

**ÜZÜM EKSTRATI'NIN MISIR, BUĞDAY, ARPA
DANELERİNE EKLENMESİNİN YEM
MİKROBİYOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Selen ALKAN
Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. H. Ersin ŞAMLI**

2011

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RESVERATROL'UN MISIR, BUĞDAY, ARPA DANELERİNE
EKLENMESİYLE YEM MİKROBİYOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Selen ALKAN

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: DOÇ DR. H. ERSİN ŞAMLI

TEKİRDAĞ-2011

Her hakkı saklıdır.

Doç Dr. H. Ersin ŞAMLI danışmanlığında, Selen ALKAN tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından. Zootekni Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı: Doç. Dr. H. Ersin ŞAMLI

İmza :

Üye: Doç. Dr. Murat TAŞAN

İmza :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

İmza :

Fen Bilimleri Yönetim Kurulu adına.

Doç. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÜZÜM EKSTRATI'NIN MISIR, BUĞDAY, ARPA DANELERİNE EKLENMESİNİN YEM MİKROBİYOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Selen ALKAN
Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootehni Anabilim Dalı

Danışman: Doç Dr. H. Ersin ŞAMLI

Bu çalışma üzüm ekstratı tahıllara ilavesinin yem mikrobiyolojisi üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür. Deneme grupları 2 farklı depolama ortamı (22 °C sıcaklık, %57 Nem ve 40 °C sıcaklık, % 65 Nem), 2 farklı depolama süresi (1 ve 3 ay), üzüm ekstratı ilavesi ile 3 adet hammadde (mısır, buğday, arpa) kullanılarak oluşturulmuştur. Araştırma sonucunda tahılların sahip oldukları besin madde bileşimleri ile mikroorganizma sayılarının, kökenlerine ve elde edilme yöntemlerinin farklılığından ötürü büyük değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Araştırmada farklı hammaddelerin besin madde kayıplarının depolama şartları, süresi ve üzüm ekstratı ilavesinden etkilenmiştir.

Sonuç olarak üzüm ekstratı ilave edildiğinde buğday ve arpa da LAB sayılarında artış gözlenmekle beraber mısır da ise küf sayılarında azalma görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Üzüm ekstratı, yemler, depolama şartları.

2011, 31 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE EFFECTS OF GRAPE EXTRACT INTO THE CORN, THE WHEAT AND THE BARLEY'S GRAINS ON THE MICROBIOLOGY OF FEED

Selen ALKAN

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science

Supervisor: Doç Dr. H. Ersin ŞAMLI

This study is carried out with the aim of investigating the addition of grape extract to growing effects on the microbiology of feed. Experiment groups are set off using two different storage medium (22 °C temperature, 57% moist and 40 °C temperature , 65 % moist), two different storage time (1 and 3 months), 3 raw materials with the addition of extract (corn, wheat, barley). Following the search, it is determined that the vegetable root raw materials' substance compound and the number of microorganisms vary from their roots and the differences of derivation methods. During the search, the different material raws are affected by the loss of feedstuff's storage conditions, time and the addition of grape extract. When the grape extract is added, it is observed that the numbers of LAB increases in wheat and barley, however, it is conferred that the number of mold decreases in corn.

As a result, it is determined that adding grape extract leads to some differences, but these results are also related to storage conditions, time and the qualities of raw material.

Key Words: Grape extract, storage condition, feeds.

2011, 31 pages

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecinde karşılaştığım tüm sorunlarda yanımda olan ve tezimi gerçekleştirmemde yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. H. Ersin ŞAMLI' ya çok teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarında bana her türlü imkânı sağlayan Pakmaya Biyoteknoloji Araştırma Merkezi müdürü Doç. Dr. Levent DAĞAŞAN, Uzman Mikrobiyolog Filiz ALEMDAR, Yüksek Kimya Mühendisi Gültaç B. ÇALIŞKAN, Tuğba GÜNDÜZ, Hilal HELVACI, Faik ÇALIŞKAN, Mustafa HOCAOĞLU, Özgür SANCAR ve PAKMAYA çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez hazırlık aşamamda yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ ve Yrd. Doç. Dr. Levent ÖZDÜVEN 'e teşekkür ederim.

Maddi ve manevi destekleriyle bugüne gelmemde en büyük paya sahip olan annem Rezan ALKAN, babam Attila ALKAN, abim Tolga ALKAN 'a çok teşekkür ederim.

