




Taze ve Kurutulmuş Yaban Mersini (*Vaccinium myrtillus*) Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Probiyotik ve Patojen Bakteriler Üzerine Etkileri

Ali Değirmencioğlu¹ , Nurcan Değirmencioğlu²  

¹Balıkesir Üniversitesi, Susurluk Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Balıkesir

²Bandırma Onyedü Eylül Üniversitesi, Bandırma Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Balıkesir

Geliş Tarihi (Received): 07.09.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 24.10.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): nurcan.degirmencioğlu@gmail.com (N. Değirmencioğlu)

☎ 0 266 714 93 02 📠 0 266 714 93 04

ÖZ

Üzümsü meyveler arasında önemli bir yere sahip olan yaban mersini (*Vaccinium myrtillus*), antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antienflamatuar, antiseptik vb. özellikleri bilinen pek çok fenolik bileşik açısından zengin bir kaynaktır. Son yıllarda patojen bakterilere karşı antimikrobiyal etkiye sahip bitkisel kaynaklar üzerindeki araştırmalar hız kazanmış olup, bu çalışmada Türkiye'nin Erdek ve Kapıdağ yörelerinden 3 farklı lokasyonda doğal olarak yetişen taze ve kurutulmuş *yaban mersini* meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar ile fenolik standartların bazı bakteri türlerine karşı etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ekstraktların ve standart fenolik bileşiklerin; gıda sanayiinde önem taşıyan *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* spp. *aureus* (ATCC 29213), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Listeria monocytogenes* serotype 1/2b, *Salmonella* Typhimurium, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NRRL B 548, *Lactobacillus casei* NRRL B 1922 ve *Lactobacillus acidophilus* NRRL B 4495 karşı etkileri, disk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktları doza ve fenolik bileşen içeriğine bağlı olarak patojen ve probiyotik bakteriler üzerinde farklı etkiler göstermiştir. Bakterilere karşı (*L. acidophilus* NRRL B 4495 hariç), kurutulmuş yaprak ekstraktları pozitif kontrol (24-26 mm) ile karşılaştırıldığında en etkili ekstrakt (20-25 mm), şiringik asit (16-26 mm), *trans* ferulik asit (14-26 mm) ve naringin (14-26 mm) en etkili; kafeik asit (16-18), resveratrol (16-19 mm) ve (+)-kateşin (16-18 mm) en az etkili fenolik bileşik olmuştur. Standart fenolik bileşiklere en dayanıklı patojenler sırasıyla *S. Enteritidis* (ATCC 13076), *L. monocytogenes* serotype 1/2b ve *S. Typhimurium*'dur. Şiringik asit, hesperidin, 3-hidroksi-4-metoksi sinnamik asit ve rutin hidratin ise probiyotikler üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, yaban mersini ekstraktlarının patojenlere ve LAB'ne (*L. acidophilus* hariç) karşı etkili olabileceği ve doğal koruyucu olarak geliştirilme potansiyelinin bulunduğu, fenolik bileşiklerin ise farklı etkiler gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel aktivite, Disk difüzyon, Yaban mersini, Ekstrakt, Fenolik bileşik

Effect of Fresh and Dried Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) Fruit and Leaf Extracts on Probiotics and Pathogens

ABSTRACT

Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) has a significant place among berry fruits, and is a rich source of phenolic compounds with antioxidant, antimicrobial, anti-diabetic and anti-inflammatory properties. Recently, studies on plant-derived antimicrobial agents against pathogens have increased. In this study, the antibacterial activity of fresh and dried blueberry fruit and leaf extracts grown in three different locations of Erdek and Kapıdağ, Turkey and phenolic standards were determined. The extracts and phenolic standards were tested against *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* spp. *aureus* (ATCC 29213), *Enterobacter aerogenes*

(ATCC 13048), *Listeria monocytogenes* serotype 1/2b, *Salmonella* Typhimurium, *Lactobacillus delbrueckii* NRRL B 548, *Lactobacillus casei* NRRL B 1922, and *Lactobacillus acidophilus* NRRL B 4495 by the disc diffusion method. Fresh and dried blueberry fruit and leaf extracts exhibited phenolic composition with a dose-dependent inhibitory effect against the growth of pathogens and probiotics. The dried leaf extracts were the most effective (20-25 mm) against all bacteria (except *L. acidophilus* NRRL B 4495) in comparison to positive control (24-26 mm) while syringic acid (16-26 mm), *trans* ferulic acid (14-26 mm), and naringin (14-26 mm) were the most effective and caffeic acid (16-18 mm), resveratrol (16-19 mm) and (+)-catechin (16-18 mm) were the least effective phenolics on all pathogens. *S. Enteritidis* (ATCC 13076) was the most resistant to phenolics, followed by *L. monocytogenes* serotype 1/2b and *S. Typhimurium*. Syringic acid, hesperidin, 3-hydroxyl-4-methoxy-cinnamic acid, and rutin hydrate were the effective phenolics on LAB. Results indicated that blueberry extracts are effective against pathogens and LABs (except *L. acidophilus*), and they may have an important potential as a natural preservative while phenolic standards may exhibit variations in their effects.

Keywords: Antibacterial activity, Disc diffusion, Blueberry, Extract, Phenolics

GİRİŞ

Bitki, hayvan ve bakteri hücreleri tarafından sentezlenen doğal antimikrobiyal bileşikler, izole edildikleri kaynaklara göre 6 grupta sınıflandırılmaktadır. Fito-antimikrobiyaller grubuna dahil olan fenolik bileşikler de bitkisel kaynaklı gıdalarda geniş dağılım göstermektedir [1]. İnsan sağlığı üzerinde pek çok olumlu etkisi (antioksidan, antihipertansif, antidiyabetik, antiobesite, antienflamatuar, antiseptik, antimikrobiyal vb.) bulunan fenolik bileşiklerin absorpsiyonu ve biyoyararlılığı ince bağırsaklardaki metabolik reaksiyonlara bağlı olarak değişmekte, mide ve ince bağırsaklarda absorbe edilmeyen bu bileşikler kolon mikrobiyotası tarafından parçalanabilmektedir [2-11].

Dünya genelinde doğal ve kültüre alınmış biçimde yetişen ve yetiştiriciliği yapılan, *Ericaceae* familyasının *Vaccinium* cinsine dahil *Vac.myrtillus* (*yaban mersini*) meyve ve yapraklarının yüksek düzeyde fenolik bileşik içeriğine sahip olduğunu belirtir pek çok çalışma bulunmaktadır [1-3, 12-20]. *Yaban mersini* meyve ve yaprakları, fenolik bileşen, özellikle fenolik asitler, antosiyaninler, içerikleriyle huzursuz barsak sendromu, idrar yolu enfeksiyonları, kardiyovasküler hastalıklar, Alzheimer ve kanser gibi pek çok hastalıkta olumlu etki göstermektedir. Fenolik asitler, flavonoidler, özellikle de antosiyanin ve proantosiyanidinlerin, patojenlerin barsak epitelyum dokularının yüzeyine tutunmalarını engelleyecek antimikrobiyal etkiye sahip oldukları bildirilmektedir [20-24].

Gıda kaynaklı enfeksiyonlarda, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes*, enterohemorajik *E. coli* O157:H7 gibi patojenler ilk sıralarda yer almakta ve dünya genelinde ölümcül sonuçlara sebep olabilmektedir. Buna karşın, fermente gıdaların üretiminde kullanılan probiyotikler, özellikle de laktik asit bakterileri (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* vb.) sağlık üzerindeki yararlı etkilerinin yanısıra, barsak sağlığını iyileştirici (akut ishal, yangısal barsak hastalıklarında) ve antibiyotik uygulamalarına alternatif olmaları sebebiyle dikkat çekmektedirler [23, 25].

