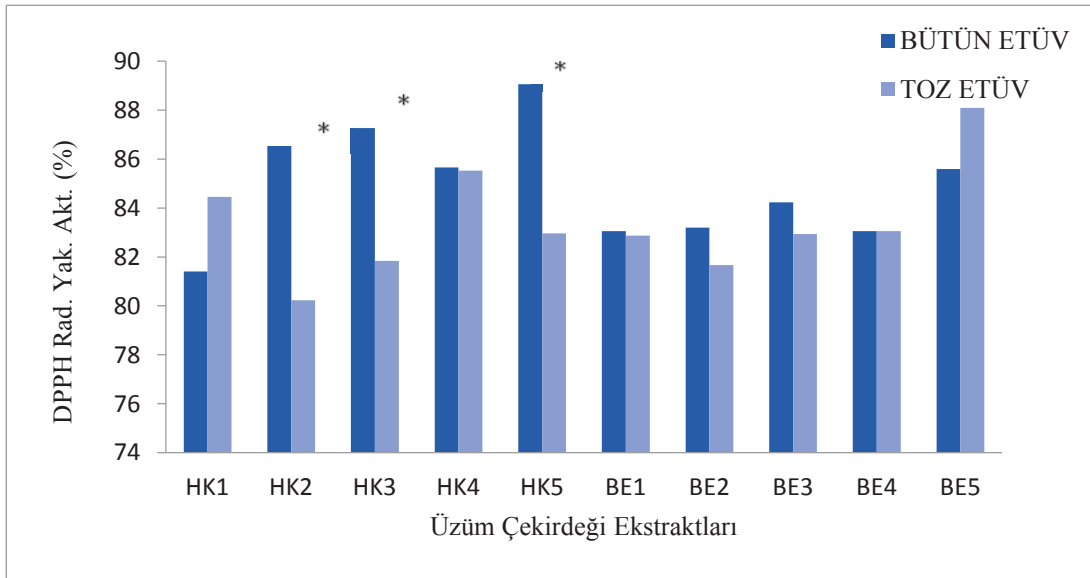
Şekil 4.6. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Etüvde ve liyofilizatörde toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktiviteleri Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin DPPH radikalini giderme aktiviteleri arasındaki fark HK2, HK3, HK4 ve HK5 örneklerinde istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.7. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdek ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

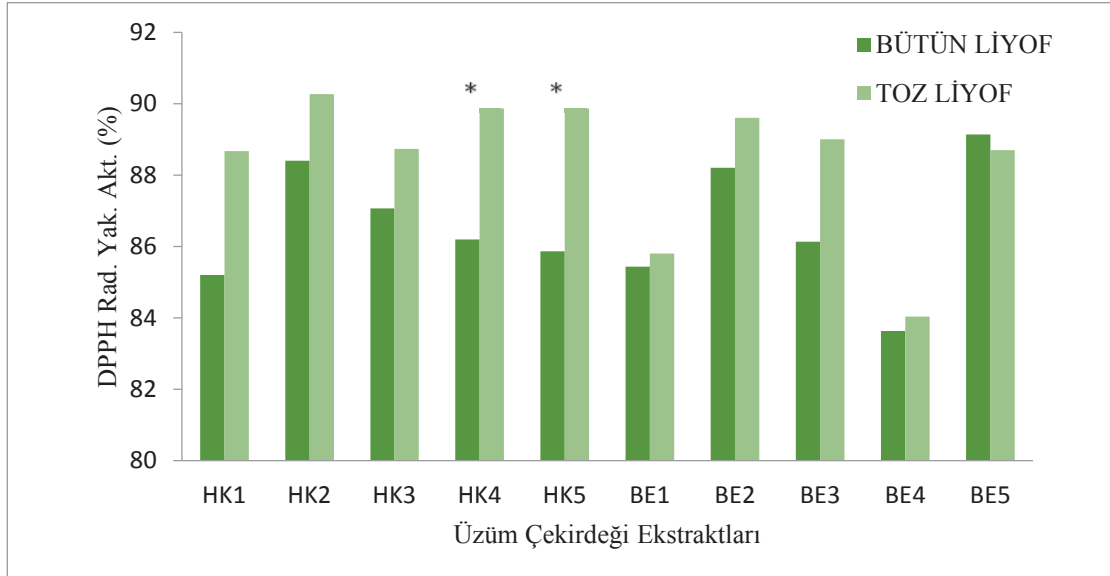
Etüvde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktiviteleri Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın DPPH radikalini giderme aktiviteleri arasındaki fark HK2, HK3 ve HK5 örneklerinde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.8. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Liyofilizatörde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktiviteleri Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Farklı fiziksel

hallerde kurutmanın DPPH radikalini giderme aktiviteleri arasındaki fark HK4 ve HK5 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

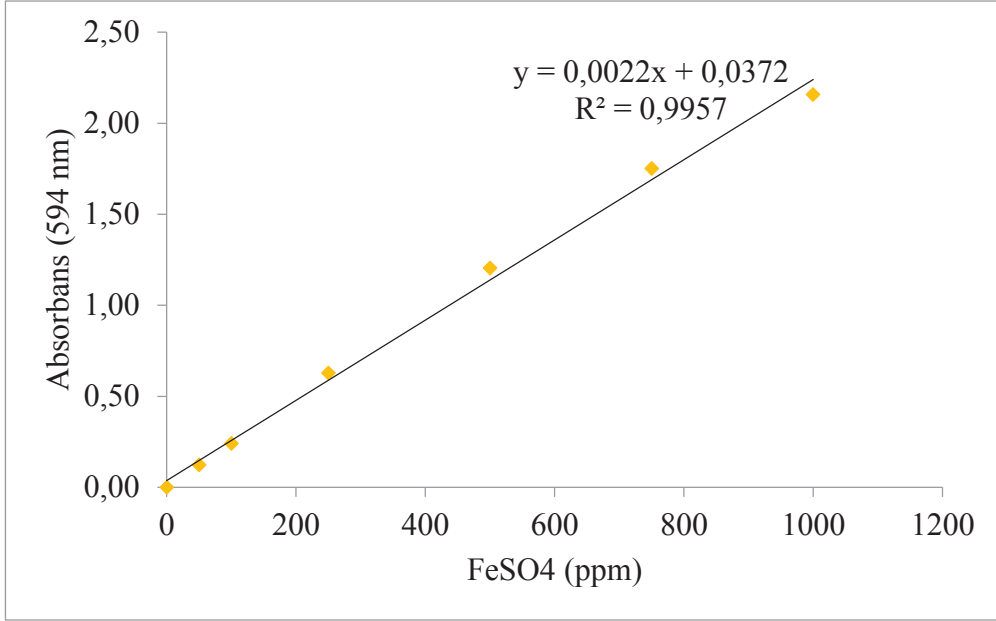


Şekil 4.9. Bütün ve toz halde liyofilizasyonda kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

### 4.3. FRAP Değerleri

Çeşitli yöntemlerle ve iki farklı fiziksel halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerlerini hesaplamak için standart olarak demir (II) sülfat ( $\text{FeSO}_4$ ) kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur (Şekil 4.10).

Bütün halde etüvde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin FRAP değerleri 1 gram örnekte 468,07-608,98 mg  $\text{FeSO}_4$  aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde 1 g örnekteki FRAP değerleri 558,69-858,69 mg  $\text{FeSO}_4$  aralığında bulunmuştur (Tablo 4.3). Horoz Karası üzüm çeşidinde FRAP değeri en düşük HK2 örneğinde bulunurken, en yüksek HK1 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük FRAP değeri BE3 örneğinde bulunurken en yüksek BE2 örneğinde bulunmuştur.



Şekil 4.10. FeSO<sub>4</sub> standart eğrisi

Bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin FRAP değerleri 1 gram örnekte 479,72-715,42 mg FeSO<sub>4</sub> aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde 1 g örnekteki FRAP değerleri 670,63-833,69 mg FeSO<sub>4</sub> aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük FRAP değeri HK2 örneğinde bulunurken en yüksek HK5 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük FRAP değeri BE5 örneğinde bulunurken en yüksek BE4 örneğinde bulunmuştur.

Toz halde etüvde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin FRAP değerleri 1 gram örnekte 530,00-620,63 mg FeSO<sub>4</sub> aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde 1 g örnekteki FRAP değerleri 702,73-835,68 mg FeSO<sub>4</sub> aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük FRAP değeri HK4 örneğinde bulunurken, en yüksek HK3 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük FRAP değeri BE2 örneğinde bulunurken en yüksek BE3 örneğinde bulunmuştur.

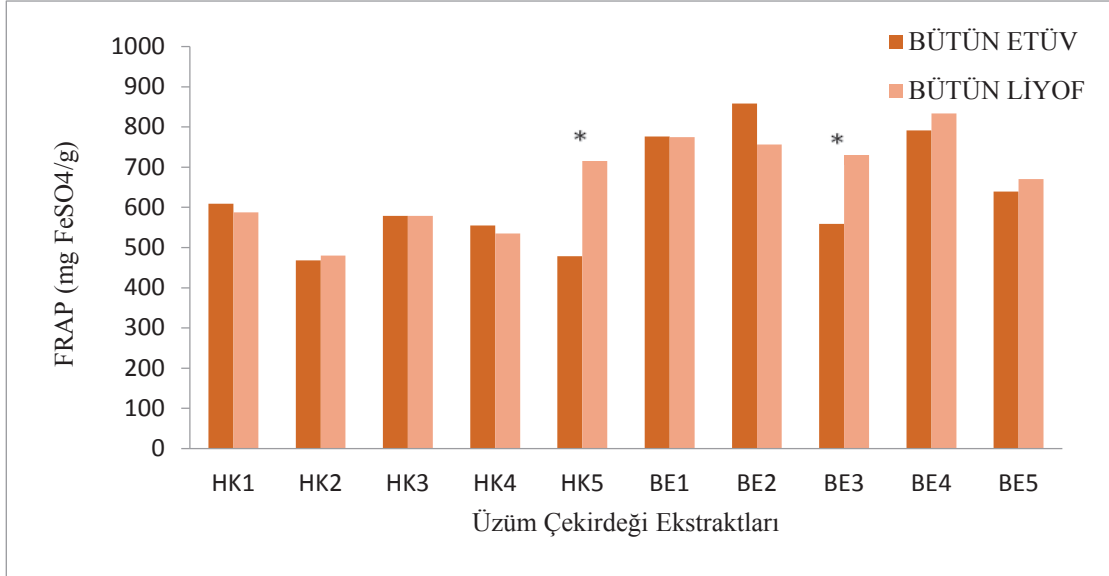
Tablo 4.3. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri (mg FeSO<sub>4</sub>/g)

ÜÇE				
örnekleri	Bütün-etüv	Bütün-liyofilize	Toz-etüv	Toz-liyofilize
HK1	608,98±15,27 <sup>cd</sup>	587,58±24,47 <sup>c</sup>	596,19±10,04 <sup>bc</sup>	614,38±13,26 <sup>b</sup>
HK2	468,07±9,64 <sup>a</sup>	479,72±3,62 <sup>a</sup>	591,74±12,57 <sup>bc</sup>	585,11±15,27 <sup>ab</sup>
HK3	579,15±18,08 <sup>bc</sup>	578,67±6,83 <sup>c</sup>	620,63±3,62 <sup>c</sup>	723,47±5,22 <sup>c</sup>
HK4	555,00±7,23 <sup>b</sup>	535,11±28,93 <sup>b</sup>	530,00±12,86 <sup>a</sup>	575,45±14,46 <sup>a</sup>
HK5	478,86±16,74 <sup>a</sup>	715,42±7,98 <sup>e</sup>	566,08±5,22 <sup>b</sup>	607,27±9,02 <sup>ab</sup>
BE1	776,31±18,08 <sup>e</sup>	774,89±4,02 <sup>g</sup>	828,58±15,67 <sup>e</sup>	837,39±3,21 <sup>e</sup>
BE2	858,69±19,69 <sup>f</sup>	756,42±0,40 <sup>fg</sup>	702,73±9,64 <sup>d</sup>	795,63±6,83 <sup>d</sup>
BE3	558,69±0,40 <sup>b</sup>	730,38±29,73 <sup>ef</sup>	835,68±4,82 <sup>e</sup>	816,36±1,61 <sup>de</sup>
BE4	791,36±24,11 <sup>e</sup>	833,69±7,63 <sup>h</sup>	821,19±15,67 <sup>e</sup>	793,07±10,52 <sup>d</sup>
BE5	639,38±6,83 <sup>d</sup>	670,63±17,28 <sup>d</sup>	824,32±39,37 <sup>e</sup>	618,07±47,41 <sup>b</sup>

a-h: Aynı sütunda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ; n=10).

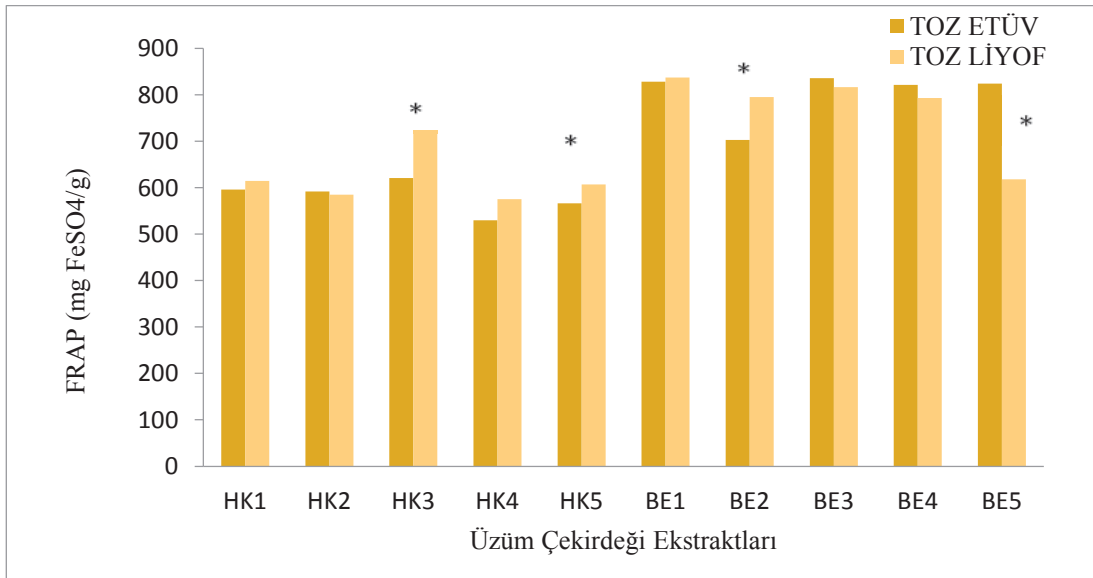
Toz halde liyofilizatörde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin FRAP değerleri 1 gram örnekte 575,45-723,47 mg FeSO<sub>4</sub> aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde 1 g örnekteki FRAP değerleri 702,73-835,68 mg FeSO<sub>4</sub> aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük FRAP değeri HK4 örneğinde bulunurken, en yüksek HK3 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük FRAP değeri BE2 örneğinde bulunurken en yüksek BE3 örneğinde bulunmuştur.