Yardımlarından dolayı arkadaşlarım Babur ELİK, Tuğba ÇELİK ve Afet TURAN'a çok teşekkür ediyorum.

Selen ALKAN

SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR

LAB : Laktik Asit Bakterileri.

logcfu/g : Koloni oluşum birimi.

°C : Santigrat Derece

gr : Gram

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	2
3. MATERYAL VE METOT.....	10
3.1. Yem Materyali	10
3.2. Yöntem	11
3.2.1 Üzüm Ekstratı Uygulaması.....	11
3.2.2. Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler	11
3.2.3. İstatistik Analizleri.....	12
4.ARAŞTIRMA BULGULAR VE TARTIŞMA	13
5.SONUÇ	23
ÖZGEÇMİŞ	24
7.KAYNAKLAR	25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kateşinin kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2.2. Resveratrol'ün kimyasal yapısı	4
Şekil 2.3. Flavonol'un kimyasal yapısı	4
Şekil 2.4. Antosiyaninin kimyasal yapısı	4
Şekil 5. Buğday da Mrs Agar besi ortamında bakteri gelişimi.....	10
Şekil 6. Mısır da gelişen küflerden bir görüntü	10

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1: Üzüm ve ürünlerinde bulunan Fenolik Bileşikler.....	5
Çizelge 2: Başlıca tarımsal ürünlerin depolanabilmesi için öngörülen nem oranları	9
Çizelge 3: Hammaddelerin depolama öncesi ham protein (HP) ham yağ (HY) % kuru madde (KM), ham kül, pH, su aktivitesi (aw) içerikleri	11
Çizelge 4: Hammaddelerin depolama öncesi (LAB), maya ve küf değerleri etkileri (logcfu/g)	12
Çizelge 5: Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve şartlarında mısır da su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH, laktik asit bakterisi (LAB), maya ve küf gelişimine olan etkileri (logcfu/g)	14
Çizelge 6: Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve sıcaklıklarında buğday da su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH, laktik asit bakterisi (LAB), maya ve küf gelişimine olan etkileri (logcfu/g)	16
Çizelge 7: Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve sıcaklıklarında arpa da su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, Ph, laktik asit bakterisi (LAB), maya ve küf gelişimine olan etkileri (logcfu/g)	18

1. GİRİŞ

Hayvansal üretimde işletme maliyetlerinin yaklaşık olarak %70'ini yem oluşturmaktadır. Bu nedenle hayvansal ürünlere karşı talebin arttığı günümüzde, daha çok hayvansal gıda üretimi üretebilmek için, kaliteli yem üretimini arttırmamız gerekmektedir (Karahocalıgil ve Ege 2004).

Hayvancılığın gelişmesinde ve hayvansal ürünlerin üretim miktarlarının artmasında birçok faktör etkilidir. Bu faktörlerin en başında hayvanların besin kaynaklarını oluşturan kaliteli yem ve yem hammaddesi talebinin karşılanması gelmektedir. Hayvancılığın gelişmesi ve daha verimli olabilmesi için hayvanların yeterli ve kaliteli yemlerle beslenmeleri gerekmektedir (Karahocalıgil ve Ege 2004).

Bitkisel kökenli hammaddelerin mikroorganizma yükleri yetiştikleri tarlaya bağlı olarak değişebilmektedir (Ergül 2005). Diğer bir bulaşma ise depolama sırasında olabilmektedir. Yemin tipi, işleme yöntemi ve depolama şartları mikroorganizma sayısını ve tipini belirleyici ana unsurlardır. Farklı yemlerde bulunan mikrobik çeşitlilik, yemin su aktivitesine, oksidasyon-redüksiyon potansiyeline, pH ve besin madde bileşimine göre değişmektedir. Mikrobiyal gelişme özellikle yemi oluşturan hammaddelerin nem içeriğine bağlıdır. Bazı mikroorganizmalar ve küfler serbest suyun az olduğu koşullarda depolanan tahıllarda gelişme gösterebilmektedirler (Maciorowski ve ark 2007).

Dünya Gıda ve Tarım Örgütü'nün 1985 yılında yayınladığı raporunda, Dünya'da yıllık üretilen tarım ürünlerinin yaklaşık olarak %25'inin farklı boyutlarda küflenmekte olduğu ve dolayısıyla mikotoksinlerle kirlendiği bildirilmektedir. Bunun sonucunda tüm Dünya'da yıllık üretilen tarımsal ürünlerin yaklaşık olarak %1-2'si küflenmeler yüzünden bozulmakta ve tüketilemez bir hale gelmekte, ayrıca ekonomik olarak da kayıp söz konusu olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde bu oranlar daha düşükken, gelişmekte olan ülkelerde ise daha yüksek seviyelerde olduğu gözlenmektedir (Yavuz 2001).