Vaccinium cinsine dahil bitkilerdeki fenolik bileşiklerin patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri; bitkinin çeşidine, yetiştirildiği bölge, toprak koşulları ve mevsime, olgunluk derecesine, hasat

sonrası depolama koşullarına, mikroorganizmanın türüne, fenolik bileşiklerin yapısına, ekstraksiyonda kullanılan çözücü, çözücünün polaritesi ve ekstraksiyon yöntemine, uygulanan doza bağlı olarak değişiklik göstermekte, aynı bileşikler laktik asit bakterileri üzerinde ise stimüle edici rol oynamaktadırlar [3, 13-14, 17, 22, 26-28].

Bu çalışmada, taze ve kurutulmuş *yaban mersini* meyve ve yapraklarından elde edilen fenolik bileşen ekstraktlarının ve standart fenolik bileşiklerin patojen (*S. Enteritidis* (ATCC 13076), *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 29213), *E. aerogenes* (ATCC 13048), *L. monocytogenes* serotype 1/2b, *S. Typhimurium*) ve probiyotik (*L. delbrueckii* NRRL B 548, *L. casei* NRRL B 1922 ve *L. acidophilus* NRRL B 4495) bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Marmara Bölgesi'nin Kapıdağ (470 m yükseklik) ve Erdek (deniz seviyesi) yörelerinden 3 farklı bölgeden toplanan *yaban mersini* meyve ve yaprakları, hasarlı kısımlarından ve yabancı maddelerinden temizlendikten sonra 2 kısma ayrılmıştır. İlk kısım 50°C'de 2 saat süreyle sıcak hava üfleyen bir kurutma dolabında kurutularak vakum ambalajlama ile poliamid-polietilen poşet film ($PO_2 = 15 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ h}$ at 23°C and 75% relative humidity; Flexopack S.A. Plastics Industry, Koropi, Yunanistan) kullanılarak paketlenmiş (VC 999/K12NA packing machine, Verpackungs systeme AG, Herisau, İsviçre), 2.kısım meyve ve yaprak örnekleri ise taze olarak aynı ambalaj malzemesiyle pakettendikten sonra, her iki grup analiz edilinceye kadar - 20±2°C'de muhafaza edilmiştir.

Meyve ve yaprak fenolik ekstraktlarının hazırlanmasında, Ehlenfeldt ve Prior [2] tarafından önerilen yöntem, içeriğinde değişiklik yapılarak uygulanmıştır. Taze ve kurutulmuş *yaban mersini* meyve ve yaprak örneklerinde (2 g); meyve fenolik ekstraktları için metanol (Merck 10609, 20 mL, 2 kez), yaprak fenolik ekstraktları için ise, yağ içeriklerinden dolayı sırasıyla aseton (≥%99.9, Merck 100012, 20 mL, 2 kez) ve metanol (≥%99.9, Merck 10609, 20 mL, 2 kez) kullanılmış, ekstraksiyon 20°C'de 15 dakika süreyle 90 W ve 53 kHz'lik ultrasonik banyo (Kudos SK2200 HP) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar,

4°C'de 1372xg kuvvetinde 10 dakika santrifüjlendikten sonra (Sigma 3K30, İngiltere), sıvı kısımlar ayrılarak vakum altında döner buharlaştırıcıda (40°C, Heidolph Laborota 4001, Almanya) çözücülerini uzaklaştırılarak 5 mL'ye konsantre edilmiştir. Ekstrakt hacmi 10 mL olacak şekilde metanol ile seyreltilen ekstraktlar, 0.2 µm (Minisart 16534, Sartorius Biotech GmbH 37070 Goettingen, Almanya) filtreden geçirilerek kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Antibakteriyel etkinin belirlenmesinde kullanılacak fenolik bileşikler 100 mg/mL konsantrasyonda (stok çözelti) hazırlanmış, 0.2 µm filtreden geçirilerek sterilize edilmiş, 50 ve 10 mg/mL düzeyindeki konsantrasyonlar ise, stok çözeltiden seyreltilerek elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan fenolik bileşikler analitik saflıkta olup Fluka (St. Louis, MO, ABD; (gallik asit (91215), resveratrol (34092), (+)-kateşin (43412), (-)-epikateşin (68097)), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD; kuersetin (Q4951)), Sigma (St. Louis, MO, ABD; kafeik asit (C0625), şiringik asit (S6881), *p*-kumarik asit (C9008), naringin (N1376), hesperidin (H5254), rutin hidrat (R5143)), Aldrich (St. Louis, MO, ABD; vanillik asit (H36001), *trans* ferulik asit (128708), 3-hidroksi-4-metoksisinamik asit (10312)), ve HWI Analytik GmbH (Ruelzheim, Almanya) (klorojenik asit (0050-05-09)) firmalarından temin edilmiştir.

Ekstraktların ve fenolik standartların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi [29] uygulanmış, çalışmada kullanılan mikroorganizmalara ait bilgiler ve gelişme koşulları Tablo 1'de belirtilmiştir.

Patojenlere ve laktik asit bakterilerine ait 18-24 saatlik (10^7 - 10^8 kob/mL) kültürlerinden 100 µL alınarak sırasıyla TS ve MRS agar besiyerine yüzey sürme yöntemiyle ekim yapılmış ve 4°C'de 2 saat süreyle bekletilerek kültürlerin besiyerine difüzyonu sağlanmıştır. Süre sonunda 6 mm çapındaki kağıt diskler (Oxoid CT0998B) besiyeri yüzeyine yerleştirilerek meyve ve yaprak ekstraktları ile standart fenolik bileşikler 20 µL olacak şekilde kağıt disklerle emdirilmiştir. Pozitif kontrol olarak 20 µL kloramfenikol (0.1 g/L, Oxoid SR0078E), 20 µL metanol ise kağıt disklerle emdirilmiş ve buharlaştırıldıktan sonra negatif kontrol olarak kullanılmıştır. İnkübasyon sonrasında petrilerdeki zon çapları ölçülerek (-: *inhibe edici etki yok*) test edilen mikroorganizmalar üzerine taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktlarının antibakteriyel etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada yapılan analizler üç kez tekrarlanmış ve sonuçlar bu üç değer in ortalaması olarak verilmiştir.

İstatistik Analiz

Analizler sonucunda elde edilen veriler iki yönlü varyans analizi (ANOVA) testiyle SPSS paket programı kullanılarak (SPSS 16.0, Chicago, IL, ABD) değerlendirilmiştir. Elde edilen ortalama değerler arasındaki istatistikî farklılıkların belirlenmesinde $p < 0.05$ olasılık düzeyinde LSD (Least Significant Difference) testi kullanılmıştır.