Etüvde ve liyofilizatörde bütün halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri içerikleri Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin FRAP değerleri arasındaki fark, HK5 ve BE3 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.11. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri  
\*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Etüvde ve liyofilizatörde toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin FRAP değerleri arasındaki fark HK3, HK5, BE2 ve BE5 örneklerinde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

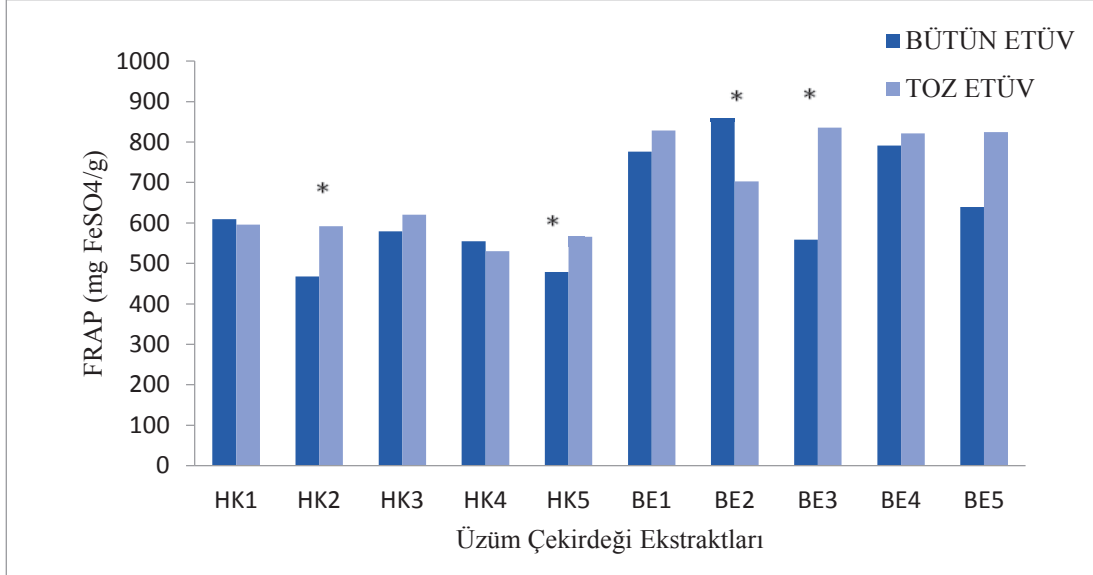


Şekil 4.12. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri  
\*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Etüvde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri Şekil 4.13’de gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın FRAP

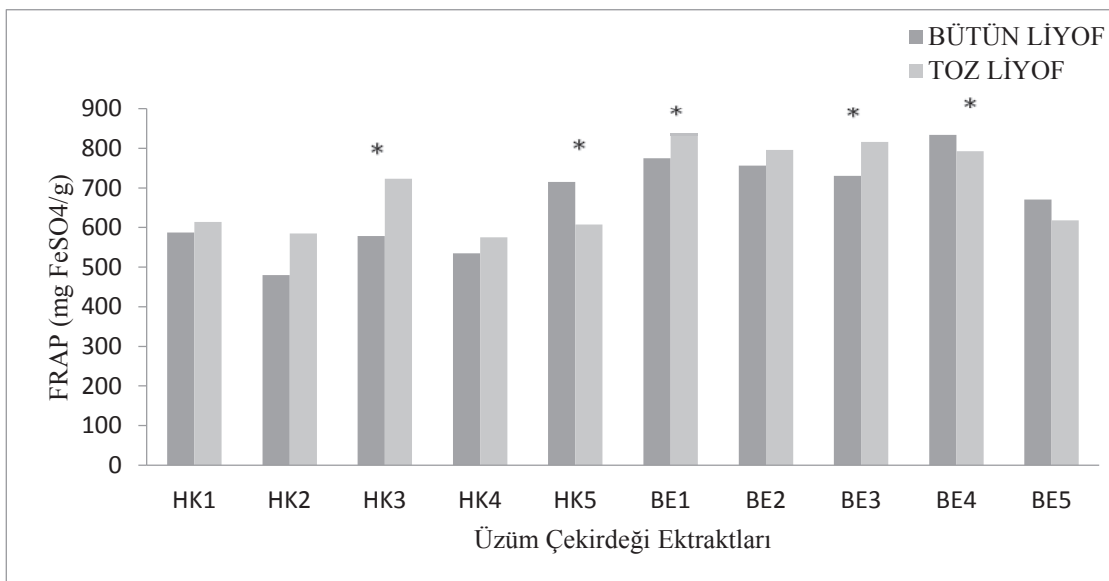


değerleri arasındaki fark HK2, HK5, BE2 ve BE3 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.13. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri  
\*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Liyofilizatörde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın FRAP değerleri arasındaki fark HK3, HK5, BE1, BE3 ve BE4 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.14. Bütün ve toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının FRAP değerleri  
\*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

#### 4.4. Demir Şelatlama Aktivitesi

Bütün halde etüvde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin demir şelatlama aktivitesi %33,17-75,50 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde demir şelatlama aktivitesi %31,70-75,37 aralığında bulunmuştur (Tablo 4.4). Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi HK4 örneğinde bulunurken, en yüksek HK5 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi BE5 örneğinde bulunurken, en yüksek BE3 örneğinde bulunmuştur.

Bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin demir şelatlama aktivitesi % 36,00-78,45 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde demir şelatlama aktivitesi % 34,80-60,75 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi HK2 örneğinde bulunurken, en yüksek HK5 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi BE5 örneğinde bulunurken, en yüksek BE3 örneğinde bulunmuştur.

Tablo 4.4. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi

ÜÇE örnekleri	Bütün-etüv	Bütün-liyofilize	Toz-etüv	Toz-liyofilize
HK1	49,75±4,60 <sup>bc</sup>	61,37±4,87 <sup>c</sup>	44,15±1,20 <sup>bc</sup>	50,30±1,27 <sup>b</sup>
HK2	48,00±3,54 <sup>bc</sup>	36,00±0,00 <sup>a</sup>	30,33±2,20 <sup>a</sup>	42,93±2,90 <sup>b</sup>
HK3	33,60±5,09 <sup>a</sup>	60,20±9,05 <sup>c</sup>	46,60±0,85 <sup>cd</sup>	44,05±5,73 <sup>b</sup>
HK4	33,17±2,05 <sup>a</sup>	40,40±2,26 <sup>ab</sup>	44,40±0,14 <sup>bc</sup>	27,50±0,71 <sup>a</sup>
HK5	75,50±7,78 <sup>d</sup>	78,45±3,18 <sup>d</sup>	49,70±0,99 <sup>d</sup>	79,45±2,05 <sup>d</sup>
BE1	51,70±5,51 <sup>bc</sup>	35,95±7,85 <sup>a</sup>	49,60±2,42 <sup>d</sup>	66,80±0,99 <sup>cd</sup>
BE2	54,37±5,16 <sup>c</sup>	48,97±5,52 <sup>bc</sup>	47,00±0,00 <sup>cd</sup>	67,50±14,85 <sup>cd</sup>
BE3	75,37±3,35 <sup>d</sup>	60,75±9,26 <sup>c</sup>	61,27±1,62 <sup>e</sup>	54,05±0,92 <sup>bc</sup>
BE4	44,17±0,76 <sup>b</sup>	51,25±5,73 <sup>bc</sup>	41,00±1,41 <sup>b</sup>	52,30±6,85 <sup>b</sup>
BE5	31,70±1,84 <sup>a</sup>	34,80±1,56 <sup>a</sup>	43,50±0,71 <sup>bc</sup>	43,83±9,21 <sup>b</sup>

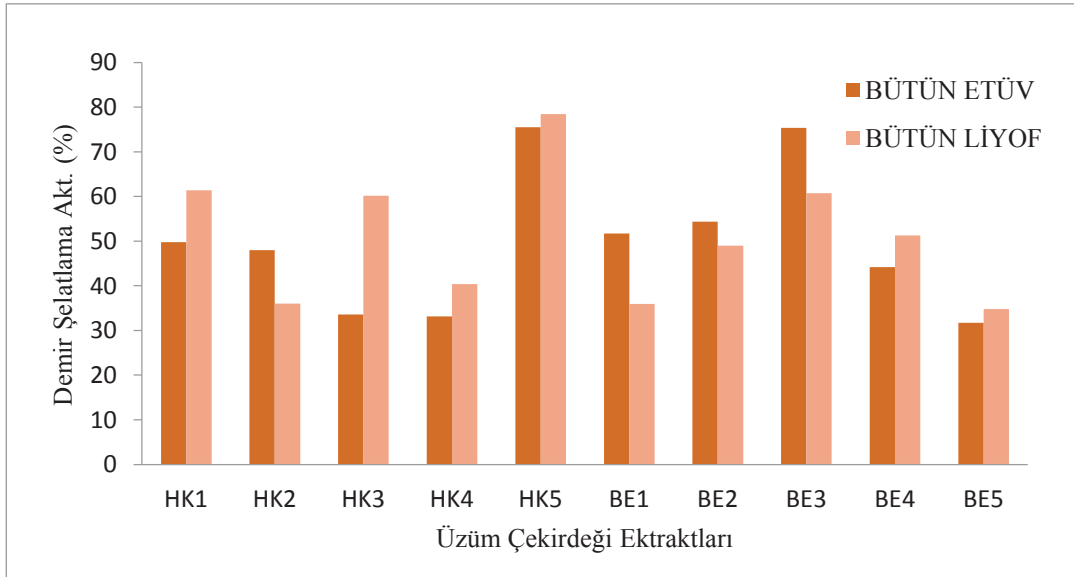
a-d: Aynı sütunda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0,05$ ;  $n=10$ ).

Toz halde etüvde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin demir şelatlama aktivitesi %30,33-49,70 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde

demir şelatlama aktivitesi %41,00-61,27 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi HK2 örneğinde bulunurken, en yüksek HK5 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi BE4 örneğinde bulunurken, en yüksek BE3 örneğinde bulunmuştur.

Toz halde liyofilizatörde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin demir şelatlama aktivitesi %27,50-79,45 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde demir şelatlama aktivitesi %43,83-67,50 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi HK4 örneğinde bulunurken, en yüksek HK5 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük demir şelatlama aktivitesi BE5 örneğinde bulunurken, en yüksek BE2 örneğinde bulunmuştur.

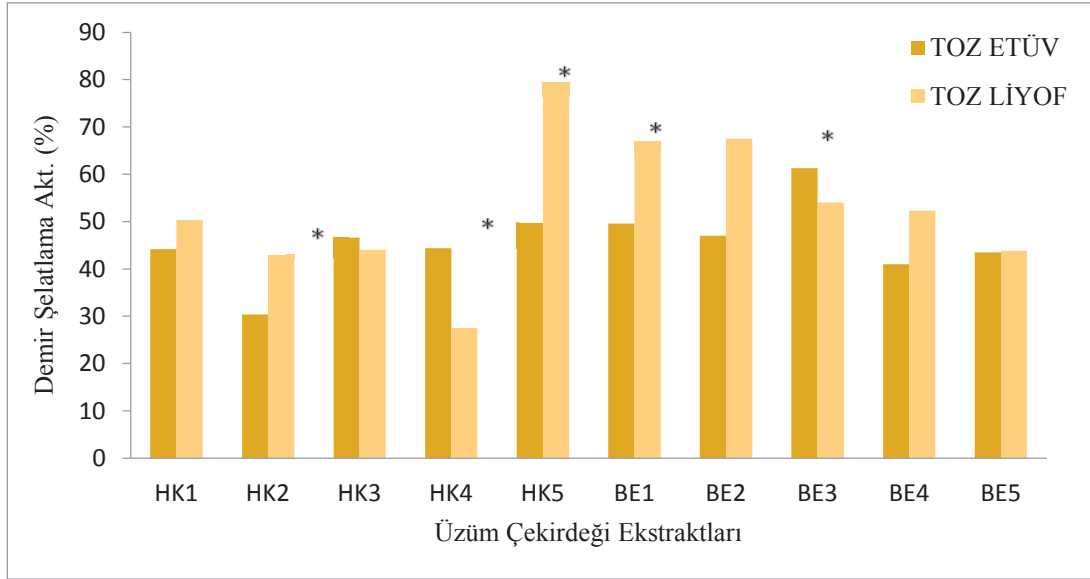
Etüvde ve liyofilizatörde bütün halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarında demir şelatlama aktivitesi Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin demir şelatlama aktivitesi örnekleri arasında istatistiki açıdan önem bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).