Yemlerin üretim aşamalarından tüketimlerine kadar geçen sürelerde içerisinde yem ve yem hammaddelerinin kalitesinde meydana gelebilecek değişimlerin bilinmesi ve bunların önüne geçilmesi gerekmektedir. Depolama, yem ve yem hammaddelerinin kaliteleri üzerine etkili olan en önemli etmenlerin başında gelmektedir (Ayhan 1991).

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Üzüm posası

Üzüm dünyada 60 milyon ton dan fazla üretilen meyvedir. Antioksidan aktivitesi olan fenolik bileşikler üzüm posası gibi tarımsal yan ürünlerde bulunmaktadır (Rayne ve ark. 2008).

Ülkemizde gereğince değerlendirilemeyen tarımsal sanayi yan ürünlerinden birisi olan üzüm posası, şarap yapılırken üzümün ya olduğu gibi çöp ve sapları ile birlikte ya da çöplerinden ayrıldıktan sonra ezilip sıkılması sonucu elde edilmektedir (Sarıçiçek ve Kılıç 2002, Ergün ve ark. 2004).

Yaş üzüm üretimimiz her yıl ortalama 3,5 milyon ton civarında olup. Üretilen üzümün yaklaşık %3'ü şaraplık olarak değerlendirilmektedir (Anonim 2002). İşlenen şaraplık üzümün %15-25 oranında posa elde edildiği dikkate alınacak olursa, üzüm posası üretimi küçümsenmeyecek boyuttadır. Şarap üretiminden arta kalan üzüm posasından yetiştiricilerin yeterince yararlanamaması nedeniyle, üretim noktalarında önemli miktarlarda birikim olmakta ve değerlendirilemeyen atıklar çevre kirliliğine neden olabilmektedir (Sarıçiçek ve Kılıç 2002).

Şarap üretiminde üzümün %80' lik kısmı şarap yapımında kullanılmakta ve geri kalan üzüm çekirdeği, kabuğu ve saplarını içeren ve üzüm ağırlığının %20' sini oluşturan üzüm posası atıkları oluşmaktadır. Bu veriler ışığında üzüm posasının senede 9 milyon tondan fazla olduğu hesaplanmaktadır (Schieber ve ark. 2001).

Çekirdek içeren üzüm posasının yüksek antioksidan aktivitesi olan proantosiyanidinlerce zengin bir kaynak olduğu belirtilmektedir (Altiok ve ark. 2003).

Üzüm posasında bulunan üzüm kabukları en iyi trans-resveratrol kaynağı olup, fitoaleksinin grubuna ait olan sekonder bitki metabolitidir. Bilindiği gibi fitoaleksinin fungus enfeksiyonlarını engelleme kapasitesine sahip antibiyotik benzeri bileşikler olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan bu bileşiklerin iltihaplanmalara ve mikroorganizmalara karşı inhibitör etkisinin olduğu belirtilmektedir (Soleas ve ark. 1997).

2.2 Üzüm ve üzüm ürünlerinde bulunan Fenolik Bileşikler

Siyah üzümlerle beyaz üzümleri birbirinden ayıran temel fark fenolik bileşiklerden ileri gelmektedir. Yapılan araştırmalarda kırmızı çeşitlerin fenolik maddelerce beyaz

çeşitlerden daha zengin olduğu belirlenmiştir. Bitkisel kökenli materyallerde bulunan fenolik bileşikler “fenolik asitler” ve “flavonoidler” olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Gülcü ve ark. 2008).

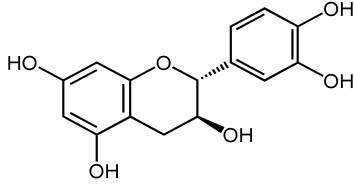
Üzümde en yaygın olan flavonoidler; flavonoller (kuarsetin, kampferol, mirisetin), flavan-3-ol’ler (katesin, epikatesin, tanenler) ve antosiyaninlerdir. Antosiyaninler (malvidin, peonidin, petunidin, siyanidin, elfinidin), siyah üzümlere ve bu üzümlerden elde edilen şaraplara karakteristik renklerini kazandıran flavonoidlerdir. Fenolik bileşiklerin diğer gurubu, fenolik asitler, flavonoid olmayan bileşikler olarak da adlandırılır ve üzümde en yaygın olanları hidroksisinnamik asit ve gallik asit türevleri ile trans-resveratrol’dür (Gülcü ve ark. 2008).