Tablo 1. Antimikrobiyal aktivite belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar ve gelişme koşulları

Mikroorganizma adı	Kısaltma	Temin edildiği yer	Kullanılan besiyeri ve Gelişme koşulları
<i>S. Enteritidis</i> (ATCC 13076)	SE	Uludağ Üniversitesi Tıp	Tryptic Soy Broth (TSB)/ Tryptic Soy Agar (TSA), (Oxoid CM0129)/ (Oxoid CM0131) 37°C'de 24 saat
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	EC	Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim	
<i>S. aureus</i> (ATCC 29213)	SA	Dalı	
<i>E. aerogenes</i> (ATCC 13048)	EA		
<i>L. monocytogenes</i> serotype1/2b	LSM	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji	de Man Rogosa Sharp Broth/ De man Rogosa Sharp Agar (Merck 1.10661)/(Merck 1.10660) 37°C' de 2 gün
<i>S. Typhimurium</i>	SET	Anabilim Dalı	
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> NRRL B 548	LD	Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı'nın Tarımsal Araştırma Servisi Kültür Koleksiyonu (USDA's Agricultural Research Services Culture Collection)	
<i>L. casei</i> NRRL B 1922	LC		
<i>L. acidophilus</i> NRRL B 4495	LA		

BULGULAR VE TARTIŞMA

Taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktlarının antibakteriyel etkilerine dair inhibisyon sonuçları Tablo 2'de bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre, Erdek yöresinden toplanan taze ve kurutulmuş meyve ekstraktlarına en dirençli mikroorganizmaların *Salmonella* cinsine ait olduğu, meyvelerin taze ya da kurutulmuş olmasının ve lokasyon farklılığının mikroorganizmalar üzerinde farklı inhibisyon etkisi yaratmadığı ($p > 0.05$) belirlenmiştir. Antibakteriyel etkisi en fazla olan ekstraktın, lokasyon etkisi olmaksızın kurutulmuş yaban mersini yapraklarından elde edildiği ve Gram (+) ve Gram (-) patojen bakteriler üzerinde inhibisyon sağladığı, meyve ve yaprak ekstraktlarına en

duyarlı patojen bakterilerin ise, *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes* olduğu tespit edilmiştir. Kurutma işleminin, taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprakların antibakteriyel etkisi üzerinde istatistikî olarak farklılığa yol açmadığı ($p > 0.05$), örneklerin toplandığı bölgelerin farklı lokalizasyonda yer almalarının da sonucu etkilemediği saptanmıştır. Literatürde, üzüm meyvelerinden farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların fenolik içeriklerinin *Salmonella* hücreleri üzerinde inhibe edici etkilerinin olduğunu gösteren sonuçlara [3, 13] rastlanılmış olup; Shen ve ark. [30] tarafından yapılan bir çalışmada, Elliott (*Vac. elliotii*), Darrow (*Vac. darrowii*), Duke (*Vac. duke*) ve Bluecrop (*Vac. bluecrop*) çeşitlerinin meyvelerinden elde edilen etanol ekstraktlarının *L. monocytogenes* ve *S. Enteritidis*

üzerinde doza bağlı olarak inhibitör etkiye sahip olduğu, *L.monocytogenes*'in ekstraktlara karşı daha fazla hassasiyet gösterdiği, ekstraktlardaki klorojenik asit, kuersetin, elajik asit ve kuersetin-3-galaktosidin aktif antimikrobiyal etkili bileşikler olduğu belirtilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada, yaban mersininden elde edilen %100 etanol ekstraktının *L. monocytogenes* ve *S. Enteritidis* üzerindeki etkili dozunun 24 ppm olduğu [6], %100 yaban mersini suyunun ise *S. Typhimurium* ve *L.*

monocytogenes üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir [14]. Bögürtlen, ahududu ve çilek meyveler üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise sıvı ve katı besiyerine ilave edilen 1 mg/mL dozdaki meyve sularının 24 saatte *S. Typhimurium* üzerinde inhibe edici etki gösterdiği [3], tam yağlı ve yağsız süte ilave edilen bögürtlen suyunun (%10, v/v) ise *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* seviyelerinde 2-4 log kob/mL düzeylerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir [25].

Tablo 2. Disk difüzyon testinde taze ve kurutulmuş meyve ve yaprak ekstraktlarının patojenler ve probiyotikler üzerinde oluşturduğu inhibisyon etkisi

Ekstrakt	Gram (-)				Gram (+)		Laktik asit bakterileri		
	SE	SET	EC	EA	LSM	SA	LD	LC	LA
ETM (mm)	-	-	22±0.25 ^{Aak}	23±0.40 ^{Aabk}	22±0.29 ^{Ab1}	22±0.12 ^{Aak}	19±0.14 ^{Aak}	18±0.44 ^{Abk}	-
EKM (mm)	20±0.23 ^{Aak}	-	22±0.12 ^{Aam}	22±0.20 ^{Ab1}	23±0.14 ^{Abm}	23±0.27 ^{Aak}	-	-	-
KTM (mm)	-	-	-	24±0.17 ^{Kak}	25±0.48 ^{Kak}	-	18±0.15 ^{Kbk}	19±0.18 ^{Kak}	-
KKM (mm)	-	19±0.446 ^{Aak}	-	23±0.38 ^{Kabl}	24±0.52 ^{Kam}	-	18±0.27 ^{Kbm}	-	-
ETY (mm)	22±0.34 ^{Ebk}	24±0.13 ^{Aak}	-	23±0.44 ^{Ack}	2418±0.16 ^{Abk}	24±0.23 ^{Abk}	-	18±0.54 ^{Abk}	-
EKY (mm)	24±0.61 ^{Aam}	24±0.29 ^{Aam}	23±0.63 ^{Abn}	24±0.17 ^{Abm}	23±0.50 ^{Acn}	24±0.32 ^{Abn}	20±0.44 ^{Aam}	-	-
KTY (mm)	23±0.39 ^{Kbk}	23±0.27 ^{Kbk}	-	24±0.14 ^{Kbk}	25±0.46 ^{Kak}	-	-	19±0.23 ^{Kak}	-
KKY (mm)	24±0.18 ^{Kam}	24±0.19 ^{Kam}	25±0.42 ^{Kam}	25±0.21 ^{Kam}	25±0.30 ^{Kam}	25±0.15 ^{Kam}	20±0.23 ^{Kam}	20±0.12 ^{Kam}	-
Pozitif kontrol (mm) ¹	25±0.23	26±0.61	26±0.23	26±0.18	26±0.34	26±0.32	24±0.23	24±0.19	25±0.50
Negatif kontrol (mm) ²	12±0.49	12±0.63	13±0.41	13±0.55	12±0.55	12±0.26	12±0.29	12±0.35	14±0.52

E: Erdek, K: Kapıdağ, T: Taze, K: Kurutulmuş, M: Meyve, Y: Yaprak, ¹ Kloramfenikol, ² Metanol, -: *inhibe edici etki yok*; SE: *S. Enteritidis* (ATCC 13076); SET: *S. Typhimurium*; EC: *E. coli* (ATCC 25922); EA: *E. aerogenes* (ATCC 13048); LSM: *L. monocytogenes* serotype1/2b; SA: *S. aureus* (ATCC 29213); LD: *L. delbrueckii* NRRL B 548; LC: *L. casei* NRRL B 1922; LA: *L. acidophilus* NRRL B 4495, Değerler; ortalama ± standart sapma (tabloda verilen zon çapları kağıt disk çapını içermektedir), A-B, K-L: Aynı sütundaki farklı büyük harfler taze veya kurutulmuş olmasına göre meyve ve yaprak ekstraktları arasındaki farklılıkları (p<0.05), a-c: Aynı sütundaki farklı harfler meyve ve yaprak ekstraktları arasındaki farklılıkları (p<0.05), k-l, m-n: Aynı sütundaki farklı harfler lokalizasyon farklılığına göre meyve ve yaprak ekstraktları arasındaki farklılıkları (p<0.05) ifade etmektedir.