Şekil 4.15. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

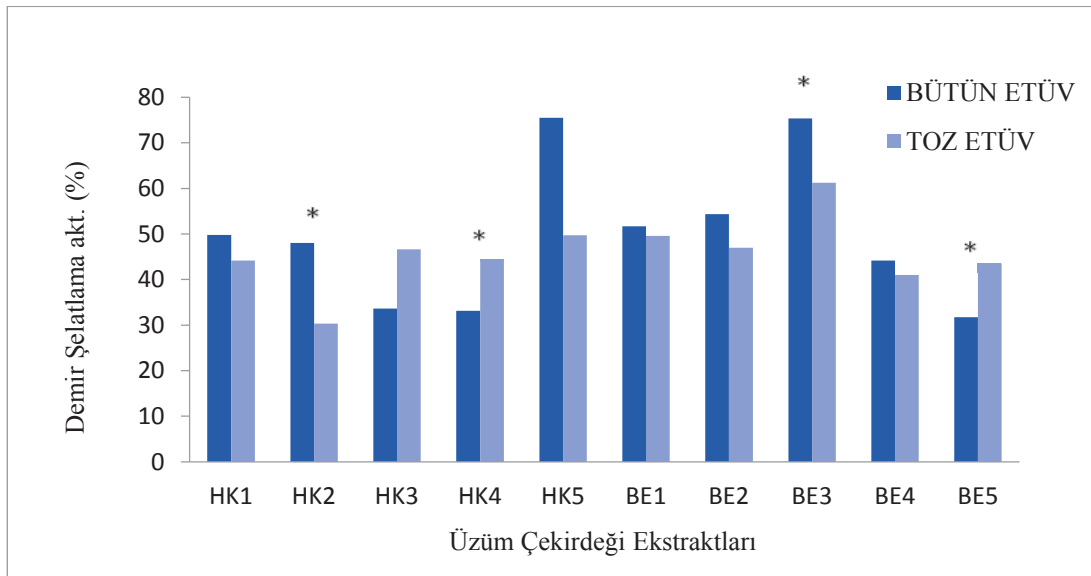
Etüvde ve liyofilizatörde toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin

demir şelatlama aktivitesi arasındaki fark HK2, HK4, HK5, BE1 ve BE3 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



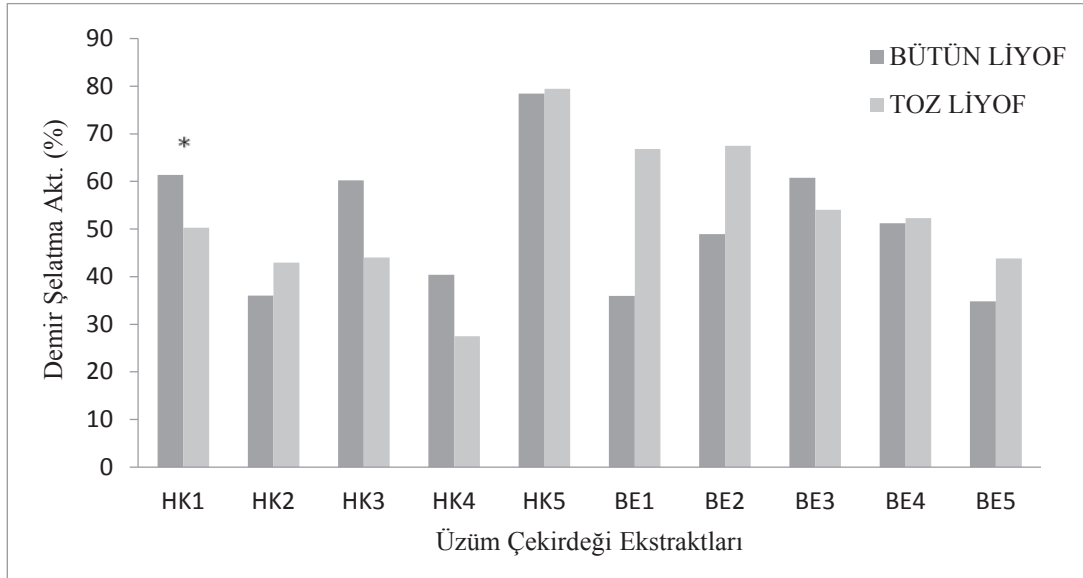
Şekil 4.16. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Etüvde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdek ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi Şekil 4.17’de gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın demir şelatlama aktivitesi arasındaki fark HK2, HK4 ve BE3 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.17. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Liyofilizatörde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi Şekil 4.18’de gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın demir şelatlama aktivitesi arasındaki fark HK1 örneğinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.18. Bütün ve toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

#### 4.5. Hidroksil Radikalini Yakalama Aktivitesi

Bütün halde etüvde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin hidroksil radikalini yakalama aktivitesi %56,27-67,13 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde radikalini yakalama aktivitesi %35,07-90,55 aralığında bulunmuştur (Tablo 4.5). Horoz Karası üzüm çeşidinde hidroksil radikalini yakalama aktivitesi en düşük HK4 örneğinde bulunurken, en yüksek HK2 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük hidroksil radikalini yakalama aktivitesi BE4 örneğinde bulunurken, en yüksek BE2 örneğinde bulunmuştur.

Bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin hidroksil radikalini yakalama aktivitesi %61,70-71,90 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde hidroksil radikalini yakalama aktivitesi %68,20-75,33 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük hidroksil radikalini yakalama aktivitesi HK2 örneğinde bulunurken, en yüksek HK3 örneğinde

bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük hidroksil radikalini yakalama aktivitesi BE3 örneğinde bulunurken, en yüksek BE4 örneğinde bulunmuştur.

Tablo 4.5. Çeşitli yöntemlerle ve farklı fiziksel hallerde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi

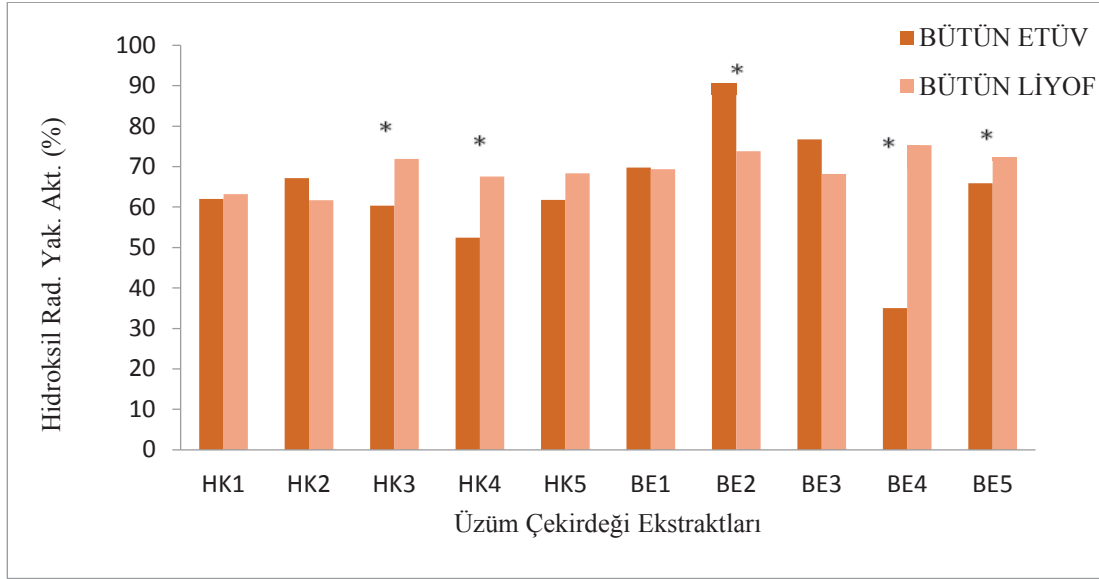
ÜÇE örnekleri	Bütün-etüv	Bütün-liyofilize	Toz-etüv	Toz-liyofilize
HK1	62,00±2,25 <sup>bcd</sup>	63,23±2,25 <sup>ab</sup>	79,67±4,93 <sup>cd</sup>	68,37±0,55 <sup>a</sup>
HK2	67,13±2,34 <sup>cd</sup>	61,70±3,56 <sup>a</sup>	71,77±6,74 <sup>ab</sup>	74,30±2,80 <sup>abc</sup>
HK3	60,33±3,19 <sup>bc</sup>	71,90±0,46 <sup>cd</sup>	69,13±1,03 <sup>a</sup>	88,60±9,05 <sup>e</sup>
HK4	56,27±3,44 <sup>b</sup>	67,53±3,27 <sup>abc</sup>	76,63±0,91 <sup>bcd</sup>	73,47±3,07 <sup>abc</sup>
HK5	61,80±4,85 <sup>bcd</sup>	68,37±1,18 <sup>abcd</sup>	74,83±1,50 <sup>abc</sup>	72,10±1,65 <sup>ab</sup>
BE1	69,80±2,60 <sup>de</sup>	69,37±5,73 <sup>bcd</sup>	80,53±2,54 <sup>cd</sup>	84,27±2,67 <sup>de</sup>
BE2	90,55±2,33 <sup>f</sup>	73,80±4,87 <sup>cd</sup>	77,00±4,36 <sup>bcd</sup>	88,27±7,01 <sup>e</sup>
BE3	76,70±0,87 <sup>e</sup>	68,20±2,55 <sup>abcd</sup>	80,43±1,90 <sup>cd</sup>	81,23±1,20 <sup>cde</sup>
BE4	35,07±2,70 <sup>a</sup>	75,33±5,51 <sup>d</sup>	79,27±1,50 <sup>cd</sup>	78,05±2,33 <sup>bcd</sup>
BE5	65,90±1,56 <sup>cd</sup>	72,33±2,31 <sup>cd</sup>	81,30±1,91 <sup>d</sup>	72,57±5,72 <sup>ab</sup>

a-f: Aynı sütunda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ;  $n=10$ ).

Toz halde etüvde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin hidroksil radikalini yakalama aktivitesi %69,13-79,67 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde hidroksil radikalini yakalama aktivitesi %77,00-81,30 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük hidroksil radikalini yakalama aktivitesi HK3 örneğinde bulunurken, en yüksek HK1 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük hidroksil radikalini yakalama aktivitesi BE2 örneğinde bulunurken, en yüksek BE5 örneğinde bulunmuştur.

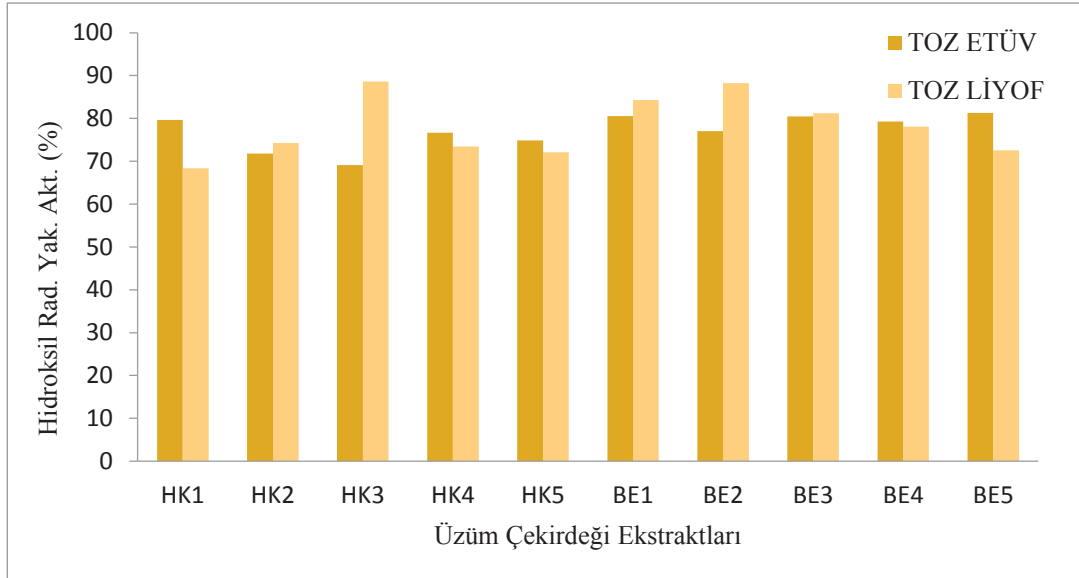
Toz halde liyofilizatörde kurutulmuş çekirdeği ekstraktlarında Horoz Karası çeşidinin hidroksil radikalini yakalama aktivitesi %68,37-88,60 aralığında bulunurken, Besni üzüm çeşidinde hidroksil radikalini yakalama aktivitesi %72,57-88,27 aralığında bulunmuştur. Horoz Karası üzüm çeşidinde en düşük hidroksil radikalini yakalama aktivitesi HK1 örneğinde bulunurken, en yüksek HK3 örneğinde bulunmuştur. Besni üzüm çeşidinde en düşük hidroksil radikalini yakalama aktivitesi BE5 örneğinde bulunurken, en yüksek BE2 örneğinde bulunmuştur.

Etüvde ve liyofilizatörde bütün halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarında hidroksil radikalini yakalama aktivitesi Şekil 4.19'da gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin hidroksil radikalini yakalama aktivitesi arasındaki fark HK3, HK4, BE2, BE4 ve BE5 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



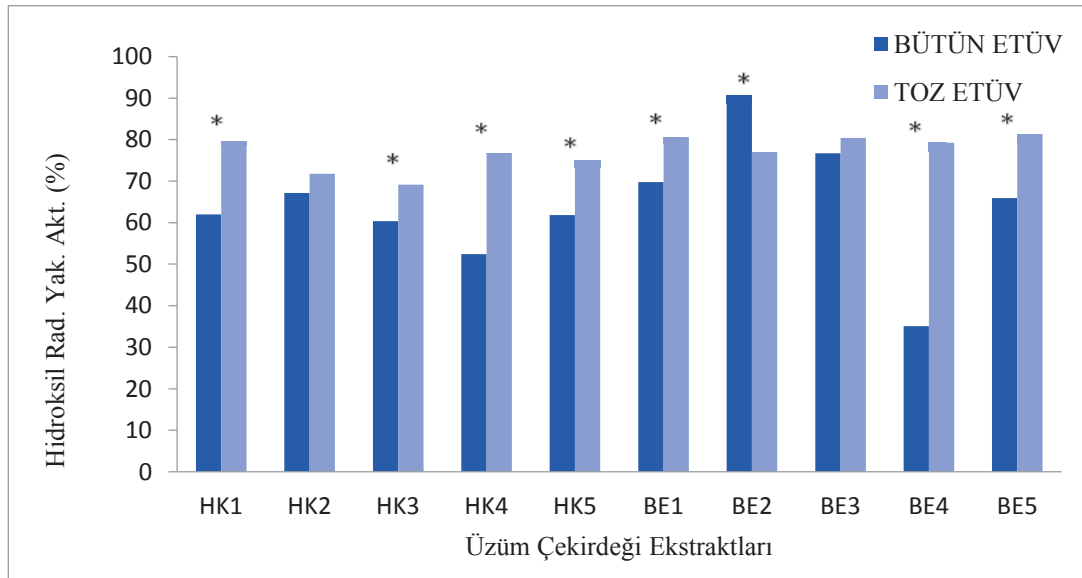
Şekil 4.19. Farklı kurutma yöntemleriyle bütün halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

Etüvde ve liyofilizatörde toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi Şekil 4.20'de gösterilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin hidroksil radikalini yakalama aktivitesi örnekleri arasında istatistiki açıdan önem bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).