Diğer yandan üzümlerin çekirdek ve kabuklarının flavonoid ve flavonoid olmayan fenolik bileşiklerce zengin olduğu birçok çalışmada gösterilmektedir (Arnous ve Meyer 2008).

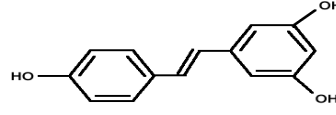
Fitokimyasallar genellikle bitkide bulunan kimyasal bileşiklerdir. Bitki hücrelerinin kirlenme, stres, kuraklık, UV ışığı ve patojen mikroorganizmalar gibi çevresel tehlikelerden koruyan fitokimyasal bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Langcake ve Pryce 1977).

Bu özellikte olan bileşikler sekonder bitki metabolitleri olarak ifade edilir. Bu amaçla son zamanlarda bitkilerde bulunan fenolik maddeler dikkat çekilmiştir. Bu sekonder bitki metabolitleri her gün tükettiğimiz gıdaların bir kısmını oluşturan meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunmaktadır. Bu maddeler insanlarda biyolojik sistemlerle etkileşime girerek serbest radikalleri tutarak kalp damar hastalıkları bozuklukları, kanser ve sinir sistemi hastalıklarını önlemede önemli rol oynamaktadır. Fenolik maddeler basit bir hidroksillenmiş aromatik halka içeren kompleks yapılardır. Bitkilerin toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan kapasiteleri arasında pozitif bir ilişki olduğu bazı araştırmalarda belirtilmektedir (Katalinic ve ark. 2006).

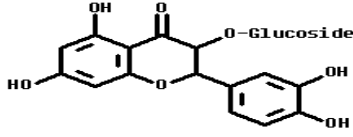
Üzümlerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda genellikle sıvı-sıvı ekstraksiyon metodu kullanılmaktadır. Ekstraksiyon solventi olarak farklı oranlarda su, etanol, metanol, aseton veya formik asit kullanılmaktadır. Üzüm kabuklarından elde edilen ekstrakta antosiyaninler ve flavanoller den oluştuğu belirtilmektedir (Guerrero 2009). Kaynaklarda üzümlerden elde edilen birçok fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı hakkında bilgi verilmiştir. Bazı önemli fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları aşağıdaki şekillerde sıralanmıştır.



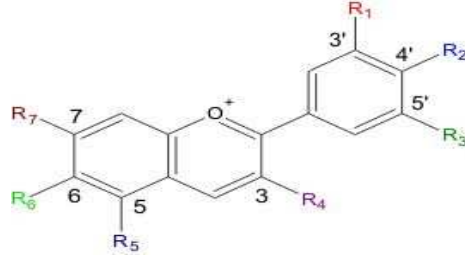
Şekil 2.1 Kateşin



Şekil 2.2 Resveratrol



Şekil 2.3 Flavonol



Şekil 2.4 Antosiyanin

Üzümelerde fenolik bileşiklerin konsantrasyonları asmanın çeşidine, yetiştirme şekline ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu polifenollerin sentezi, stilbenler gibi bitki dokularının yaralanma veya çeşitli patojenler tarafından enfekte edilmesi sonucunda artış görülmektedir (Montealegre ve ark. 2006) .

Bitki polifenolleri arasında antioksidan özelliğe sahip olan fitoaleksinin ve şaraplarda bulunan, resveratrol bilim dünyasında büyük dikkat çekmektedir. Bu bileşiğin esas olarak, üzüm meyvesinin kabuklarında bulunduğu tespit edilmesine rağmen aynı zamanda da çekirdek ve saplarında da olduğu incelenmiştir (Douillet ve ark. 1999).

Özellikle kırmızı üzümlerden yapılan şaraplarda bu maddenin fazla olduğu görülmektedir. Kırmızı şarap yapımında cibre fermantasyonunun yapılması mayanın alkol üretimi sonucunda kabuk içerisinde bulunan renk pigmentleri ile resveratrol ve diğer bileşenleri ekstrakte etmesinden dolayı kırmızı şaraplarda resveratrol miktarının daha yüksek olduğu yapılan deneysel çalışmalarda incelenmiştir (Romero ve ark. 1996, Soleas ve ark. 1997, Diamondis ve Goldberg 1997).