Gr (-) bakteriler, fenolik bileşiklerin toksik etkisinden kendilerini koruyabilmek için efflux pompa sistemine sahip iken, Gr (+) bakteriler kalın peptidoglikan hücre duvarları sayesinde kendilerini çevre koşullarına karşı koruyabilmektedir [31]. Ayrıca Gr (-) bakterilerin hücre duvarının dış katmanlarındaki lipopolisakaritler immunomodilatör bileşikler olup, yağ asidi profilinde görülün değişikliklerin bakteri metabolizmasında bozulmalara neden olabileceği ve *L. monocytogenes*'in fenolik bileşiklere karşı olan hassasiyetini arttırabileceği ifade edilmektedir [32]. Nohynek ve ark. [13] yaptıkları çalışmalarında, farklı üzümü meyvelere ait aseton:su (70:30, v/v) ekstraktlarının patojenler üzerindeki antibakteriyel etkilerini incelemişler ve ekstraktların gallik asit içeriklerine bağlı olarak *Salmonella* türleri üzerinde hücre zarı geçirgenliğinde artışa sebep olduklarını ve antibakteriyel etki gösterdiklerini, 12 ay depolama sonrası ekstraktlardaki antibakteriyel etkinin azaldığını belirlemişlerdir. *Vac. macrocarpon* üzerinde yapılan çalışmalarda *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 gibi patojenler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği [33, 34]; *Vac. oxycoccus* L. meyvelerine ait metanol ekstraktlarının *S. aureus* üzerinde orta düzeyde, *E. coli* üzerinde ise belirgin düzeyde inhibe edici etkiye sahip olduğu [35]; aynı bitkinin Avrupa'da yetişen türlerine ait etanol ekstraktlarının ise *E. coli*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* üzerinde benzer etki gösterdiği belirlenmiştir [36]. Kyli ve ark. [37] ise polimerik proantosiyanidin fraksiyonuna sahip *Vac. vitis-idaea* ve *Vac. microcarpon*'un *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etki gösterirken, *S. Typhimurium*, *L. rhamnosus* ve *E. coli* üzerinde etkisinin olmadığını ifade etmişlerdir. *Vac. arctostaphylos* yaprak ve meyvelerinin su ekstraktlarının *S. Typhimurium* üzerinde metanol ekstraktlarına göre daha yüksek antimikrobiyal

etki gösterdiği belirlenmiştir [38]. Kryvtsova ve ark. [39] ise *Vac. vitis-idaea* türünün meyve ve yapraklarına ait etanol ve metanol ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. coli* ATCC 25922 üzerindeki antimikrobiyal etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, meyve etanol ekstraktları ile yaprak metanol ekstraktlarının yüksek antimikrobiyal etki (*S. aureus*) gösterdiği, fırsatçı mikroorganizmalara karşı antagonistik etki gösteren probiyotik türler (*L. plantarum*) üzerinde aynı etkiye sahip olmadığını tespit etmişlerdir. *Vac. myrtilus* L.'e ait yaprak ve meyve metanol ekstraktlarının *S. aureus* ve *E. coli* ATCC 9863 üzerindeki antimikrobiyal etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada ise *S. aureus*'un en hassas mikroorganizma olduğu belirlenmiştir [6]. Üzümü meyvelerden elde edilen fenolik ekstraktların; molekül yapılarının küçük olmasından dolayı hücre zarından kolaylıkla geçip hücre içinde çözünerek antimikrobiyal etki gösterdikleri, bu etkinin mikroorganizmaların Gr (+) veya Gr (-) olmalarına bağlı olarak farklı sonuçlar gösterdiği, ekstraktın bitkinin hangi kısmından elde edildiğine, bitkinin yetiştirilme koşulları, toplanma zamanı ve lokasyonu, kurutma koşulları, ekstraksiyonda kullanılan çözücünün çeşidi, polaritesi, konsantrasyon, ekstraksiyon koşullarıyla bitkinin fenolik madde miktarına bağlı olduğu ifade edilmektedir [3-4, 30-41].

Laktik asit bakterileri arasında ise, taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktlara en dirençli mikroorganizmanın *L. acidophilus* NRRL B 4495 olduğu belirlenmiştir. Yaban mersini yaprak ekstraktlarının gösterdiği antioksidan ve antibakteriyel etkilerin yüksek fenolik içerikleriyle ilişkili olduğu, bitkinin asidik ve yetersiz besin elementi içeren toprak şartlarında UV ışınlarından,

parazitlerden ve serbest radikallerden kendisini koruyabilmek için fenolik bileşikler sentezlediği, bu bileşiklerin patojenleri gelişimini engellerken probiyotik türler (*L. rhamnosus*) üzerinde de koruyucu etki gösterebildiği ifade edilmektedir [22]. Değirmencioğlu ve ark [42] tarafından yapılan bir çalışmada, taze ve kurutulmuş yaban mersini yaprak ekstraktlarının, meyvelerden elde edilenlerle karşılaştırıldığında daha yüksek oranda toplam fenol içeriğine sahip olduğu belirlenmiş, bu sonuç farklı üzümü meyve ve yaprakları üzerinde yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla da doğrulanmıştır [2, 10, 43-44]. Bu çalışmada test edilen *L. casei* NRRL B 1922 ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* NRRL B 548 bakterilerinin, bitkinin meyve ve yaprak kısımlarının kurutulması sırasında ve toplandığı lokasyona bağlı olarak fenolik bileşen kompozisyonunda ortaya çıkan değişimlere göre, farklı direnç ve hassasiyet gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca, meyve ekstraktlarının daha yüksek oranda antosiyanin bileşikler içermesi, yaprakların ise fenolik asitler ve kateşinler açısından zengin olması [42] ve fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etki mekanizmalarındaki farklılıklar, okside olmuş bileşiklerle enzimlerin inhibisyonu, sülfidril gruplarıyla reaksiyonlar, proteinlerle gerçekleştirdikleri spesifik olmayan interaksyonlar ve ortam pH'sındaki değişimler, elde edilen sonuçları anlamlı kılmaktadır [20, 45].

Bakteri hücrelerinde yağ asitlerini barındıran sitoplazmik membran, inhibisyon etkisinin görüldüğü ilk etkileşim noktasıdır. Gr (-) bakterilerin dış membranları yağ asidi bariyeri olarak davranırken, Gr (+) bakterilerde dış membran, iç membrana doğru yağ asitlerinin geçişine izin vermektedir [46, 47]. Bakteri hücre zarının seçici geçirgen özellikte ve hasar görmemiş olması, mikroorganizmaları antibakteriyel etkiden korumaktadır. Flavonollar, sitoplazmik membran fonksiyonlarını veya enerji metabolizmasını inhibe ederek etkili olurken [48], kateşinler ise, yüzey proteinleriyle etkileşime girerek ve/veya H₂O₂ oluşturarak bakteri hücrelerine oksidatif strese sokmakta [49], antosiyaninler ise, hücre zarına zarar verdiğinden protein ve nükleik asit kaybına neden olmakta, adenosin trifosfataz (ATPaz), süper oksit dismutaz (SOD) gibi enzimlerin daha düşük aktivite göstermesine neden olarak patojenlerin gelişmesini engellemektedir [23, 25, 28, 50].