Şekil 4.20. Farklı kurutma yöntemleriyle toz halde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı kurutma yöntemleri arasındaki fark istatistik açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

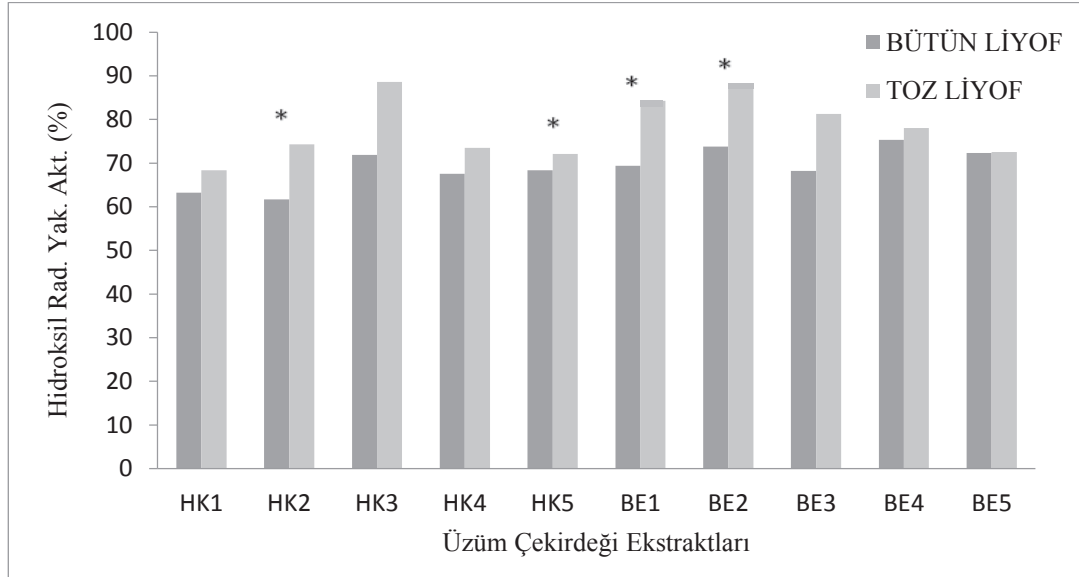
Etüvde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi Şekil 4.21’de gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın demir şelatlama aktivitesi arasındaki fark HK1, HK3, HK4, HK5, BE1, BE2, BE4 ve BE5 örneklerinde istatistik açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.21. Bütün ve toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistik açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).



Liyofilizatörde, bütün ve toz halde kurutulmuş olan üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroksil radikalini yakalama aktivitesi Şekil 4.22’de gösterilmiştir. Farklı fiziksel hallerde kurutmanın hidroksil radikalini yakalama aktivitesi arasındaki fark HK2, HK5, BE1 ve BE2 örneklerinde istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).



Şekil 4.22. Bütün ve toz halde liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının demir şelatlama aktivitesi \*: Aynı örnekteki farklı fiziksel halde kurutma arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $P<0,05$ ).

#### 4.6. Antimikrobiyel Aktivite Analiz Sonuçları

Bütün halde etüvde ve liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdekleri, altı patojen mikroorganizmadan yalnızca *S.aures* bakterisine karşı antimikrobiyel aktivite göstermiş (Tablo 4.6) olup *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *E. coli* Biyotip 1 bakterilerine karşı herhangi bir antimikrobiyel etkide bulunmamıştır.

Bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş olanlardan en yüksek aktiviteyi 14 mm zon çapıyla Horoz Karası üzüm çeşidinde HK4 örneği gösterirken, Besni üzüm çeşidinde BE2 örneği göstermiştir.

Bütün halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeklerinde HK3 örneği antimikrobiyel aktivite göstermemiştir. En yüksek antimikrobiyel aktiviteyi Horoz Karası üzüm

çeşidinde 11 mm zon çapıyla HK4 ve HK5 örneği gösterirken, Besni üzüm çeşidinde 12 mm zon çapıyla, BE2, BE3 ve BE4 örnekleri göstermiştir.

Tablo 4.6. Bütün halde bütün ve liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitesi (mm)

ÜÇE örnekleri	<i>S.aureus</i>	
	Bütün-liyofilize	Bütün- etüv
HK1	11	9
HK2	11	10
HK3	12	-
HK4	14	11
HK5	11	11
BE1	13	11
BE2	14	12
BE3	10	12
BE4	11	12
BE5	11,5	11

Toz halde etüvde ve liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeklerinde, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis*, *E. coli* O157:H7 bakterilerine karşı antimikrobiyel aktivite gözlenmiş (Tablo 4.7) olup çekirdekler *S. Typhimurium* ve *E. coli* Biyotip 1 bakterilerine karşı herhangi bir antimikrobiyal etkide bulunmamıştır.

Toz halde liyofilizatörde kurutulmuş olanlardan en yüksek aktiviteyi 15 mm zon çapıyla, Horoz Karası üzüm çeşidinde HK1 ve HK2 örnekleri gösterirken, Besni üzüm çeşidinde BE2 örneği göstermiştir.

Toz halde etüvde kurutulmuş üzüm çekirdeklerinde, *S. aureus*'a karşı en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi Horoz Karası üzüm çeşidinde 11 mm zon çapıyla HK4 örneği gösterirken, Besni üzüm çeşidinde 14 mm zon çapıyla BE4 örneği göstermiştir. Toz halde liyofilizatörde kurutulmuş örneklerde, HK3 örneği *L. monocytogenes*'e karşı, HK2 ve BE1 örnekleri *S. Enteritidis*'e karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Toz halde etüvde kurutulmuş örneklerde ise BE3 ve BE4 örneklerinin sırasıyla *S. Enteritidis* ve *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.7. Toz halde bütün ve liyofilizatörde kurutulmuş üzüm çekirdeği ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitesi (mm)

ÜÇE örnekleri	<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>S. Enteritidis</i>		<i>E. coli</i> O157:H7	
	Toz-lyofilize	Toz-etüv	Toz-lyofilize	Toz-etüv	Toz-lyofilize	Toz-etüv	Toz-lyofilize	Toz-etüv
HK1	15	9	-	-	-	-	-	-
HK2	15	9,5	-	-	9	-	-	-
HK3	14	10	9	-	-	-	-	-
HK4	12	11	-	-	-	-	-	-
HK5	12	10	-	-	-	-	-	-
BE1	12,5	11	-	-	9	-	-	-
BE2	15	10,5	-	-	-	-	-	-
BE3	12	12	-	-	-	9	-	-
BE4	13	14	-	-	-	-	-	9,5
BE5	12	11,5	-	-	-	-	-	-

## BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada 10 farklı üzüm çekirdeği örneği toz veya bütün halde etüv ve liyofilizatörde kurutulmuş ve fiziksel form ve kurutma yönteminin antioksidan ve antimikrobiyel özellikler üzerine etkisi incelenmiştir. ÜÇE'lerin antioksidan özellikleri toplam fenolik madde miktarı, DPPH serbest radikali giderme aktivitesi, metal iyonlarını şelatlama kapasitesi, hidroksil radikalini giderme aktivitesi ve Fe<sup>+3</sup> iyonunu indirgeme gücü tayini ile belirlenmiştir. Bunun yanında, ÜÇE'nin, 6 adet patojen bakteriye karşı antimikrobiyel etkisi disk difüzyon yöntemiyle analiz edilmiştir.

Gıdalardaki fenolik bileşikler antioksidan ve antimikrobiyel aktiviteleri nedeniyle önemli doğal bileşenlerdir (Nehir El ve ark., 1999). Fenolik bileşiklerin spesifik grupları ayrı ayrı belirlenebilmekle birlikte, toplam fenolik madde miktarı tayini her zaman önemini korumaktadır.

ÜÇE'de yapılan toplam fenolik madde tayininde, Horoz Karası üzüm çeşidi için en yüksek toplam fenolik madde miktarı toz halde liyofilizatörde kurutulan HK3 örneğinde (258,78 mg GAE/g) bulunurken, en düşük toplam fenolik madde miktarı bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş olan HK4 (83,45 mg GAE/g) örneğinde saptanmıştır. Besni çeşidinde ise en yüksek toplam fenolik madde miktarı bütün halde etüvde kurutulan BE1 (255,39 mg GAE/g) örneğinde, en düşük toplam fenolik madde miktarı ise toz halde etüvde kurutulan BE3 (119,70 mg GAE/g) örneğinde belirlenmiştir.

Yemiş ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, 12 farklı çeşit üzüm çekirdeğinin havada kurutulup öğütülmesiyle elde edilen ÜÇE'de toplam fenolik madde miktarının 339,45-587,30 mg GAE/g ekstrakt aralığında; Baydar ve ark. (2006)'ın etüvde kurutup öğütmesiyle 3 farklı üzümünden elde ettiği ÜÇE'de ise

506,60-589,09 mg GAE/g ekstrakt aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan Horoz Karası ve Besni çeşidine ait ÜÇE'lerde, toplam fenolik madde miktarlarının 83,45-258,78 mg GAE/g ekstrakt aralığında değiştiği tespit edilmiş olup (Tablo 4.1), bahsedilen çalışmalardaki sonuçlardan daha dūřuk olduğu görülmektedir. Bu farklılık üzüm çeşitlerinin farklı olmasından kaynaklanabilir.

Baydar ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada, çekirdekler bütün halde etüvde kurutulduktan sonra öğütülerek elde edilen ÜÇE'de, toplam fenolik madde miktarı 667,87 mg GAE/g ekstrakt olarak bulunmuştur. Benzer olarak elde ettiğimiz sonuçlarda da bütün halde etüvde kurutulan ÜÇE'de en yüksek toplam fenolik madde miktarı BE1 rneđinde 255,39 mg GAE/g ekstrakt olarak bulunmuştur. Çalışmamızda elde edilen sonuçların daha dūřuk çıkmasında, bitkisel polifenol içeriğinin üzüm çeşidi, tarımsal uygulamalar, ışık, iklim, hasat zamanı ve depolama şartları gibi pek çok dış faktör etkili olabilir (Heimler ve ark., 2007). Ayrıca zc ve ekstraksiyon proseslerindeki çeşitlilik de fenolik bileşiklerde gözlenen miktar değişikliklerinin sorumluları arasındadır (Cowan, 1999).

Çalışmamızda, bütün halde etüvde kurutulmuş olan Besni (225,37 mg GAE/g) ve Horoz Karası (123, 38 mg GAE/g) zm eşitleri arasındaki toplam fenolik madde miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Liyofilizatörde kurutulduktan sonra öğütülen çekirdeklerden elde edilen ÜÇE'nin kullanıldığı bir çalışmada (Maier ve ark., 2009), toplam fenolik madde miktarının 107,4-226,0 g GAE/kg ekstrakt aralığında değiştiği belirlenmiştir. Anastasiadi ve ark. (2009) ise aynı yöntemi kullanarak elde ettiği ÜÇE'lerin toplam fenolik madde miktarını 428,2 mg GAE/g ekstrakt olarak tespit etmiştir. Çalışmamızda, bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş örneklere toplam fenol miktarı 83,45-242,45 mg GAE/g ekstrakt aralığında olup (Tablo 4.1), Maier ve ark. (2009) tarafından elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Bozan ve ark. (2008), 11 farklı üzüm çeşidinden elde ettikleri çekirdek ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarının 79,2-154,6 mg GAE/g çekirdek

aralığında değiştiğini belirtmiştir. Papaz Karası, Öküzgözü, Ada Karası ve Kalecik Karası üzüm çeşitlerine ait örneklerin toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 154,6; 139,4; 137,5 ve 136,2 mg GAE/g çekirdek şeklinedir. Çalışmada kullanılan ÜÇE, üzüm çekirdeklerinin liyofilizatörde kurutulup öğütülmesi ile elde edilmiştir. Bu sonuçlar, bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş Horoz Karası üzüm çeşidine ait örneklerle tutarlılık gösterirken, Besni üzüm çeşidine ait örneklere kıyasla daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda, bütün halde liyofilizatörde kurutulmuş olan Besni (212,70mg GAE/g) ve Horoz Karası (105,51 mg GAE/g) üzüm çeşitleri arasındaki toplam fenolik madde miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Bütün ve toz halde liyofilizatörde veya etüvde kurutulmuş örnekler karşılaştırıldığında Besni üzüm çeşidine ait ÜÇE'lerin toplam fenol miktarının genel olarak Horoz Karası çeşidine ait örneklerden daha yüksek sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Bu fark bütün halde liyofilizatörde kurutulanlar arasında istatistiksel olarak önemli bulunurken, diğer kontrol gruplarında istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

Anastasiadi ve ark. (2010) tarafından, beyaz ve kırmızı üzüm çeşitlerinden elde edilen ÜÇE'lerle yapılan toplam fenolik madde miktarı tayininde, üzümün kırmızı veya beyaz olmasının toplam fenolik madde miktarında etkili olmadığı tespit edilmiştir. En yüksek (3313,5 mg GAE/100 g) ve en düşük (825,80 mg GAE/100 g) toplam fenolik madde miktarı beyaz üzüm çeşitlerine aitken bu değerler arasında bulunan toplam fenolik madde miktarları (2732,4-2612,5 mg GAE/100 g) ise kırmızı üzüm çeşidine ait olarak belirlenmiştir. Maier ve ark. (2009) tarafından da benzer sonuçlar elde edilmiş olup kırmızı veya beyaz üzüm çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarında etkili olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızla paralellik göstermiş olup Besni ve Horoz Karası üzüm çeşitlerinden elde edilen ÜÇE'lerde belirlenen toplam fenolik madde miktarları arasında önemli bir fark olmuşmuştur; ancak bu fark üzümlerin kırmızı veya beyaz üzüm olması sebebiyle değil; üzüm cinsinin farklılığından dolaydır.