Çizelge 1. Üzüm ve ürünlerinde bulunan Fenolik Bileşikler

Kaynak	Fenolik Bileşikler	Kaynaklar
Çekirdek	Gallik asit, (+)-kateşin, epikateşin, dimerik prosiyanidin, proantosiyaniadis	(Pastrana-Bonilla ve ark. 2001), (Hernandez Jimenez ve ark. 2009), (Huang ve ark. 2005)
Kabuk	Proantosiyaniadinis, ellagik asit, mirsetin, kuarsetin, kaempferol, trans-resveratrol	(Pastrana-Bonilla ve ark. 2001), (Hernandez-Jimenez ve ark. 2009)
Yaprak	mirsetin, ellagic asit, kaempferol, kuarsetin, gallik asit	(Pastrana-Bonilla ve ark. 2001)
Gövde	rutin, kuarsetin 3-O-glukuronide, trans-resveratrol, astilbin	(Makris ve ark. 2008)
Kuru Üzüm	hidroksinamik asit, hidroksimetilfurfural	(Karadeniz ve ark. 2000)
Kırmızı şarap	malvidin-3-glukozit, peonidin-3-glukozit, siyanidin-3-glukozit, petunidin-3-glukozit, kateşin, kuarsetin, resveratrol, hidroksinamik asit	(Rivero-Perez ve ark. 2008), (Auger ve ark. 2005)

2.3.Üzümde elde edilen fenolik bileşiklerin biyolojik işlevleri

Son zamanlarda üzümlerden elde edilen fenolik bileşiklerin önemi insan sağlığı üzerinde antioksidan, kalp koruyucu, kansere, iltihaplı hastalıklar, yaşlanma ve mikroorganizmalara karşı etkisi olmasından dolayı ilgi çekmektedir.

Antioksidan maddeler aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri temizleyerek oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararlanmaları hücresel bazda engellemekte dolayısıyla dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır (Gülcü ve ark. 2008).

Flavonoidlerin ilk olarak belirlenen biyolojik özelliği, kılcal damar duvarlarına olumlu etkileridir (Ruzsnyak ve Szent-Gyorgy 1936).

2.4. Üzümde elde edilen fenolik bileşiklerin antioksidan işlevleri

Son 20 yılda yapılan araştırmalar fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin olduğu kanıtlamıştır. Siyah üzümün sağlık açısından önemi, içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklanmakta olup, bu bileşikler bilinen en önemli doğal antioksidan maddelerdir (Gülcü ve ark. 2008).

Üzümlerden elde edilen fenolik bileşiklerin serbest radikalleri yakalama, lipid oksidasyonu engelleme ve hidroperoksit oluşumunu azaltma yönünde faydalarının olduğu gözlemlenmiştir (Meyer ve ark. 1997, Sato ve ark. 1996).

2.5 Üzümde elde edilen fenolik bileşiklerin etkileri

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda fungus ve diğer mikroorganizmalara karşı seçilmiş bitkilerden elde edilen ekstraktlar kullanılmıştır. Bazı çalışmalarda küf sporlarının gelişimine ve bozulmaya neden olan toksin etkisi olan küflerin gelişimini kontrol etmek için bazı bitkisel yağlar kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Mercanköşk ve kekik gibi yağların *Aspergillus niger*, *Aspergillus westerdijka* gibi küflerin gelişimini engellediği ileri sürülmüştür (Mogan ve ark. 2004). Antioksidanların fungus gelişimini engellediği ve bazılarının da gıdalarda koruyucu olarak kullanıldığı da aynı çalışmada belirtilmiştir. Hardal yaprağı, karanfil ve kekik ten elde edilen 25 çeşit yağın *Penicillium verrucosum* ve *Aspergillus westerdijka* üzerinde önemli derecede etkisinin olduğu belirtilmektedir (Cairns ve Magan 2003).

Resveratrol içeren üzüm kabuğu ekstraktının mısırdaki mikotoksik özellikte olan türler üzerinde etkisi olduğu görülmüştür (Fanelli ve ark. 2003). Defne ve tarçından elde edilen yağlar ile içerisinde % 10 resveratrol içeren ticari bir ürün olan Resvin 0-500 mikrogram/gr aralığında buğdaya uygulamışlardır. *Penicillium verrucosum* ve *Aspergillus westerdijka* içeren buğdayda farklı su aktivitesi ve 15 ve 25 °C sıcaklıklarda 200 mikrogram/gr resveratrol uygulanmış 0,85-0,99 su aktivitesi değerlerinde 15/25 °C sıcaklıkta 28 gün bekletilen örneklerde mikotoksik karakterde olan bu türlerin popülasyonlarında yaklaşık % 60 oranında azalma olduğu gösterilmiştir (Aldred ve ark. 2008).