Yapılan çalışmada, yaban mersini meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktların ve standart fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi ve pozitif kontrol olarak da *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *E. coli* gibi mikroorganizmalar üzerinde etki gösteren geniş spektrumlu antibiyotik, kloramfenikol kullanılmıştır. Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Birliği (EUROCAST) tarafından yayınlanan disk difüzyon yöntemi kılavuzunda 30 µg'lık dozlarda önerilen kloramfenikol, *E. coli* (ATCC 25922) ve *S. aureus* ssp. *aureus*'a (ATCC 29213) karşı 24 mm'lik hedef zon çapı oluşturmaktadır [51]. Araştırmada pozitif kontrol dozu (20 µL, 0.1 g/L) uygulanmış, patojenler 18-20 mm zon çapı ile hassasiyet göstermiştir. Fenolik bileşiklerin antibakteriyel etkilerinin belirlenmesine yönelik bu çalışmada; tüm patojenlerin *kafeik asit*,

resveratrol ve (+)-*kateşine* karşı direnç gösterdiği (Tablo 3); *şiringik asit*, *trans ferulik asit* ve *naringin*'in ise tüm patojenler üzerinde inhibe edici etkiye (100 mg/mL) sahip olduğu belirlenmiştir. Patojen mikroorganizmalar arasında, fenolik bileşiklere en yüksek direnci gösteren patojenin *S. Enteritidis*, en hassas patojenin ise *E. aerogenes* olduğu tespit edilmiştir. Laktik asit bakterileri arasında ise, en hassas mikroorganizmaların; *L. casei* ve *L. acidophilus* (10 ve 50 mg/mL), tüm laktik asit bakterileri için en düşük dozda (10 mg/mL) inhibe edici etki gösteren fenolik bileşiklerin ise *şiringik asit*, *3-hidroksi-4-metoksisinnamik asit*, *hesperidin* ve *rutin hidrat*, tüm dozlarda etkili olan fenolik bileşiklerin ise, *şiringik asit*, *hesperidin* ve *rutin hidrat* olduğu saptanmıştır. Fenolik toksiteye sahip hidroksil grupları içeren fenolik bileşikler, bu grupları sayesinde mikroorganizma hücrelerinde enzimatik aktiviteyi inhibe etmekte, özellikle gallik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitler *L. monocytogenes*'in metabolik prolin inhibitörü olarak rol oynamaktadır [30]. Ancak bu çalışmada, saf fenolik bileşiklerin gösteremediği etkiyi, meyve ve yaprak ekstraktlarının hazırlanmasında çözücü olarak kullanılan metanol, suda sınırlı ölçüde çözünmesinin de verdiği etkiyle Gr (-) bakterilerin hidrofilik dış membranlarında hasara yol açıp hücre fonksiyonlarını bozarak, hücre bileşenlerinde kayba neden olup hücreyi öldürerek [52] göstermiştir.

Fenolik bileşikler, hücrenin dinamik dengesini etkileyen ve K⁺ kanalları aracılığıyla özellikle K⁺ iyonlarının hücre dışına difüzyonunu arttıran hiperpolarizasyona neden olmakta, hücre zarındaki taşıyıcı moleküllerin (Na/H) değişimini gerçekleştirerek bakterilerin düşük ozmotik basınca toleranslarını azaltmakta, lipofilik karakterde ve fenolik hidroksil gruplarına sahip *şiringik asit* gibi fenolik bileşikler, hücrenin membran yapısı, geçirgenliği ve fonksiyonlarına zarar vererek hücre bileşenlerinin (protein, nükleik asit, potasyum veya fosfat gibi inorganik iyonlar) sitoplazmik membran yoluyla difüzyonuna neden olmakta, mikroorganizmaların barsak epitel dokularına tutunmasını engellemekte, protein yapısındaki intraselüler moleküllerin kaybına sebep olarak hücre geçirgenliğini değiştirmekte, mikrobiyal enzimleri inhibe edebilmektedirler. Hidroksil grupları içeren fenolik bileşiklerin (düşük pH'da) hidrojen bağları ve yarattıkları hidrofobik etki ile bazı membran özelliklerinde (hücre içi- ve hücre dışı geçirgenliği, yük vb.) geri dönüşümsüz değişiklikler oluşturması, negatif yüzey yükünde azalmaya, hücre membranlarında por oluşumuna veya lokal kopmalara sebep olarak antimikrobiyal etkiyi güçlendirmektedir [3, 6, 13-14, 22, 31, 52-57].

Vaccinium bitkilerinin laktik asit bakterileri üzerindeki etkisini belirlemeye yönelik yapılan çalışmaların sonuçlarında; fenolik bileşiklerin probiyotik bakteriler üzerinde inhibe veya stimüle edici etki gösterdiği ve bu etkinin sitoplazma membranının ve hücre duvarının yapısından, ayrıca hafif asidik şartlarda probiyotiklerin fenolik bileşikleri besin maddesi olarak değerlendirmesinden de kaynaklandığı ifade edilmiştir [3, 14, 22, 25, 28, 58, 59]. Bizim çalışmamızda ise, meyve ve yaprak ekstraktlarıyla fenolik bileşiklerin laktik asit bakterileri üzerinde gösterdikleri etkide, istatistiki

olarak farklılık ($p < 0.05$) tespit edilmiş, etkinin fenolik bileşiklerin bireysel ve bütüncül etkilerinden, gallik asit, *p*-kumarik asit, serbest antosiyaninler gibi pek çok fenolik bileşiğin fermente edilebilir bir enerji kaynağı, hidrojen alıcısı veya büyüme faktörü gibi rol oynayarak bazı laktik asit bakterileri üzerinde (*L.acidophilus*) sitümüle edici etki gösterdiği düşünülmektedir.

Vac.myrtillus meyve ve yapraklarının fenolik bileşen kompozisyonunun belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, yeşil kahve çekirdeklerinde 5-O-kafeoil kuinik asit (5-CQA) olarak refere edilen *klorojenik asit*, en baskın fenolik asit olarak bildirilirken [16],

Değirmencioğlu ve ark. [42] tarafından yapılan çalışmada meyve ekstraktlarında en yüksek oranda bulunan fenolik asidin *şiringik asit*, yaprak ekstraktlarında ise bu asidin yanı sıra, *p-kumarik*, *gallik* ve *vanillik asitler* tespit edilmiştir. *Şiringik asit* gibi *p-kumarik asit*, *trans ferulik asit*, *gallik asit*, *klorojenik asit* ve *naringin*'in özellikle Gr (-) ve (+) patojenlere karşı (Tablo 3) demir bağlama kapasitelerinin yüksek olmasından dolayı *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde güçlü antibakteriyel etki göstermesi ve biyofilm oluşumunu engelleme yeteneklerinin bulunması da dikkate değerdir [3, 22, 30-31, 53-60].