Kurutma yöntemlerinin Horoz Karası ve Besni üzüm çeşitlerindeki toplam fenolik madde miktarına etkisini karşılaştırdığımızda; toz haldeki örneklerde etüv (153,27 mg GAE/g) veya liyofilizatörde (204,81 mg GAE/g) kurutma arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P<0,05$ ), bütün halde etüv (170,13 mg GAE/g) ve liyofilizatörde (159,10 mg GAE/g) kurutulan örneklerde bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

Kim ve ark. (2006), bütün ve toz haldeki üzüm çekirdeği ekstraktlarında fiziksel formun toplam fenolik madde miktarını etkilediği ve toz formda daha yüksek sonuçlar elde edildiği gözlemlenmiştir. Çalışmamızda, farklı fiziksel hallerde etüvde kurutulan HK1 ve BE3 örnekleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.3). HK1 örneğinde toz halde kurutma sonucu; BE3 örneğinde ise bütün halde kurutma sonucu daha yüksek çıkmıştır. Liyofilizatörde kurutulan örneklerde ise HK2, HK3 ve BE2 örnekleri arasındaki fark toz halde kurutulanlarda daha yüksek çıkmış olup istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Fiziksel formun Horoz Karası ve Besni üzüm çeşitlerindeki toplam fenolik madde miktarına etkisini karşılaştırdığımızda; toz (204,81 mg GAE/g) veya bütün (159, 10 mg GAE/g) halde liyofilizatörde kurutulan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P<0,05$ ), toz (153, 27 mg GAE/g) veya bütün (170, 13 mg GAE/g) halde etüvde kurutulan örneklerde bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

Daha önceki yapılan bazı çalışmalarda ÜÇE'nin toplam fenolik madde miktarına ait sonuçlar farklı birimlerle verilmiş olup, Rababah ve ark. (2004) 63,5 mg CAE/g km, Göktürk Baydar ve ark. (2007) 704 mg CAE/g,, Negro ve ark. (2003) üzüm çekirdeklerini etüvde kurutarak elde ettiği ÜÇE'nin toplam fenolik madde miktarını 2,86 g GAE/L ekstrakt, Corrales ve ark., (2009) 327 mmol GAE/g, Poiana (2012) ise 'Merlot Recas' cinsi şaraplık üzüm çeşidinden üretilen ÜÇE'nin, toplam fenolik madde miktarını 1019,83  $\mu$ mol GAE/g ekstrakt olarak bulmuştur.

FRAP analizinde, elektron vermenin antioksidanların toplam indirgeme kapasitesiyle lineer olduğu varsayılır. Bu yaklaşımın ana dezavantajı, yöntem okside olabilen bir substrat içermediğinden antioksidanların koruyucu özellikleri hakkında bilgi sağlamamasıdır (Benzie ve Strain, 1996; Huang ve ark., 2005).

ÜÇE'nin FRAP analiz sonuçları değerlendirildiğinde genel olarak toz halde kurutmada bütün halde kurutmaya göre daha yüksek sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Ancak toz veya bütün haldeki örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

Ayrıca kurutma yönteminin FRAP değeri üzerine etkisi incelendiğinde; toz halde etüv (686, 95 mg FeSO<sub>4</sub>/g) ve liyofilizatörde (696, 94 mg FeSO<sub>4</sub>/g) kurutma ve bütün halde etüv (624, 18 mg FeSO<sub>4</sub>/g) ve liyofilizatörde (664,04 mg FeSO<sub>4</sub>/g) kurutmada örneklerin FRAP değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

FRAP analiz sonuçları, bütün halde etüv ve liyofilizatörde ve toz halde etüv ve liyofilizatörde kurutulan örnekler için, Besni üzüm çeşidinde Horoz Karası üzüm çeşidine kıyasla daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Besni ve Horoz Karası arasındaki fark tüm kontrol grupları için istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Daha önce yapılan çalışmalarda ise ÜÇE'nin FRAP değerine ait sonuçlar farklı birimlerle verilmiş olup, Anastasiadi ve ark. (2009) 111,4-150,0 µM FeSO<sub>4</sub> aralığında; Maier ve ark. (2009) 7 farklı üzüm çeşidinden elde ettiği ÜÇE'ler arasındaki en yüksek FRAP değerini 58,04 mol TAE/100 g ekstrakt olarak; Poiana (2012), 'Merlot Recas' cinsi şaraplık üzüm çeşidinden üretilen ÜÇE'nin, FRAP değerini 1231,56 µmol Fe<sup>+2</sup>/g ekstrakt olarak bulunmuştur. Guo ve ark. (2003), 28 meyve çekirdeğinin FRAP değerlerini kıyaslamış ve en yüksek değerini üzüm çekirdeğine (55,54 mmol/100 g yaş ağırlık) ait olduğunu belirtmiştir.

DPPH radikalini yakalama aktivitesini incelediğimizde, Kim ve ark. (2006) tarafından fiziksel formun radikal yakalama aktivitesini etkilediği bildirilmiş olup toz



halde bulunan ÜÇE'nin bütün haldeki ÜÇE'ye kıyasla daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

Çalışmamızda toz (% 88, 52) ve bütün (% 86, 52) halde liyofilizatörde ve toz (% 83, 15) ve bütün (% 85, 03) halde etüvde kurutulmuş örnekler arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Liyofilizatörde kurutmada toz halde kurutulanlar, etüvde kurutmada ise bütün halde kurutulanlar daha yüksek aktivite göstermiştir.

Bütün halde etüv (% 85, 03) ve liyofilizatörde (% 86, 52) ve toz halde etüv (% 83, 15) ve liyofilizatörde (% 88, 52) kurutulan örneklerde liyofilizatörde kurutma işlemi, etüvde kurutmaya kıyasla daha iyi radikal yakalama aktivitesi göstermiş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Tüm örnekleri incelediğimizde, genel olarak en yüksek değerler toz halde liyofilizatörde kurutulmuş ÜÇE örneklerinde elde edilmiştir. Chan ve ark. (2009), liyofilizatörde kurutmanın etüvde kurutmaya karşılaştırıldığında daha az fenolik madde kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar Aktürk (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da gözlenmiştir.

Jayaprakasha ve ark. (2003) tarafından yapılan araştırmada, Bangalore üzümünden elde edilen ÜÇE'nin DPPH radikalini yakalama aktivitesi tayini sonucu %45,6 bulunmuştur. Konsantrasyonun iki katına çıkarılmasıyla yakalama aktivitesi de yaklaşık iki katına çıkmıştır. Bu analiz sonucu, ÜÇE'nin serbest radikal inhibitörü olduğunu ve bundan dolayı radikallerle reaksiyona girerek antioksidan olduğunu doğrulamıştır. Çalışmamızda ÜÇE'ler için DPPH radikalini yakalama sonuçlarının %80,23-90,27 aralığında değiştiği görülmüştür.

Göktürk Baydar ve ark. (2007), Narince üzümünden elde edilen ÜÇE'nin DPPH radikalini yakalama aktivitesini % 90,2 olarak bulmuştur. Bu sonuçlar, yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlarla tutarlılık göstermektedir.

Toz halde liyofilizatörde kurutmada Horoz Karası (%89,48) üzüm çeşidi, Besni (%87,32) üzüm çeşidine kıyasla daha yüksek radikal yakalama aktivitesi göstermiştir. Üzüm çeşitleri arasındaki fark toz halde liyofilizatörde kurutmada istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Hidroksil radikali yakalama aktivitesi tayininde, antioksidanın hidroksil radikalini giderebilme gücü ölçülür. Ancak pek çok antioksidan aynı zamanda metal şelatörü olduğu için  $Fe^{+2}$ 'nin aktivitesini değiştirebilir. Bu yüzden değerlendirilen antioksidanın iyi bir metal şelatlayıcı mı veya hidroksil radikali giderici mi olduğunun kesin anlaşılabilmesi yöntemin dezavantajıdır (Becker ve ark., 2004).

Horoz Karası üzüm çeşidinden elde edilen ÜÇE örneklerinde, çekirdeklerin fiziksel formunun, hidroksil radikali yakalama aktivitesini etkilediği gözlemlenmiştir. Toz halde kurutulan örneklerin bütün halde kurutulanlara kıyasla daha yüksek sonuçlara sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.5). Etüvde toz veya bütün halde kurutulmuş HK2 ve BE3 örnekleri dışında diğer örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Liyofilizatörde farklı fiziksel formlarda kurutulan örneklerden ise HK2, HK5, BE1 ve BE2 örnekleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Bütün veya toz halde farklı kurutma yöntemleri ile kurutulan örneklerde liyofilizatörde kurutma daha yüksek yakalama aktivitesi göstermiş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

ÜÇE örneklerinde, çekirdeklerin fiziksel formunun, hidroksil radikali yakalama aktivitesini etkilediği gözlemlenmiştir (Tablo 4.5). Etüvde toz (% 77, 05) ve bütün (% 63, 94) halde ve liyofilizatörde toz (% 77, 75) ve bütün (% 69, 21) halde kurutulan örneklerde, her iki kurutma yöntemi için de toz halde kurutulanlar bütün halde kurutulanlara kıyasla daha yüksek aktivite göstermiş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Hidroksil radikali yakalama aktivitesi sonuçları, tüm kontrol grupları için Besni üzüm çeşidinde Horoz Karası üzüm çeşidine kıyasla daha yüksek olarak tespit

edilmiştir. Besni ve Horoz Karası arasındaki fark bütün halde etüvde kurutulmuş grup hariç diğer gruplar için istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Al-Muwaly ve ark., (2012) tarafından yapılan çalışmada, ÜÇE'nin, hidroksil radikali yakalama aktivitesi % 6,34-70,33 aralığında; çalışmamızda ise % 35,07-90,55 aralığında değiştiği belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada ÜÇE'nin hidroksil radikali yakalama aktivitesi sonucu farklı birimle verilmiş olup 33,01 AE (Antioxidant Efficiency-antioksidan etkinliği) olarak rapor edilmiştir (Parejo ve ark., 2002).

Yamaguchi ve ark. (1999), ÜÇE'nin yanında  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten gibi doğal antioksidanların da serbest radikalleri yakalama aktivitesini araştırmıştır ve ÜÇE'nin %0,01 konsantrasyonda bile diğer antioksidanlara kıyasla yüksek aktivite gösterdiğini belirtmiştir.

Yapılan çalışmalar doğrultusunda, demir şelatlama aktivitesinin Horoz Karası üzüm çeşidine ait örnekler için %30,33-79,45 aralığında, Besni üzüm çeşidine ait örnekler için ise %31,70-75,37 aralığında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 4.4). Horoz Karası ve Besni üzüm çeşitlerinin demir şelatlama aktivitesi karşılaştırıldığında Besni üzüm çeşidinin genel olarak Horoz Karası üzüm çeşidine göre daha yüksek aktivite gösterdiği, aralarındaki farkın yalnızca toz halde etüvde kurutmada istatistiksel olarak önemli bulunduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

ÜÇE'lerin demir şelatlama aktiviteleri incelendiğinde, toz halde liyofilizatörde kurutulan örneklerin aktiviteleri diğer kontrol gruplarına göre yüksek çıkmıştır. Ancak aralarındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

Al-Muwaly ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada ÜÇE'nin, demir şelatlama aktivitesi %16,66-81,33 aralığında bulunmuştur. Bu sonuç çalışmamızla paralellik göstermektedir.

ÜÇE'lerin antioksidan aktiviteleri genel olarak değerlendirildiğinde etüvde kurutulan örneklerde bütün halde olanlarda, liyofilizatörde kurutulanlarda ise toz halde olanlarda daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Bütün halde etüvde kurutma sırasında sıcaklık örneklerde var olan fenolik bileşikleri toz halde etüvde kurutulan örneklere kıyasla daha az etkilemiş ve bu sebeple kurutma sonrasında daha yüksek miktarda fenolik bileşik elde edilmiş olabilir.

Toz halde liyofilizatörde yapılan kurutma işleminde hem ekzojen oksidasyon şartlarının (sıcaklık, O<sub>2</sub>) daha az etkin olması hem de liyofilizasyon işleminde daha etkin bir ekstraksiyon sağlanması sebebiyle örneklerde daha yüksek antioksidan aktivite elde edilmiş olabilir.

ÜÇE'nin polifenolik bileşiklerce zengin olması, yüksek antimikrobiyel aktivite göstermesine neden olur. Çalışmamızda, ÜÇE'lerin bütün halde etüvde kurutulmuş HK3 örneği hariç tamamı *S. aureus*'a karşı; toz halde liyofilizatörde kurutulmuş HK3 *L. monocytogenes*'e karşı, toz halde liyofilizatörde kurutulmuş olan HK2 ve BE1 örnekleri ve toz halde etüvde kurutulmuş BE3 örneği *S. Enteritidis*'e karşı; toz halde etüvde kurutulmuş BE4 örneği *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir (Tablo 4.7).

Yapılan bir çalışmada, ÜÇE'nin ağız anaeroblarına karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Furiga ve ark., 2009).

Baydar ve ark. (2004), ÜÇE'nin patojen ve bozulma mikroorganizmalarını içeren 15 adet bakteriye karşı antimikrobiyel etkinliğini disk difüzyon metodu ile araştırmıştır. ÜÇE'nin %4 konsantrasyonda bile test bakterilerine karşı etkili olduğu, 33,5 mm zon oluşturarak en yüksek antibakteriyel etkiyi *L. monocytogenes* bakterisine karşı gösterdiği bildirilmiştir. Çalışma sonucu, ÜÇE'nin depolanmış gıdaların bozulmasını önlemede antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Rhodes ve ark. (2006)'ın yaptıkları bir çalışmada, sofralık Ribier üzüm çeşidinden elde edilen ÜÇE'nin, *L. monocytogenes* bakterisine karşı antimikrobiyel etkisi

gözlemlenmiştir. Çalışmamızda, toz halde liyofilizatörde kurutulmuş olan HK3 örneğinin *L. monocytogenes*'e karşı 9 mm çapında zon oluşturduğu görülmüştür.

Jayaprakasha ve ark. (2003), ÜÇE'nin farklı bakteri gelişimlerine etkisini araştırmış, ÜÇE'nin *S. aureus*, *B. cereus* ve *B. subtilis* gibi Gram-pozitif bakterilerine karşı, *E. coli* gibi Gram-negatif bakterilere kıyasla daha etkili olduğu bulunmuştur.