Resveratrol'ün funguslara karşı engelleyici aktivitesi mısırdaki *Fusarium verticillioides* ve *Fusarium graminearum* küflerine karşı denendiği bir çalışmada, trans-resveratrol ve şaraplık kırmızı üzüm kabuğundan elde edilen içerisinde % 10 resveratrol bulunan Resvin den

etanolda 25 mg/ml olacak şekilde sulandırılarak, 500 gr mısır örneği üzerine 4 ml olacak şekilde eklenmiştir. Bu şekilde hazırlanan örneklerden *Fusarium graminearum* aşılansmış mısırlarda toksin birikimini %80 azalttığı fakat diğer tür üzerinde kayda değer bir etkisi olmadığı belirtilmektedir. Trans resveratrol ve Resvin uygulaması ile alınan sonuçlar arasında farklılık olmadığı, daha geniş antimikotoksik etkisinin görülebilmesi için daha yüksek miktarda resveratrol kullanılması gerektiği görülmüştür (Marin ve ark. 2006).

2.6 Yemlerin depolanması

Bozulma olayları çoğunlukla mikroorganizmalar ve zararlılarca meydana gelmektedir. Bunun sonucunda yem ve yem hammaddesi kalitesini kaybetmekte, bozulmuş olan bu ürünü tüketen hayvanlarda akut ya da kronik klinik belirtiler görülmektedir (Ayhan ve Alçiçek 1995).

Yemlerin hasatlarından, üretimlerine ve hatta hayvanın önüne gelinceye kadar tüm aşamalarda değişik mikroorganizmalarla bulaşmaları niteliklerinin önemli düzeyde azalmasına neden olmakta ve bitkisel kökenli yemlerin mikroorganizma içeriği üzerinde iklim, bitki türü, gübreleme, hasat, kurutma, işleme ve hazırlama gibi etkenler yanında depolamanın da önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Ergül 1997).

Ancak mikroorganizmalarla bulaşma açısından gerekli önlemlerin alınmadığı ve toksin oluşumunun engellenemediği durumlarda toksinlerin yemden uzaklaştırılması veya toksinlerin zehir etkisinin giderilmesi ekonomik anlamda büyük önem taşıdığı belirtilmiştir. Son yıllarda bu açıdan değişik yöntemlere başvurulmuş ancak bunlar içerisinde en etkili ve ekonomik yöntemler daha yaygın uygulama alanı bulunmaktadır. Özellikle son bir kaç yıldır toksinli yemlere organik veya inorganik katkı maddeleri ilave edilerek bu açıdan en etkili sonuçların alındığı görülmektedir (Nassif 1991, Kubena ve ark. 1993, Harris 1998, Oğuz ve Kurtoğlu 2000, Raju ve ark. 2000, Trevor ve ark. 2001).

Yem ve yem hammaddelerinin daha uzun sürelerde depolanabilmeleri ve bu depolanmaları sırasında herhangi bir besin madde kaybının oluşmaması için Dünya'da son yıllarda kullanılan yöntemlerin başında farklı yapı ve özellikte olan koruyucu katkı maddelerinden yararlanılmaktadır (Ergül 2005). Fakat hayvan ve insan sağlığı için bu koruyucu katkı maddelerinin doğal olması tercih edilmektedir.

2.5.1. Depolama sırasında mikroorganizmaların neden olduğu bozulmalar

Depolama da mikroorganizma varlığının sonucunda meydana genel bozulmaların kaynakları ;

- Depolanan yem hammaddelerin veya karma yemlerin nem içeriğinin % 13-14'ün üzerinde olması,
- Yemlerin depolandığı ortam nemi ve sıcaklığının mikroorganizmaların gelişimine uygun olması. Nitekim güvenli bir depolamada ortam neminin % 75'in üzerine çıkmaması gerekmektedir.
- Hasat sırasında kullanılan ekipmanlara bağlı olarak yem hammaddelerinde zedelenme ve eziklerin oluşması ve buralarda mikroorganizmaların çok hızlı bir şekilde çoğalabilmeleri,
- Depo veya ambar zararlıları olarak bilinen kuş, fare, böcek, güve ve kurtçukların yem içerisinde kalan leşleriyle yine bunların idrar ve gübreleri patojen mikroorganizmaların gelişimi için uygun ortam oluşturmaları,
- Çok yüksek sıcaklıklarda ve silo içinin havalandırılmamasına bağlı olarak silo içi sıcaklığın artması ile birlikte açığa çıkan su buharının silo kapaklarında yoğunlaşarak mikroorganizmaların gelişimine olanak sağlaması,
- Silo iç duvarlarında bulunan girinti ve çıkıntıların yem birikimine neden olarak fungal ve bakteriyel için uygun ortam oluşturmaları.
- Silo içinin temizlenmemesi ve özellikle bir önceki yemin silodan tamamen uzaklaştırılmaması (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