Tablo 3. Disk difüzyon testinde fenolik standartların (100 mg/mL/disk) patojenler ve probiyotikler (10, 50 ve 100 mg/mL/disk) üzerinde oluşturduğu inhibisyon etkisi

Fenolik standartlar	Gram (-)				Gram (+)		Laktik asit bakterileri								
	SE	SET	EC	EA	LSM	SA	LD	LC	LA	LD	LC	LA	LD	LC	LA
	100 mg/mL				10 mg/mL		50 mg/mL			100 mg/mL					
Gallik asit	-	-	25±0.12 ^{Ab}	25±0.31 ^{Ab}	-	25±0.17 ^{Ab}	-	16±0.42 ^{Cb}	16±0.44 ^{Cb}	17±0.21 ^{Bab}	17±0.11 ^{Bab}	17±0.23 ^{Bb}	18±0.52 ^{Aa}	19±0.17 ^{Aa}	19±0.41 ^{Aa}
Vanillik asit	-	-	-	24±0.19 ^{Ab}	-	23±0.11 ^{Ac}	-	-	-	-	-	-	16±0.26 ^{Ab}	16±0.19 ^{Ac}	16±0.22 ^{Ac}
Kafeik asit	-	-	-	-	-	-	16±0.14 ^{Ab}	-	-	17±0.54 ^{Ab}	-	-	18±0.19 ^{Aa}	16±0.21 ^{Bc}	16±0.10 ^{Bc}
Klorojenik asit	-	-	24±0.41 ^{Cc}	24±0.14 ^{Bb}	-	26±0.26 ^{Aa}	14±0.17 ^{Bb}	14±0.18 ^{Bc}	-	14±0.32 ^{Bc}	15±0.28 ^{Ab}	15±0.15 ^{Ab}	16±0.23 ^{Ab}	16±0.45 ^{Ac}	16±0.16 ^{Ac}
Şiringik asit	26±0.54 ^{Ab}	26±0.45 ^{Ab}	26±0.26 ^{Aa}	26±0.14 ^{Aa}	25±0.43 ^{Ab}	26±0.33 ^{Aa}	16±0.24 ^{Ca}	18±0.19 ^{Ba}	18±0.21 ^{Ba}	18±0.15 ^{Ba}	18±0.23 ^{Ba}	18±0.47 ^{Aa}	18±0.16 ^{Ba}	19±0.13 ^{Aa}	19±0.19 ^{Aa}
<i>p</i> -kumarik asit	25±0.12 ^{Bb}	26±0.16 ^{Ab}	27±0.14 ^{Aa}	26±0.62 ^{Ab}	-	25±0.27 ^{Bb}	-	-	-	17±0.19 ^{Ab}	16±0.12 ^{Bb}	17±0.21 ^{Ab}	18±0.38 ^{Aa}	17±0.35 ^{Ab}	18±0.17 ^{Ab}
Trans ferulik asit	26±0.24 ^{Aa}	26±0.17 ^{Aa}	26±0.17 ^{Aa}	26±0.18 ^{Aa}	24±0.34 ^{Bb}	26±0.30 ^{Aa}	14±0.26 ^{Cb}	-	14±0.22 ^{Cc}	16±0.27 ^{Bb}	16±0.19 ^{Bb}	16±0.29 ^{Bc}	17±0.44 ^{Ab}	17±0.12 ^{Ab}	18±0.30 ^{Ab}
3-hidroksi-4-metoksi-sinamik asit	-	-	24±0.34 ^{Ac}	24±0.12 ^{Ab}	-	-	14±0.11 ^{Ab}	14±0.21 ^{Ac}	14±0.16 ^{Ac}	14±0.32 ^{Ac}	14±0.22 ^{Ac}	14±0.16 ^{Ac}	16±0.24 ^{Ac}	15±0.19 ^{Ad}	14±0.29 ^{Ad}
Naringin	22±0.19 ^{Cc}	24±0.14 ^{Bc}	24±0.48 ^{Bc}	24±0.28 ^{Bb}	26±0.26 ^{Aa}	26±0.29 ^{Aa}	-	-	14±0.12 ^{Bc}	-	14±0.21 ^{Bc}	16±0.23 ^{Ab}	16±0.17 ^{Ab}	16±0.20 ^{Ac}	16±0.28 ^{Ac}
Hesperidin	-	24±0.31 ^{Bc}	26±0.29 ^{Ab}	25±0.25 ^{Ab}	26±0.14 ^{Aa}	26±0.35 ^{Aa}	14±0.31 ^{Bb}	14±0.20 ^{Bc}	14±0.11 ^{Bc}	16±0.44 ^{Ab}	14±0.23 ^{Bc}	16±0.25 ^{Bd}	17±0.18 ^{Ab}	16±0.21 ^{Ac}	16±0.14 ^{Ac}
Kuersetin	-	-	25±0.14 ^{Ab}	24±0.18 ^{Bb}	26±0.31 ^{Aa}	26±0.32 ^{Aa}	-	14±0.14 ^{Bc}	14±0.23 ^{Bc}	14±0.21 ^{Bc}	16±0.42 ^{Ab}	16±0.12 ^{Ab}	16±0.26 ^{Ab}	18±0.31 ^{Ab}	17±0.09 ^{Ab}
Rutin hidrat	-	24±0.23 ^{Bc}	25±0.12 ^{Ab}	26±0.47 ^{Aa}	26±0.22 ^{Aa}	26±0.18 ^{Aa}	14±0.12 ^{Bb}	14±0.39 ^{Bc}	14±0.31 ^{Bc}	16±0.14 ^{Ab}	16±0.12 ^{Ab}	16±0.11 ^{Ab}	17±0.11 ^{Ab}	16±0.32 ^{Ac}	16±0.14 ^{Ac}
Resveratrol	-	-	-	-	-	-	16±0.15 ^{Ba}	16±0.24 ^{Bb}	-	18±0.16 ^{Aa}	18±0.17 ^{Aa}	16±0.16 ^{Bc}	18±0.28 ^{Aa}	19±0.11 ^{Aa}	18±0.47 ^{Ab}
(+)-kateşin	-	-	-	-	-	-	16±0.24 ^{Ba}	-	16±0.19 ^{Bb}	17±0.21 ^{Ab}	16±0.18 ^{Bb}	18±0.25 ^{Aa}	18±0.14 ^{Ab}	17±0.44 ^{Ab}	18±0.33 ^{Ab}
(-)-epikateşin	-	24±0.41 ^{Ac}	-	22±0.15 ^{Bc}	-	22±0.24 ^{Bc}	14±0.13 ^{Cb}	-	14±0.24 ^{Cc}	16±0.29 ^{Bb}	-	16±0.14 ^{Bc}	17±0.63 ^{Ab}	14±0.25 ^{Cd}	17±0.52 ^{Ab}
Pozitif kontrol ¹	25±0.23	26±0.61	26±0.23	26±0.18	26±0.34	26±0.32	24±0.23	24±0.19	25±0.50	24±0.23	24±0.19	25±0.50	24±0.23	24±0.19	25±0.50
Negatif kontrol ²	12±0.49	12±0.63	13±0.41	13±0.55	12±0.55	12±0.26	12±0.29	12±0.35	14±0.52	12±0.29	12±0.35	14±0.52	12±0.29	12±0.35	14±0.52

¹ Kloramfenikol, ² Metanol, -: *inhibe edici etki yok*; SE: *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076); SET: *S. Enteritidis* (ATCC 13076); SET: *S. Typhimurium*; EC: *E. coli* (ATCC 25922); EA: *E. aerogenes* (ATCC 13048); LSM: *L. monocytogenes* serotype 1/2b; SA: *S. aureus* (ATCC 29213); LD: *L. delbrueckii* NRRL B 548; LC: *L. casei* NRRL B 1922; LA: *L. acidophilus* NRRL B 4495, Değerler; ortalama ± standart sapma, (tabloda verilen zon çapları kağıt disk çapını içermektedir), A,B: Aynı satırdaki farklı harfler mikroorganizmalar arasındaki farklılıkları ($p < 0.05$), a-d: Aynı sütundaki farklı harfler fenolik standartlar arasındaki farklılıklar ($p < 0.05$) ifade etmektedir.