Baydar ve ark. (2006), Hasandede, Emir ve Kalecik Karası üzümlerinden elde edilmiş çekirdek ekstraktlarından Hasandede çekirdek ekstraktının *A. hydrophila* bakterisine karşı en geniş inhibisyon zonu (30,67 mm) oluşturduğunu belirtmiştir. ÜÇE'ler *S. aureus* ve *A. hydrophila* bakterilerine karşı bakterisidal aktiviteye sahiptir. Bu çalışmada çekirdekler etüvde kurutulduktan sonra öğütülmüştür. Çalışmamızda, bütün halde etüvde kurutulan Horoz Karası ve Besni üzüm çeşitleri *S. aureus* bakterisine karşı etkili bulunmuş; inhibisyon zonu 9-11 mm aralığında değişkenlik göstermiştir. Yapılan bir araştırma, antioksidan ve antimikrobiyel aktiviteye sebep olan aktif bileşenlerin ekstraksiyonunun metanol ile yapılmasıyla, su, etanol, kloroform gibi çözümlere kıyasla daha fazla sayıda aktif bileşen elde edilebildiğini göstermiştir.

Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen önemli bulgular şu şekilde özetlenebilir:

- a. Toz halde kurutulan örnekler bütün halde kurutulan örneklerle kıyaslandığında daha yüksek antioksidan aktivite göstermişlerdir.
- b. Besni üzüm çeşidi Horoz Karası üzüm çeşidine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.
- c. Toz halde liyofilizatörde kurutma bütün halde kurutma liyofilizatörde kurutmaya göre daha yüksek sonuç verirken; etüvde kurutma işleminde bütün halde kurutulan örnekler toz halde kurutulan örneklere kıyasla daha iyi antioksidan aktivite göstermiştir.
- d. ÜÇE'nin özellikle *S. aureus*'a karşı daha etkili olduğu, sınırlı düzeyde de *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* ve *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Günümüzde, geleceğe yönelik sentetik koruyucuların yerini alabilecek doğal koruyucuların arayışları hızla sürmektedir. Bu noktada ÜÇE'nin oldukça iyi bir antioksidan ve antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile yüksek koruyucu aktiviteye sahip ÜÇE'nin, aktivitesini en üst düzeyde tutabilecek proseslerin belirlenerek, bu çalışmaların endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılığının sağlanması düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar baz alınarak, gıda üreticilerine, sentetik koruyuculara alternatif olarak ÜÇE'nin kullanımı tavsiye edilebilir.

## KAYNAKLAR

AALT, B., HAENEN, R.M. AND DOELMAN, J.A. Oxidants and antioxidants, State of the Art. *The American Journal of Medicine*, 91: 3-13, 1991.

ABDOLLAHI, M., RANJBAR, A., SHADNIA, S., NIKFAR, S., REZAIIEE, A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6), RA141-RA147, 2004.

ADAMS, D. O. Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 249-256, 2006.

ADEBAMOWO, C. A., CHO, E., SAMPSON, L., KATAN, M. B., SPIEGELMAN, D., WILLETT, W. C., HOLMES, M. D. Dietary flavonols and flavonol-rich foods intake and the risk of breast cancer. *International Journal of Cancer*, 114(4), 628-633, 2005.

AGARWAL, C., SHARMA, Y., & AGARWAL, R. Anticarcinogenic effect of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in human prostate carcinoma DU145 cells: modulation of mitogenic signaling and cell-cycle regulators and induction of G1 arrest and apoptosis. *Molecular Carcinogenesis*, 28(3), 129-138, 2000.

AHN, J., GRÜN, I., & FERNANDO, L. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Journal of Food Science*, 67(4), 1364-1369, 2002.

AHN, J., GRÜN, I. U., & MUSTAPHA, A. Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. *Journal of Food Protection*, 67(1), 148-155, 2004.

AHN, J., GRÜN, I. U., & MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, 24(1), 7-14, 2007.

AKIN, A., & ALTINDIŞLI, A. Emir, Gök Üzüm ve Kara Dimrit Üzüm Çeşitlerinin Çekirdek Yağlarının Yağ Asidi Kompozisyonu ve Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi. *Akademik Gıda*, 8(6): 19-23, 2010.

AKKUŞ, İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya, 1*, 1995.

AKTÜRK, Ö. Zencefil ve domatesin antioksidan özellikleri üzerine çeşitli kurutma yöntemlerinin etkisi. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.

ALBERTO, M. R., FARÍAS, M. E., & MANCA DE NADRA, M. C. Effect of gallic acid and catechin on *Lactobacillus hilgardii* 5w growth and metabolism of organic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4359-4363, 2001.

ALBERTO, M. R., FARÍAS, M. E., & MANCA DE NADRA, M. C. Effect of wine phenolic compounds on *Lactobacillus hilgardii* 5w viability. *Journal of Food Protection*, 65(1), 211-213, 2002.

ALBERTO, M. R., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., & MANCA DE NADRA, M. C. Metabolism of gallic acid and catechin by *Lactobacillus hilgardii* from wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6465-6469, 2004.

AL-MUWALY, K. Y. A., AL-FLAYEH, K. A., & ALÌ, A. A. A. Antioxidant and free radical scavenging effects of black grape seed (*Vitis Vinifera* L). *Pharmaceuticals*, 5: 6, 2012.

ALONSO, Á. M., GUILLÉN, D. A., BARROSO, C. G., PUERTAS, B., & GARCÍA, A. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21): 5832-5836, 2002.

AMES, B. N. Dietary carcinogens and anticarcinogens oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221(4617): 1256-1264, 1983.

ANASTASIADI, M., CHORIANOPOULOS, N. G., NYCHAS, G.-J. E., & HAROUTOUNIAN, S. A. Antilisterial activities of polyphenol-rich extracts of grapes and vinification byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2): 457-463, 2009.

ANTMEN, Ş. E. Beta talasemide oksidatif stres. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2005.

ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P. D., PATSALIDES, E., MCDONALD, S., & ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1): 183-198, 2002.

ARII, M.; MIKI, R.; HOSOYAMA, H.; ARIGA T. Proceedings of American Association for Cancer Research 89th Annual Meeting; *American Association for Cancer Research*, 39:132, 1998.

ARORA, A., NAIR, M. G., & STRASBURG, G. M. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(9): 1355-1363, 1998.

ARUOMA, O.I. Free radicals and food. *Chemistry in Britain*. 29: 210-214, 1993.



ARUOMA, O.I. Characterisation of drugs as antioxidant prophylactics. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 675-705,1996.

ASLAN, R., ŞEKEROĞLU, M. R., GÜLTEKİN, F., & BAYIROĞLU, F. Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: Relation to age, sex, habits, lifestyle and environment. *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 32(8): 2101-2109, 1997.

AYDIN, H. Bazı baharatların farklı ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2011.

BAGCHI, D., BAGCHI, M., STOHS, S. J., DAS, D. K., RAY, S. D., KUSZYNSKI, C. A., PRUESS, H. G. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148(2): 187-197, 2000.

BAGCHI, D., BAGCHI, M., STOHS, S. J., RAY, S. D., SEN, C. K., & PREUSS, H. G. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1): 260-270, 2002.

BAKKALBAŞI, E., YEMİŞ, O., ASLANOVA, D., & ARTIK, N. Major flavan-3-ol composition and antioxidant activity of seeds from different grape cultivars grown in Turkey. *European Food Research and Technology*, 221(6): 792-797, 2005.

BANON, S., DÍAZ, P., RODRÍGUEZ, M., GARRIDO, M. D., & PRICE, A. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Science*, 77(4): 626-633, 2007.

BARIŞ, C., ÇELİK, H., GÖKÇAY, E., MARSALI, B. Türkiye’de Bağcılığın Sorunları ve Çözüm Yolları. *Türkiye Ziraat Müh. III. Tek. Kong.*, Ankara, 432-480, 1990.

BAUER, A.W.; KIRBY, E.; SHERRIS, E.M.; TURK, M. Antibiotic by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Path.*, 45: 493-496, 1966.

BAYDAR, N. G., ÖZKAN, G., & SAĞDIÇ, O. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape *Vitis vinifera* L. extracts. *Food Control*, 15(5): 335-339, 2004.

BAYDAR, N. G., SAGDIC, O., OZKAN, G., & CETIN, S. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape *Vitis vinifera* L. seed extracts. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(7): 799-804, 2006.

BECKER, E.M., NISSEN, L.S., SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 219(6): 561-571, 2004.

BENAVENTE-GARCIA, O., CASTILLO, J., LORENTE, J., ORTUNO, A., & DEL RIO, J. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462, 2000.

BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76, 1996.

BEUCHAT, L. R., BRACKETT, R. E., & DOYLE, M. P. Lethality of carrot juice to *Listeria monocytogenes* as affected by pH, sodium chloride and temperature. *Journal of Food Protection*, 57(6), 470-474, 1994.

BİLİCİ BAŞKAN, M., PALA, A., Şaraplık bağların sürdürülebilirliği, şarap yapımı ve satışı üzerine çevrenin etkisi. *Ulusal Bağcılık-Sarap Sempozyumu ve Sergisi Bildiriler Kitabı, Denizli*, 463-471, 2008.

BISHA, B., WEINSETEL, N., BREHM-STECHER, B. F., & MENDONCA, A. Antilisterial effects of gravinol-s grape seed extract at low levels in aqueous media and its potential application as a produce wash. *Journal of Food Protection*, 73(2), 266-273, 2010.

BOLAÑOS, J. P., MORO, M. A., LIZASOAIN, I., & ALMEIDA, A. Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: therapeutic implications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(14), 1299-1315, 2009.

BOMSER, J., SINGLETARY, K., WALLIG, M., & SMITH, M. Inhibition of TPA-induced tumor promotion in CD-1 mouse epidermis by a polyphenolic fraction from grape seeds. *Cancer Letters*, 135(2), 151-157, 1999.

BONILLA, F., MAYEN, M., MERIDA, J., & MEDINA, M. (1999). Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. *Food Chemistry*, 66(2), 209-215, 1999.

BOUHAMIDI, R., PRÉVOST, V., & NOUVELOT, A. (1998). High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, 321(1), 31-38, 1998.

BOZAN, B., TOSUN, G., & ÖZCAN, D. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. *Food Chemistry*, 109(2), 426-430, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M., & BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28(1), 25-30, 1995.

BRANNAN, R. G., & MAH, E. Grape seed extract inhibits lipid oxidation in muscle from different species during refrigerated and frozen storage and oxidation catalyzed

by peroxyinitrite and iron/ascorbate in a pyrogallol red model system. *Meat Science*, 77(4), 540-546, 2007.

BRANNAN, R. G. Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. *Journal of Food Science*, 73(1), C36-C40, 2008.

BRAYTON, C. F. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. *The Cornell Veterinarian*, 76(1), 61-90, 1986.

BYUNG, P.Y. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews*, 74, 139-172, 1994.

CAO, G., SOFIC, E., & PRIOR, R. L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749-760, 1997.

CARPENTER, R., O'GRADY, M. N., O'CALLAGHAN, Y. C., O'BRIEN, N. M., & KERRY, J. P. (2007). Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. *Meat Science*, 76(4), 604-610, 2007.

CASTILLO, J., BENAVENTE-GARCIA, O., LORENTE, J., ALCARAZ, M., REDONDO, A., ORTUNO, A., & DEL RIO, J. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (Procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1738-1745, 2000.

CEMEROĞLU, B. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, 1.Cilt. *Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayınları*, 1-236, 2013a.

CEMEROĞLU, B. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, 2.Cilt. *Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayınları*, 479-626, 2004b.

CEMEROĞLU, B. Gıda Analizleri. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, 34, 2010.

CHAN, E.W.C., LIM, Y.Y., WONG, S.K., LIM, K.K., TAN, S.P., LIANTO, F.S., YONG, M.Y., Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, 113, 166-172, 2009.

CHEESEMAN, K., & SLATER, T. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-493, 1993.

CHENG, Z. J., KUO, S. C., CHAN, S. C., KO, F. N., & TENG, C. M. Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1392(2), 291-299, 1998.

CLIFFORD, M. N. Anthocyanins—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1063-107, 2000.

COCHRANE, C. G. Cellular injury by oxidants *Molecular Aspects of Inflammation*, 177-188: Springer, 1991.

COHLY, H. H., TAYLOR, A., ANGEL, M. F., & SALAHUDEEN, A. K. Effect of Turmeric, Turmerin and Curcumin on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> -Induced Renal Epithelial (LLC-PK<sub>1</sub>) Cell Injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(1), 49-54, 1998.

CORRALES, M., HAN, J. H., & TAUSCHER, B. Antimicrobial properties of grape seed extracts and their effectiveness after incorporation into pea starch films. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(2), 425-433, 2009.

CORTINAS, L., BARROETA, A., VILLAVERDE, C., GALOBART, J., GUARDIOLA, F., & BAUCCELLS, M. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poultry Science*, 84(1), 48-55, 2005.

COS, P., CALOMME, M., PIETERS, L., VLIETINCK, A., & VANDEN BERGHE, D. Structure-activity relationship of flavonoids as antioxidant and pro-oxidant compounds. *Studies in Natural Products Chemistry*, 22, 307-341, 2000.

COTELLE, N., BERNIER, J.-L., CATTEAU, J.-P., POMMERY, J., WALLET, J.-C., & GAYDOU, E. M. Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(1), 35-43, 1996.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582, 1999.

ÇAM, M., & ERSUS, S. Dondurularak Kurutulmuş Çilek Meyvesinin Toplam Fenolik Madde içeriğinin ve Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi. *Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum*, 245-248, 2008.

ÇAYLAK, E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83, 2011.

ÇİMEN, M. B. Y. Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 19(5), 296-304, 1999.

DELİBAŞ, N., ÖZCANKAYA R. Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2: 11-17, 1995.

DESMARCHELIER, C.; CICCIA, G.; COUSSIO, J. Recent advances in the search for antioxidant activity in South American plants. *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 22, 343-367, 2000.

DİNÇER, C., & TOPUZ, A. Dondurularak Konsantrasyon İşlemi ve Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları, *Akademik Gıda*, 7(6): 47-51, 2009.

DINIS T.C.P., MADEIRA V.M.C., ALMEIDA L.M. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) assay inhibitors of membrane

lipid peroxidation and assay peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169, 1994.

DIPLOCK, A.T. Antioxidant nutrients and disease prevention: An overview. *Am. J. Chim. Nutr.* 53, 1895-1935, 1991.

DOCHERTY, J. J., FU, M. M., & TSAI, M. Resveratrol selectively inhibits *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(2), 243-244, 2001.

DOYMAZ, I. Air-drying characteristics of tomatoes. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1291-1297, 2007.