Çizelge 3. Başlıca tarımsal ürünlerin depolanabilmesi için öngörülen nem oranları

Tarımsal ürün çeşidi	Güvenli depolama için ön görülen en yüksek nem oranları (%)	
	1 yıl süreyle	5 yıl süreyle
Buğday ve yan ürünleri	13-14	11-12
Arpa, mısır	13	11

Kaynak (Yavuz 2001).

2.6. Mikrobiyel bozulmaların etkileri

2.6.1. Bakterilerin etkisi

Bakteriyel bozulmaların etkisi ortamda bulunan bakterilerin sayısına göre üç kademede olmaktadır. Bakteriler öncelikle kendi hücre içi maddeleriyle hayvana zararlı etkiler yapabilirler. Daha sonra ise mikroorganizma sayısı artmıştır ve bunu tüketen genç hayvanlarda gastrointestinal hastalıklara yakalanma oranlarında artış olur. Son olarak sayıları en yüksek seviyelere ulaşmıştır. Yemlerdeki besin maddeleri, metabolizma artıkları ve hücre içi enzimlerin etkisiyle tamamen parçalanır. Ortamda hidrojen sülfür (H₂S) ve amonyak (NH₃) miktarı artar. Bu yemleri tüketen hayvanlarda zamanla besin madde yetersizliğine bağlı olarak gelişmede gerilemeler hatta ölümler görülebilir (Ergün ve ark. 2004).

6.2. Küflerin etkisi

Küfler yemlerdeki besin maddelerini tüketir ve yemin besin madde bileşiminde olumsuz yönde değişikliğe neden olurlar. Ayrıca protein, aminoasit ve vitamin düzeylerinde azalma gözlenmiştir (Ergün ve ark. 2004).

2.6.3. Mayaların etkisi

Yemle birlikte fazla miktarda maya alınması sonucunda bazı hastalıklar meydana gelebileceği bildirilmektedir. Hayvanlarca yenildiklerinde çoğalma kabiliyetlerini yitirerek diğer besin maddeleri ile birlikte sindirime uğrarlar. Sindirim sonrası açığa çıkan bazı esansiyel aminoasitlerle B grubu vitaminlerden hayvan yararlanır, ancak aşırı maya tüketimi ishal oluşumuna neden olabilmektedir (Ergün ve ark. 2004).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Yem Materyali

Araştırmada kullanılan tahıllar (mısır, buğday, arpa) 2011 hasat dönemine aittir. Denemede kullanılan hammaddelerin depolama öncesi, kuru madde, ham protein, ham yağ, ham kül, pH, su aktivitesi kapsamları Çizelge 4’te verilmiştir.

Çizelge 4. Hammaddelerin depolama öncesi kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY) ham kül, pH, su aktivitesi (aw) içerikleri;

	KM	HP	HY	HK	PH	AW
Mısır	89,00	6,06	3,78	1,12	5,70	0,53
Buğday	88,90	10,73	0,90	2,00	6,08	0,52
Arpa	89,80	7,88	1,50	2,56	5,71	0,47

Denemede kullanılan hammaddelerin depolama öncesi laktik asit bakterisi (LAB) maya ve küf değerleri Çizelge 4’de verilmiştir. Depolama öncesi Laktik asit bakterisi (LAB), maya ve küf değerleri sırasıyla 3,477-3,903; 0-0 ve 4,342-5,140 log cfu/g arasında değişmektedir.

Çizelge 5. Hammaddelerin depolama öncesi Laktik asit bakterisi (LAB), maya ve küf değerleri etkileri (logcfu/g)

	LAB	Maya	Küf
Mısır	3,602	0,000	5,140
Buğday	3,903	0,000	4,342
Arpa	3,477	0,000	4,839

3.2. Yöntem

Araştırma 3x2x2x2 faktöriyel deneme düzenine uygun olarak yürütülen bu çalışmada yem materyali olarak 3 farklı tahıl grubu (mısır, buğday, arpa) kullanılmıştır. Deneme yemleri 2 farklı depolama sıcaklığı (22 °C sıcaklık, % 57 Nem ve 40 °C % 65 Nem), 2 farklı depolama süresi (1 ay ve 3 ay) ile üzüm ekstratı içeren veya içermeyen olmak üzere muamele grubuna ayrılmıştır.