SONUÇ

Araştırma sonuçlarına göre; *şiringik asit* patojenler üzerinde pozitif kontrol (25-26 mm) ile karşılaştırıldığında en etkili (25-26 mm) fenolik bileşik olarak ön plana çıkarken, *vanillik asit* ise en zayıf etkili fenolik bileşik, en hassas mikroorganizmalar ise *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes* serotype 1/2b belirlenmiştir. Hem taze hem de kurutulmuş yaban mersini yapraklarından elde edilen ekstraktların; *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* üzerinde zayıf da olsa antibakteriyel etkiye sahip olduğu, LAB arasında ise sadece *L.acidophilus*'un ekstraktlara direnç gösterdiği tespit edilmiştir. *L.rhamnosus*, *L.acidophilus*, *L. casei*, *L.plantarum*, *Bifidobacterium lactis* gibi probiyotik bakterilerle karşılaştırıldığında, *L. monocytogenes*, *S.typhimurium* gibi patojenler yaban mersininde bulunan fitokimyasallara karşı 2 ila 4 kat daha fazla hassasiyet göstermekte, pek çok gıda proseslerinde LAB çeşitli asitler, etanol ve polifenoller gibi antimikrobiallerin varlığında gelişme gösterebilmektedir. Özellikle barsak epitellerinin geçirgenliğinin gastrointestinal hastalıklarda önemli olduğu düşünülecek olursa [61], barsak kökenli bakteriler ve toksinlerinin barsak epitellerinden geçişini

azaltan fenolik bileşiklerce zengin meyvelerin tüketimi ve bu meyvelerin probiyotik katkılı gıda üretimlerinde prebiyotik amaçlı kullanımı önem arz etmektedir. Yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktlarının sağlık, kozmetik ve gıda endüstrisinde patojen mikroorganizmalara karşı doza bağlı olarak etkili olabileceği, ekstrakt eldesinde kullanılan çözücünün antimikrobiyal etkide öneminin olduğu, probiyotik bakteri içeren gıda formülasyonlarında ise hem stimüle edici etkilerinden hem de fonksiyonel özelliklerinden dolayı rahatlıkla kullanılabilirliği, ayrıca fenolik bileşenlerin ve gösterdikleri antioksidan, antimikrobiyal vb.etkilerin korunabilmesi amacıyla farklı kurutma yöntemlerinin de denenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAP-18-BMYO-1009-082 nolu projeye desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Sellappan, S., Akoh, C.C., Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2432-2438.
- [2] Ehlenfeldt, M.K., Prior, R.L. (2001). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2222-2227.
- [3] Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., Oksman-Caldentey, K.M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90(4), 494-507.
- [4] Deng, Y., Yang, G., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., Wang, D., Zhong, Y., Zhao, Y. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*, 38, 184-191.
- [5] Silva, S., Costa, E.M., Pereira, M.F., Costa, M.R., Pintado, M.E. (2013). Evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from dry *Vaccinium corymbosum* extracts upon food microorganism. *Food Control*, 34(2), 645-650.
- [6] Park, Y.J., Biswas, R., Phillips, R.D., Chen, J. (2011). Antibacterial activities of blueberry and muscadine phenolic extracts. *Journal of Food Science*, 76(2), 161-165.
- [7] Kelebek, H., Jourdes, M., Selli, S., Teissedre, P.L. (2013). Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(12), 2963-2972.
- [8] Ieri, F., Martini, S., Innocenti, M., Mulinacci, N. (2013). Phenolic distribution in liquid preparations of *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium vitis idaea* L. *Phytochemical Analysis*, 24(5), 467-475.
- [9] Burdulis, D., Sarkinas, A., Jasutienė, E., Nikolajevs, L., Janulis, V. (2009). Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 66(4), 399-408.
- [10] Li, C., Feng, J., Huang, W.Y., An, X.T. (2013). Composition of polyphenols and antioxidant activity of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) in Nanjing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(3), 523-531.
- [11] Scalbert, A., Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2073-2085.
- [12] Atacan, K., Yanık, D.K. (2017). Yaban mersini (*Vaccinium corymbosum* L.) suyu konsantresinin püskürtmeli kurutulmada kurutulması: Tepki yüzey yöntemiyle optimizasyon. *Akademik Gıda*, 15(2), 139-148.
- [13] Nohynek, L.J., Alakomi, H.L., Kähkönen, M.P., Heinonen, M., Helander, I.M., Oksman-Caldentey, K.M., Puupponen-Pimiä, R.H. (2006). Berry phenolics: Antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer*, 54(1), 18-32.
- [14] Biswas, D., Wideman, N.E., O'Bryan, C.A., Muthaiyan, A., Lingbeck, J.M., Crandall, P.G., Ricke, S.C. (2012). Pasteurized blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice growth of bacterial pathogens in milk but allows survival of probiotic bacteria. *Journal of Food Safety*, 32(2), 204-209.
- [15] Bunea, A., Rugina, D.A., Pintea, A.M., Sconta, Z., Bunea, C.I., Socaciu, C. (2011). Comparative polyphenolic content and antioxidant activities of some wild and cultivated blueberries from Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2), 70-76.
- [16] Kim, S.M., Shanga, Y.F., Um, B.H. (2010). Preparative separation of chlorogenic acid by centrifugal partition chromatography from highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Phytochemical Analysis*, 21(5), 457-462.
- [17] Routray, W., Orsat, V. (2014). MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 58, 36-45.
- [18] Pervin, M., Hasnat, M.A., Lim, B.O. (2013). Antibacterial and antioxidant activities of *Vaccinium corymbosum* L. leaf extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(6), 444-453.
- [19] Norberto, S., Silva, S., Meireles, M., Faria, A., Pintado, M., Calhau, C. (2013). Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1518-1528.
- [20] Caillet, S., Côté, J., Sylvain, J.F., Lacroix, M. (2012). Antimicrobial effects of fractions from cranberry products on the growth of seven pathogenic bacteria. *Food Control*, 23, 419-428.
- [21] Neto, C.C. (2007). Cranberry and blueberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(6), 652-664.
- [22] Lacombe, A., Wu, W.C.H., White, J., Tadepalli, S., Andre, E.E. (2012). The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiology*, 30(1), 124-131.
- [23] Sun, X.H., Zhou, T.T., Wei, C.H., Lan, W.Q., Zhao, Y., Pan, Y.J., Wu, V.C.H. (2018). Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin rich Chinese wild blueberry extract on various foodborne pathogens. *Food Control*, 94, 155-161.
- [24] Wu, V.C.H., Qiu, X.J., Bushway, A., Harper, L. (2008). Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. *LWT- Food Science and Technology*, 41(10), 1834-1841.
- [25] Yang, H., Hewes, D., Salaheen, S., Federman, C., Biswas, D. (2014). Effects of blackberry juice on growth inhibition of foodborne pathogens and growth promotion of *Lactobacillus*. *Food Control*, 37, 15-20.