EBRAHIMABADI, A. H., EBRAHIMABADI, E. H., DJAFARI-BIDGOLI, Z., KASHI, F. J., MAZOOCHI, A., & BATOOLI, H. Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran. *Food Chemistry*, 119(2), 452-458, 2010.

ELGAYYAR, M., DRAUGHON, F., GOLDEN, D., & MOUNT, J. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*, 64(7), 1019-1024, 2001.

ESCRIBANO-BAILÓN, M. T., GUERRA, M. T., RIVAS-GONZALO, J. C., & SANTOS-BUELGA, C. Proanthocyanidins in skins from different grape varieties. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 200(3), 221-224, 1995.

FADHEL, Z.A. AND AMRAN, S. Effects of black tea extract on carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in liver, kidneys, and testes of rats. *Phytother Res.*, 16, 28-32, 2002.

FAUSTMAN, C., & CASSENS, R. G. The biochemical basis for discoloration in freshmeat: a review. *Journal of Muscle Foods*, 1, 217-243, 1990.

FERGUSON, L. R. Antimutagens as cancer chemopreventive agents in the diet. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 307(1), 395-410, 1994.

FKI, I., ALLOUCHE, N., & SAYADI, S. The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 93(2), 197-204, 2005.

FRANKEL, E. N., WATERHOUSE, A. L., & TEISSEDRE, P. L. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(4), 890-894, 1995.

- FULEKI, T., & RICARDO DA SILVA, J. M. Catechin and procyanidin composition of seeds from grape cultivars grown in Ontario. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1156-1160, 1997.
- FURİGA, A., LONVAUD-FUNEL, A., & BADET, C. In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. *Food Chemistry*, 113(4), 1037-1040, 2009.
- GADANG, V., HETTIARACHCHY, N., JOHNSON, M., & OWENS, C. Evaluation of antibacterial activity of whey protein isolate coating incorporated with nisin, grape seed extract, malic acid, and EDTA on a turkey frankfurter system. *Journal of Food Science*, 73(8), M389-M394, 2008.
- GAO, X., OHLANDER, M., JEPSSON, N., BJORK, L., & TRAJKOVSKI, V. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1485-1490, 2000.
- GIESE, J. Antioxidants: tools for preventing lipid oxidation. *Food Technology*, 11, 73-79, 1996.
- GIROTTI, A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 39(8), 1529-1542, 1998.
- GÖKTÜRK BAYDAR, N., ÖZKAN, G., & YAŞAR, S. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control*, 18(9), 1131-1136, 2007.
- GU, L., KELM, M. A., HAMMERSTONE, J. F., BEECHER, G., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D., & PRIOR, R. L. Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7513-7521, 2003.
- GUENDEZ, R., KALLITHRAKA, S., MAKRIS, D. P., & KEFALAS, P. Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. *Food Chemistry*, 89(1), 1-9, 2005.
- GUO, C., YANG, J., WEI, J., LI, Y., XU, J., & JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719-1726, 2003.
- GÜLÇİN, İ. Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 114, 2002.
- GÜLÇİN, İ., BEYDEMİR, Ş., ŞAT, G., & KÜFREVİOĞLU, Ö. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Alimentaria*, 34(2), 193-202, 2005.



GÜVEN, A., ERGINSOY, S., & KAYA, N. Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 9(2), 131-136, 2003.

HAGERMAN, A. E., RIEDL, K. M., JONES, G. A., SOVIK, K. N., RITCHARD, N. T., HARTZFELD, P. W., & RIECHEL, T. L. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887-1892, 1998.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system *Free Radicals in the Brain*, 21-40: Springer, 1992.

HALLIWELL, B., & GUTTERIDGE, J. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85, 1989.

HEIMLER, D., ISOLANI, L., VIGNOLINI, P., TOMBELLI, S., ROMANI, A. Polyphenol content and antioxidative activity in some species of freshly consumed salads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1724-1729, 2007.

HERTOG, M. G., FESKENS, E. J., KROMHOUT, D., HERTOG, M., HOLLMAN, P., HERTOG, M., & KATAN, M. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, 342(8878), 1007-1011, 1993.

HOLLMAN, P. C. H., & ARTS, I. C. W. Flavonols, flavones and flavanols—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1081-1093, 2000.

HONG, Y. H., LIM, G. O., & SONG, K. Physical properties of Gelidium corneum—gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. *Journal of Food Science*, 74(1), C6-C10, 2009.

HOULIHAN, C. M., HO, C.-T., & CHANG, S. S. The structure of rosmariquinone—A new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(1), 96-98, 1985.

HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. “The chemistry behind antioxidant capacity assays”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856, 2005.

HUDSON, B.J.F. Food antioxidants. *Elsevier Applied Science*, London and New York, 1990.

IKIGAI, H., NAKAE, T., HARA, Y., & SHIMAMURA, T. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1147(1), 132-136, 1993.

IKKEN, Y., MORALES, P., MARTÍNEZ, A., MARÍN, M. L., HAZA, A. I., & CAMBERO, M. I. Antimutagenic effect of fruit and vegetable ethanolic extracts against N-nitrosamines evaluated by the Ames test. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3257-3264, 1999.

IMAHORI, Y., TAKEMURA, M., & BAI, J. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), 54-60, 2008.

IRITI, M., & FAORO, F. Grape phytochemicals: A *bouquet* of old and new nutraceuticals for human health. *Medical Hypotheses*, 67(4), 833-838, 2006.

İŞBİLİR, Ş. S. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2008.

JACOB, J. K., HAKIMUDDIN, F., PALIYATH, G., & FISHER, H. Antioxidant and antiproliferative activity of polyphenols in novel high-polyphenol grape lines. *Food Research International*, 41(4), 419-428, 2008.

JAYAPRAKASHA, G., SELVI, T., & SAKARIAH, K. Antibacterial and antioxidant activities of grape *Vitis vinifera* seed extracts. *Food Research International*, 36(2), 117-122, 2003.

JAYAPRAKASHA, G., SINGH, R., & SAKARIAH, K. Antioxidant activity of grape seed *Vitis vinifera* extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73(3), 285-290, 2001.

JONES, D. P., COATES, R. J., FLAGG, E. W., ELEY, J. W., BLOCK, G., GREENBERG, R. S., JACKSON, B. Glutathione in foods listed in the National Cancer Institute's health habits and history food frequency questionnaire, 1992.

JUVEN, B., KANNER, J., SCHVED, F., & WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of applied bacteriology*, 76(6), 626-631, 1994.

KAPPUS, H. Overview of enzyme systems involved in bio-reduction of drugs and redox cycling. *Biochemical Pharmacology*, 35, 1-6, 1986.

KATALINIC, V., MILOS, M., KULISIC, T., & JUKIC, M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94(4), 550-557, 2006.

KAWANISHI, S., HIRAKU, Y., & OIKAWA, S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 488(1), 65-76, 2001.

KESER, S. Civanperçemi (*Achillea millefolium*) ve böğürtlen (*Rubus discolor*)'in toplam antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve oksidatif stres oluşturulmuş



ratlarda bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2012.

KILINÇ, K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi*, X2: 60-89, 1985.

KIM, S.-Y., JEONG, S.-M., PARK, W.-P., NAM, K., AHN, D., & LEE, S.-C. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chemistry*, 97(3), 472-479, 2006.

KOGA, T., MORO, K., NAKAMORI, K., YAMAKOSHI, J., HOSOYAMA, H., KATAOKA, S., & ARIGA, T. Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 1892-1897, 1999.

KOVAC, V., PEKIC, B. Proantocyanidols from grape and wine. *Contemporary Agriculture*, 39: 5-17, 1991.

KOZLUCA, O. Serbest radikaller ve kanser. *Kartal Eğitim ve Araştırma Klinikleri*, Clit IV: 422-425, 1993.

KULKARNİ, S., DESANTOS, F. A., KATTAMURİ, S., ROSSİ, S. J., & BREWER, M. S. Effect of grape seed extract on oxidative, color and sensory stability of a pre-cooked, frozen, re-heated beef sausage model system. *Meat Science*, 88(1), 139-144, 2011.

LAFKA, T.-I., SINANOGLU, V., & LAZOS, E. S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104(3), 1206-1214, 2007.

LAKO, J., TRENERRY, V. C., WAHLQVIST, M., WATTANAPENPAIBOON, N., SOTHEESWARAN, S., & PREMIER, R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101(4), 1727-1741, 2007.

LAMBERT, J. D., HONG, J., YANG, G.-Y., LIAO, J., & YANG, C. S. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 284S-291S, 2005.

LARSON, A. E., YU, R. R., LEE, O. A., PRICE, S., HAAS, G. J., & JOHNSON, E. A. Antimicrobial activity of hop extracts against *Listeria monocytogenes* in media and in food. *International Journal of Food Microbiology*, 33(2), 195-207, 1996.

LAU, D. W., & KING, A. J. Pre-and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1602-1607, 2003.

LEANDERSON, P., FARESJÖ, Å. O., & TAGESSON, C. Green tea polyphenols inhibit oxidant-induced DNA strand breakage in cultured lung cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(2), 235-242, 1997.

LIN, Y., LABBE, R., & SHETTY, K. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in fish and meat systems by use of oregano and cranberry phytochemical synergies. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9), 5672-5678, 2004.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134(12), 3479S-3485S, 2004.

LIU, T. Z., CHIN, N., KISER, M. D., BIGLER, W. N. Specific Spectrophotometry of Ascorbic Acid in Serum or Plasma by Use of Ascorbate Oxidase. *Clin. Chem.* 28, 2225-2228. *Res.* 63, 265-277, 1982.

LORENZO, J. M., GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, R. M., SÁNCHEZ, M., AMADO, I. R., & FRANCO, D. Effects of natural (grape seed and chestnut extract) and synthetic antioxidants (butylatedhydroxytoluene, BHT) on the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of dry cured sausage "chorizo". *Food Research International*, 54(1), 611-620, 2013.

LÖLIGER, J. The use of antioxidants in food. In *Free Radicals and Food Additives*; Aruoma, O. I., Halliwell, B., Eds.; *Taylor and Francis*: London, 129-150, 1991.

MADHAVI, D.L., SALUNKHE, D.K. Toxicological aspects of food antioxidants, 1995.

MADHAVI, D., KULKARNI, A., NIMBALKAR, S., & JADHAV, S. Lipid Oxidation in Biological and Food Systems in Food Antioxidants, edited by Madhavi, DL; Deshpande, SS; Salunkhe, DK: Marcel Dekker, Inc New York, 1996.

MAÏER, T., SCHIEBER, A., KAMMERER, D. R., & CARLE, R. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 112(3), 551-559, 2009.

MAKRIS, D. P., KALLITHRAKA, S., & KEFALAS, P. (2006). Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5), 396-404, 2006.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727-747, 2008.

MASQUELIER, J. Plant extract with a proanthocyanidins content as therapeutic agent having radical scavenger effect and use there of: *Google Patents*, 1987.

MATSUZAKI, S., SZWEDA, P. A., SZWEDA, L. I., & HUMPHRIES, K. M. Regulated production of free radicals by the mitochondrial electron transport chain:

Cardiac ischemic preconditioning. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(14), 1324-1331, 2009.

MAZZA, G. Anthocyanins in grapes and grapes products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 341-371, 1995.

MAZZA, G., & FRANCIS, F. Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(4), 341-371, 1995.

MEMİŞOĞULLARI, R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-39, 2005

MENLIK, T., KIRMACI, V., & USTA, H. Modeling of freeze drying behaviors of strawberries by using artificial neural network. *Journal of Thermal Science and Technology*, 29(2), 11-21, 2009.

MERCAN, U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg*, 15(1-2), 91-96, 2004.

MIELNIK, M. B., OLSEN, E., VOGT, G., ADELİNE, D., & SKREDE, G. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 191-198, 2006.

MONAGAS, M., BARTOLOME, B., & GOMEZ-CORDOVES, C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(2), 85-118, 2005.

MONAGAS, M., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., BARTOLOMÉ, B., LAUREANO, O., & RICARDO DA SILVA, J. M. Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6475-6481, 2003.

MORI, A., NISHINO, C., ENOKI, N., & TAWATA, S. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 26(8), 2231-2234, 1987.

MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMÍNGUEZ, J. M., SINEIRO, J., DOMÍNGUEZ, H., PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171, 2001.

NAIR, M. P., KANDASWAMI, C., MAHAJAN, S., NAIR, H. N., CHAWDA, R., SHANAHAN, T., & SCHWARTZ, S. A. Grape seed extract proanthocyanidins downregulate HIV-1 entry coreceptors, CCR2b, CCR3 and CCR5 gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biological Research*, 35(3-4), 421-431, 2002.

NAKAMURA, Y., TSUJI, S., & TONOGAI, Y. Analysis of Proanthocyanidins in Grape Seed Extracts, Health Foods and Grape Seed Oils. *Journal of Health Science*, 49(1), 45-54, 2003.

NEGRO, C., TOMMASI, L., & MICELI, A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology*, 87(1), 41-44, 2003.

NEHIR EL, S., KARAKAYA, S., TAŞ, A. A. "Bazı gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin *in vitro* koşullarda saptanması." *TÜBİTAK Projesi* No:TOGTAG-1698, İzmir, 1999.

NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity *in vitro* and *in vivo*. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515, 2010.

O'GRADY, M. N., CARPENTER, R., LYNCH, P. B., O'BRIEN, N. M., & KERRY, J. P. Addition of grape seed extract and bearberry to porcine diets: Influence on quality attributes of raw and cooked pork. *Meat Science*, 78(4), 438-446, 2008.

ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E.Y. (Ed.). İnsan Biyokimyası, *Palme Yayıncılık*, Ankara, 665-74, 2002.

ORAK, H., AKTAS, T., YAGAR, H., ISBILIR, S. S., EKINCI, N., & SAHIN, F. H. Effects of hot air and freeze drying methods on antioxidant activity, colour and some nutritional characteristics of strawberry tree (*Arbutus unedo* L) fruit. *Food Science and Technology International*, 18(4), 391-402, 2012.

OSZMIANSKI, J., & SAPIS, J. C. Fractionation and identification of some low molecular weight grape seed phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(5), 1293-1297, 1989.

OUSSALAH, M., CAILLET, S., SALMIÉRI, S., SAUCIER, L., & LACROIX, M. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(18), 5598-5605, 2004.