- [26] Connor, A.M., Luby, J.J., Tong, C.B.S., Finn, C.E., Hancock, J.K. (2002a). Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic contents, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of American Society Horticultural Sciences*, 127(1), 89-97.
- [27] Connor, A.M., Luby, J.J., Tong, C.B.S. (2002b). Variability in antioxidant activity in blueberry and correlations among different antioxidant activity assays. *Journal of American Society Horticultural Sciences*, 127(2), 238-244.
- [28] Yang, G., Yue, J., Gong, X., Qian, B., Wang, H., Deng, Y., Zhao, Y. (2014). Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 46-53.
- [29] Kim, C.H., Jil, G., Ahn, C. (2000). Purification and molecular characterization of a bacteriocin from *Pediococcus* sp. KCA1303-10 isolated from fermented flatfish. *Food Science and Biotechnology*, 9(4), 270-276.
- [30] Shen, X., Sun, X., Xie, Q.L.H., Zhao, Y., Pan, Y., Hwang, C.A., Wu, V.C.H. (2014). Antimicrobial effect of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts against the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis. *Food Control*, 35, 159-165.
- [31] Yow, C.M.N., Tang, H.M., Chu, E.S., Huang, Z. (2012). Hypericin-mediated photodynamic antimicrobial effect on clinically isolated pathogens. *Photochemistry and Photobiology*, 88(3), 626-632.
- [32] Kleerebezem, M., Hols, P., Bernard, E., Rolain, T., Zhou, M. M., Siezen, R.J. (2010). The extracellular biology of the lactobacilli. *FEMS Microbiology Reviews*, 34, 199-230
- [33] Lian, P.Y., Maseko, T., Rhee, M., Ng, K. (2012). The antimicrobial effects of cranberry against *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Technology International*, 18, 179-186.
- [34] Lacombe, A., McGivney, C., Tadepalli, S., Sun, X., Wu, V.C.H. (2013). The effect of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) constituents on the growth inhibition, membrane integrity, and injury of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in comparison to *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiology*, 34, 352-359.
- [35] Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56, 3-12.
- [36] Česonienė, L., Jasutienė, I., Šarkinas, A. (2009). Phenolics and anthocyanins in berries of European cranberry and their antimicrobial activity. *Medicina (Kaunas)*, 45(12), 992-999.
- [37] Kylli, P., Nohynek, L., Puupponen-Pimiä, R., Westerlund-Wikström, B., Leppänen, T., Welling, J., Moilanen, E., Heinonen, M. (2011). Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) and European cranberry (*Vaccinium microcarpon*) proanthocyanidins: Isolation, identification, and bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 3373-3384.
- [38] Mahboubi, M., Kazempour, N., Taghizadeh, M. (2013) In vitro antimicrobial and antioxidant activity of *Vaccinium arctostaphylos* L. Extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(4), 241-247.
- [39] Kryvtsova, M.V., Trush, K., Eftimova, J., Koščová, J., Spivak, M.J. (2019). Antimicrobial, antioxidant and some biochemical properties of *Vaccinium vitis-idaea* L. *Мікробіол. Журн*, 81(3), 40-52.
- [40] Miljković, V.M., Nikolić, G.S., Zvezdanović, J., Mihajlov-Krstev, T., Arsić, B.B., Miljković, M.N. (2018). Phenolic profile, mineral content and antibacterial activity of the methanol extract of *Vaccinium myrtillus* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 122-127.
- [41] Xiaoyong, S., Luming, C. (2014). Phenolic constituents, antimicrobial and antioxidant properties of blueberry leaves (V5). *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(12), 973-979.
- [42] Değirmencioğlu, N., Gürbüz, O., Karatepe, G.E., Irkin, R. (2017). Influence of hot air drying on phenolic compounds and antioxidant capacity of blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruit and leaf. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90, 115-125.
- [43] Skupień, K., Oszmiański, J., Kostrzewa-Nowak, D., Tarasiuk, J. (2006). In vitro antileukemic activity of extracts from berry plant leaves against sensitive and multidrug resistant HL60 cells. *Cancer Letters*, 236(2), 282-291.
- [44] Oszmiański, J., Wojdyło, A., Gorzelany, J., Kapusta, I. (2011). Identification and characterization of low molecular weight polyphenols in berry leaf extracts by HPLC-DAD and LC-ESI/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 12830-12835.
- [45] Cisowska, A., Wojnics, D., Hendrich, A.B. (2011). Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Natural Product Communications*, 6(1), 149-156.
- [46] Cueva, C., Moreno-Arribas, V., Martí'n-A'lvarez, P.J., Bills, G., Vicente, M.F., Basilio, A., Rivas, C.L., Requena, T., Rodr'iguez, J.M., Bartolome', B. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*, 161(5), 372-382.
- [47] Celiz, G., Daz, M., Audisio, M.C. (2011). Antibacterial activity of naringin derivatives against pathogenic strains. *Journal of Applied in Microbiology*, 111, 731-738.
- [48] Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.
- [49] Nikoo, M., Regenstein, J.M., Gavlighi, H.A. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and its potential to preserve the quality and safety of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(9), 732-752.
- [50] Yoon, B.I., Bae, W.J., Choi, Y.S., Kim, S.J., Ha, U.S., Hong, S.H., Sohn, D.W., Kim, S.W. (2018). Anti-inflammatory and antimicrobial effects of anthocyanin extracted from black soybean on

- chronic bacterial prostatitis rat model. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 24(8), 621-626.
- [51] EUCAST, (2018). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 20p (<https://www.ipna.csic.es/sites/default/files/users/user282/EUCAST%202018.pdf>).
- [52] Kang, C.G., Hah, D.S., Kim, C.H., Kim, Y.H., Kim, E., Kim, Y.S. (2011). Evaluation of antimicrobial activity of the methanol extracts from 8 traditional medicinal plants. *Toxicological Research*, 27(1), 31-36.
- [53] Pastene, E., Speisky, H., García, A., Moreno, J., Troncoso, M., Figueroa, G. (2010). In vitro and in vivo effects of apple peel polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7172-7179.
- [54] Hu, Y., Jia, J., Qiao, J., Ge, C., Cao, Z. (2010). Antimicrobial activity of pu-erh tea extracts *in vitro* and its effects on the preservation of cooled mutton. *Journal of Food Safety*, 30(1), 177-195.
- [55] Duh, P.D., Yen, G.C., Yen, W.J., Wang, B.S., Chang, L.W. (2004). Effects of pu-erh tea on oxidative damage and nitric oxide scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8169-8176.
- [56] Shi, C., Sun, Y., Zheng, Z., Zhang, X., Song, K., Jia, Z., Chen, Y., Yang, M., Liu, X., Dong, R., Xia, X. (2016). Antimicrobial activity of syringic acid against *Cronobacter sakazakii* and its effect on cell membrane. *Food Chemistry*, 197, 100-106.
- [57] Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M.J., Simões, M. (2013). Antibacterial activity and more of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19(4), 256-265.
- [58] Vivas, N., Lonvaud-Funel, A., Glories, Y. (1997). Effect of phenolic acids and anthocyanins on growth, viability and malolactic activity of a lactic acid bacterium. *Food Microbiology*, 14, 291-300.
- [59] Czyżowska, A., Kucharska, A.Z., Nowak, A., Sokół-Łętowska, A., Motyl, I., Piórecki, N. (2017). Suitability of the probiotic lactic acid bacteria strains as the starter cultures in unripe cornelian cherry (*Cornus mas* L.) fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), 2936-2946.
- [60] Kot, B., Wicha, J., Piechota, M., Wolska, K., Gruzewska, A. (2015). Antibiofilm activity of trans-cinnamaldehyde, *p*-coumaric, and ferulic acids on uropathogenic *Escherichia coli*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45, 919-924.
- [61] Lacombe, A., Wu, V.C.H. (2017). The potential of berries to serve as selective inhibitors of pathogens and promoters of beneficial microorganisms. *Food Quality and Safety*, 1, 3-12.