OVER, K., HETTIARACHCHY, N., JOHNSON, M., & DAVIS, B. Effect of organic acids and plant extracts on *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella Typhimurium* in broth culture model and chicken meat systems. *Journal of Food Science*, 74(9), M515-M521, 2009.

ÖZALP Ö. B., EREN, M., PALA, A., ÖZMEN, İ., & SOYER, A. Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(4), 724-731, 2011.

PALMA, M., TAYLOR, L. T., VARELA, R. M., CUTLER, S. J., & CUTLER, H. G. Fractional extraction of compounds from grape seeds by supercritical fluid extraction and analysis for antimicrobial and agrochemical activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5044-5048, 1999.

PANIZZI, L., CAPONI, C., CATALANO, S., CIONI, P., & MORELLI, I. In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(2), 165-168, 2002.

PAREJO, I., VILADOMAT, F., BASTIDA, J., ROSAS-ROMERO, A., FLERLAGE, N., BURILLO, J., & CODINA, C. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6882-6890, 2002.

PASTRANA-BONILLA, E., AKOH, C. C., SELLAPPAN, S., & KREWER, G. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5497-5503, 2003.

PAZOS, M., GALLARDO, J.M., TORRES, J.L., MEDINA, I. Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chem.*, 92(3):547-57, 2004.

PENG, Z., HAYASAKA, Y., ILAND, P. G., SEFTON, M., HØJ, P., & WATERS, E. J. Quantitative analysis of polymeric procyanidins (tannins) from grape (*Vitis vinifera*) seeds by reverse phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 26-31, 2001.

PERCIVAL, M. Antioxidants, *Clinical Nutrition Insights*, 96: 1-4, 1998.

PEZZUTO, J. M. Plant-derived anticancer agents. *Biochemical Pharmacology*, 53(2), 121-133, 1997.

PIETTA, P.-G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042, 2000.

PINENT, M., BLAY, M., BLADE, M., SALVADO, M., AROLA, L., & ARDEVOL, A. Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology*, 145(11), 4985-4990, 2004.

POIANA, M.-A. Enhancing oxidative stability of sunflower oil during convective and microwave heating using grape seed extract. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 9240-9259, 2012.

POLAT, T., AKTAŞ, M., & ŞAHİN, H. M. Güneş Enerjisi ve Isı Pompalı Bir Kurutma Sistemi ile Çam Fıstığı Kozalağı Kurutulması. *Gazi Üniversitesi Politeknik Dergisi*, 15(1), 2012.

POURMORAD, F., HOSSEINIMEHR, S., & SHAHABIMAJD, N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 2006.

POWERS, J. J. Action of anthocyanin and related compounds on bacterial cells. *Paper presented at the Proceedings of the International Symposium on Food Microbiology*, 1964.

PRADEDOVA, E., ISHEEVA, O., & SALYAEV, R. Classification of the antioxidant defense system as the ground for reasonable organization of experimental studies of the oxidative stress in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(2), 210-217, 2011.

PRATT, D. E., POWERS, J. J., & SOMAATMADJA, D. Anthocyanins in the influence of strawberry and grape anthocyanins on the growth of certain bacteria. *Journal of Food Science*, 25(1), 26-32, 1960.

PRICE, A., DÍAZ, P., BAÑÓN, S., & GARRIDO, M. D. Natural extracts versus sodium ascorbate to extend the shelf life of meat-based ready-to-eat meals. *Food Science and Technology International*, 19(5), 427-438, 2013.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R., NOHYNEK, L., HARTMANN-SCHMIDLIN, S., KÄHKÖNEN, M., HEINONEN, M., MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K., & OKSMAN-CALDENTEY, K. M. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 991-1000, 2005.

RABABAH, T., HETTIARACHCHY, N., HORAX, R., ESWARANANDAM, S., MAUROMOUSTAKOS, A., DICKSON, J., & NIEBUHR, S. Effect of electron beam irradiation and storage at 5 C on thiobarbituric acid reactive substances and carbonyl contents in chicken breast meat infused with antioxidants and selected plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8236-8241, 2004.

RABABAH, T. M., EREIFEJ, K. I., AL-MAHASNEH, M. A., ISMAEAL, K., HIDAR, A.-G., & YANG, W. Total phenolics, antioxidant activities, and anthocyanins of different grape seed cultivars grown in Jordan. *International Journal of Food Properties*, 11(2), 472-479, 2008.

RABABAH, T.M.; YUCEL, S.; EREIFEJ, K.I.; ALHAMAD, M.N.; AL-MAHASNEH, M.A.; YANG, W.; MUHAMMAD, AL.H.; ISMAEAL, K. Effect of grape seed extracts on the physicochemical and sensory properties of corn chips during storage. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 88, 631-637, 2011.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 311-319, 2001.

RAUHA, J.-P., REMES, S., HEINONEN, M., HOPIA, A., KÄHKÖNEN, M., KUJALA, T., VUORELA, P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56(1), 3-12, 2000.

RAY, S. D., KUMAR, M. A., & BAGCHI, D. A Novel Proanthocyanidin IH636 Grape Seed Extract Increases *in Vivo* Bcl-Xl Expression and Prevents



Acetaminophen-Induced Programmed and Unprogrammed Cell Death in Mouse Liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 369(1), 42-58, 1999.

REDDY, G., SEN, A., NAIR, P. N., REDDY, K. S., REDDY, K. K., & KONDAIAH, N. Effects of grape seed extract on the oxidative and microbial stability of restructured mutton slices. *Meat Science*, 95(2), 288-294, 2013.

RHODES, P., MITCHELL, J., WILSON, M., & MELTON, L. Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. *International Journal of Food Microbiology*, 107(3), 281-286, 2006.

RIBERAU-GAYON, P. The anthocyanins of grapes and wines. 209-244. içinde; Antocyanins as Food Colors. Markasis, P., Eds., *Academic Press*, New York, 1982.

RODRÍGUEZ VAQUERO, M. J., ALBERTO, M. R., & MANCA DE NADRA, M. C. Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18(5), 587-593, 2007.

ROJAS, M. C., & BREWER, M. S. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. *Journal of Food Science*, 72(4), 282-288, 2007.

ROSS, D. Mechanistic toxicology: A radical perspective. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 41, 505-511, 1989.

ROY, S., KHANNA, S., ALESSIO, H. M., VIDER, J., BAGCHI, D., BAGCHI, M., & SEN, C. K. Anti-angiogenic property of edible berries. *Free Radical Research*, 36(9), 1023-1032, 2002.

SADIKOGLU, H., OZDEMIR, M., & SEKER, M. Freeze-drying of pharmaceutical products: Research and development needs. *Drying Technology*, 24(7), 849-861, 2006.

SAITO, M., HOSOYAMA, H., ARIGA, T., KATAOKA, S., & YAMAJI, N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(4), 1460-1464, 1998.

SALAH, N., MILLER, H.J., PAGANGA, G., TIJBURG, L. BOLWELL, P., RICE-EVANS, C. *Arch. Biochem. Biophys.* 322:339, 1995.

SATO, M., RAMARATHNAM, N., SUZUKI, Y., OHKUBO, T., TAKEUCHI, M., & OCHI, H. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 37-41, 1996.

SEN, C. K., & BAGCHI, D. Regulation of inducible adhesion molecule expression in human endothelial cells by grape seed proanthocyanidin extract. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 216(1-2), 1-7, 2001.

SHAFIEE, M., CARBONNEAU, M., URBAN, A., DESCOMPS, N., & LEGER, C. L. Grape and grape seed extract capacities at protecting LDL against oxidation generated by  $\text{Cu}^{+2}$ , AAPH or SIN-1 and at decreasing superoxide THP-1 cell production. A comparison to other extracts or compounds. *Free Radical Research*, 37, 573–584, 2003.

SHAHIDI, F., JANITHA, P., & WANASUNDARA, P. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 32(1), 67-103, 1992.

SHAKER, E. S. Antioxidative effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT-Food Science and Technology*, 39(8), 883-892, 2006.

SHELEF, L. Antimicrobial effects of spices. *Journal of Food Safety*, 6(1), 29-44, 1984.

SHI, J., YU, J., POHORLY, J. E., & KAKUDA, Y. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291-299, 2003.

SHRIKHANDE, A. J. Wine by-products with health benefits. *Food Research International*, 33(6), 469-474, 2000.

SIMONE, CHARLES B. Free Radicals in Cancer and Nutrition, *Simone Health Series New York : Elsevier Science Publishing Company Inc.* 146-149, 1992.

ŞİMŞEK, A., ARTIK, N. Studies of composition of concentrates from different fruit. *Gıda*, 27 (6): 459–467, 2002.

ŞİMŞEK, A., ARTIK, N., BAŞPINAR, E. Detection of raisin concentrate (Pekmez) adulteration by regression analysis method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17:155–163, 2004.

SINGLETARY, K. W., & MELINE, B. Effect of grape seed proanthocyanidins on colon aberrant crypts and breast tumors in a rat dual-organ tumor model. *Nutrition and cancer*, 39(2), 252-258, 2001.

SMIRNOFF, N., & CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060, 1989.

SOARES, J.R., DINS, T.C.P., CUNHA, A.P. AND AMEIDA, L.M. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*, 26, 469-478, 1997.

SOBRATTEE, M. A., NEERGHEEN, V. S., LUXIMON-RAMMA, A., ARUOMA, O. I., & BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 579(1), 200-213, 2005.



SPANOS, G. A., & WROLSTAD, R. E. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9), 1478-1487, 1992.

SPRANGER, I., SUN, B., MATEUS, A. M., FREITAS, V. D., & RICARDO-DASILVA, J. M. Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. *Food Chemistry*, 108(2), 519-532, 2008.

STOCKER, R., & FREI, B. Endogenous antioxidant defences in human blood plasma. Oxidative stress: oxidants and antioxidants, 213-243, 1991.

STOOKEY, L. L. Ferrozine- a new spectrophotometric reagent for iron. *Anal. Chem.* 42, 779-783, 1970.

SURVESWARAN, S., CAI, Y.-Z., CORKE, H., & SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3), 938-953, 2007.

TANGOLAR, S. G., ÖZOGUL, Y., TANGOLAR, S., & TORUN, A. Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(1), 32-39, 2007.

TAUXE, R. V. EMERGING FOODBORNE DISEASES: AN EVOLVING PUBLIC HEALTH CHALLENGE. *Emerging Infectious Diseases*, 3(4), 425, 1997.

TEISSEDE, P. L.; FRANKEL, E. N.; WATERHOUSE, A. L.; PELEG, H.; GERMAN, J. B. Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *J. Sci. Food Agric.* 70, 55-61, 1996.

TELIS, V., & SOBRAL, P. Glass transitions for freeze-dried and air-dried tomato. *Food Research International*, 35(5), 435-443, 2002.

TESAKI, S., TANABE, S., MORIYAMA, M., FUKUSHI, E., KAWABATA, J., & WATANABE, M. Isolation and identification of an antibacterial compound from grape and its application to foods. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan (Japan)*, 1999.

TORRES, J.L., VARELA, B., GARCIA, M.T., CARILLA, J., MATITO, C. & CENTELLES, J.J. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7548-7555, 2002.

ULTEE, A., BENNIK, M., & MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561-1568, 2002.

URQUIAGA, I., & LEIGHTON, F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33(2), 55-64, 2000.

UYSAL, M. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengesi etkileyen kosullar. *Klinik Gelisim*, 11, 336-341, 1998.

UZUN, İ., BAYIR, A. Bazı saraplık üzüm çekirdeği ekstrelerinin toplam fenolik içerikleri ve etkili antiradikallerinin belirlenmesi. *Ulusal Bağcılık-Sarap Sempozyumu ve Sergisi Bildiriler Kitabı, Denizli*, 93-102, 2008.

VINSON, J. A., DABBAGH, Y. A., SERRY, M. M., & JANG, J. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2800-2802, 1995.

WEN, A., DELAQUIS, P., STANICH, K., & TOIVONEN, P. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiology*, 20(3), 305-311, 2003.

WISEMAN, S. A., BALENTINE, D. A., & FREI, B. Antioxidants in tea. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 37(8), 705-718, 1997.

XIA, E.-Q., DENG, G.-F., GUO, Y.-J., & LI, H.-B. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622-646, 2010.

YANG, J., XIAO, Y. Grape Phytochemicals and Associated Health Benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53:11, 1202-1225, 2013.

YAMAGUCHI, F., YOSHIMURA, Y., NAKAZAWA, H., & ARIGA, T. Free radical scavenging activity of grape seed extract and antioxidants by electron spin resonance spectrometry in an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NaOH/DMSO system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(7), 2544-2548, 1999.

YAMAKOSHI, J.; ARIGA, T.; KATAOKA, S.; KOGA, T. Proceedings of The Pharmaceutical Society of Japan 118th Annual Meeting; 1998; No. 2, p 158. içinde; Yamaguchi, F., Yoshimura, Y., Nakazawa, H., Ariga, T. Free Radical Scavenging Activity of Grape Seed Extract and Antioxidants by Electron Spin Resonance Spectrometry in an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NaOH/DMSO System. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2544-2548, 1999.

YAMAKOSHI, J., SAITO, M., KATAOKA, S., & TOKUTAKE, S. Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4983-4988, 2002.

YE, X., KROHN, R., LIU, W., JOSHI, S., KUSZYNSKI, C., MCGINN, T., BAGCHI, D. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 196(1-2), 99-108, 1999.

YEMIS, O., BAKKALBASI, E., & ARTIK, N. ANTIOXIDATIVE ACTIVITIES OF GRAPE (VITIS VINIFERA) SEED EXTRACTS obtained from different varieties grown in Turkey. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(1), 154-159, 2008.

YI, W., FISCHER, J., & AKOH, C. C. Study of anticancer activities of muscadine grape phenolics in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8804-8812, 2005.

YILMAZ, Y., & TOLEDO, R. T. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends in food science & technology*, 15(9), 422-433, 2004.

ZHAO, J., WANG, J., CHEN, Y., & AGARWAL, R. Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation–promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*, 20(9), 1737-1745, 1999.

## ÖZGEÇMİŞ

Ayşe Sarıçam, 09.04.1990'da İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İstanbul'da tamamladı. 2008 yılında Haydarpaşa Lisesi'nden mezun oldu. 2008 yılında başladığı Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nü 2012 yılında bitirdi. 2012 yılında Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. 2013 yılında Sakarya Üniversitesi'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı akabinde yüksek lisans eğitimine Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde devam etti. Halen Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.