3.2.1. Üzüm Ekstratı uygulaması

Çekirdekleri ayrılan 40 adet üzüm (Banazı siyahı) 70 kısım etanol 29 kısım su 0,12 molar 1 kısım HCL karışımı ile 4 saat bekletildi, daha homojen olabilmesi için belirli aralıklar ile karıştırılmıştır. Süre sonunda 3300 rpm (2500g) ALC 4206 adlı markada santirifuj ile 10 dakika santirifuruj edilmiştir. Stok örnekler -18 °C de bekletilmiştir. Bu işlem 2 kez tekrar edilmiştir. Üst sıvılar toplanmıştır (Lacopini ve ark. 2008).

Arpa, mısır, buğday örnekleri değirmenden geçirilerek toz haline getirilmiştir. Her birinden 32 şer adet örnek olacak şekilde 100 gr tartılmıştır. Elde etmiş olduğumuz üzüm ekstratı %1 (g/g) olacak şekilde püskürtme uygulaması yapılmak üzere hazırlandıktan sonra öğütülmüş örnek üzerine homojen bir şekilde püskürtülmüştür. Daha sonra naylon torba içine homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra koyulmuştur. Üzüm ekstratı uygulanmış ve uygulanmamış buğday, arpa, mısır örneklerinin her birinden 8'er adet olmak üzere gruplandırılmış oda sıcaklığı (22) ve 40 °C de torbaların ağzı açık olacak şekilde 1 ve 3 aylık periodlarda bekletilmiştir. Bu süreler sonunda örneklerde kuru madde, su aktivitesi, protein, yağ, ham kül, pH tayinleri ile birlikte mikrobiyolojik analizler (maya, küf, LAB) yapılmıştır.

3.2.2. Kimyasal ve Mikrobiyolojik analizler

Araştırmada kullanılan yem materyallerinde kuru madde, ham protein, ham yağ ve ham kül analizleri Weende analiz yöntemine göre saptanmıştır (Akyıldız 1984).

Çalışmada gerek depolama öncesi, gerek depolama süreleri sonrasında da LAB, maya ve küf sayılarının saptanmasına yönelik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 25 g'lık örnekler steril peptonlu suda 2 dakikadan az olmamak koşulu ile karıştırılıp mikroorganizmaların mümkün olduğu ölçüde materyalden ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen stok materyalden logaritmik seride dilüsyonlar hazırlanarak ekim işlemi yapılmıştır. LAB için

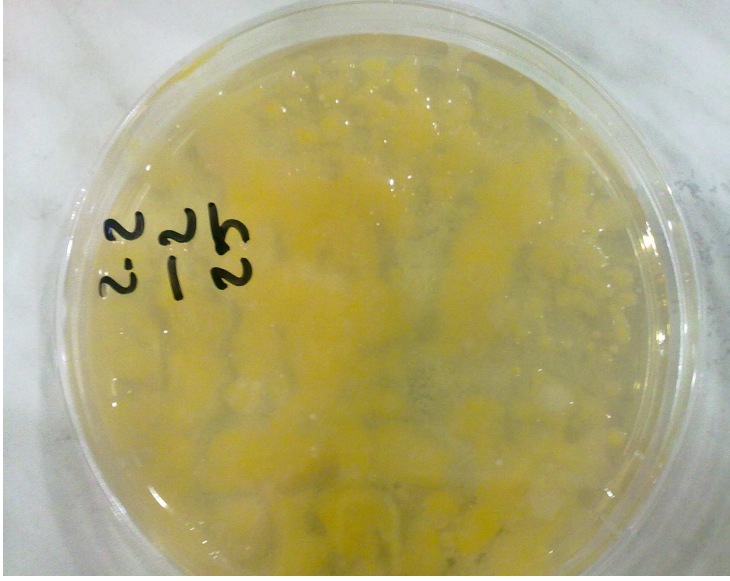
ekim ortamı olarak lactobacillus agar (MRS Agar), maya ve küf için Yeast extract glucose chloramphenicol agar (YGC Agar), kullanılmıştır. Örnekler için LAB sayımları 30°C sıcaklıkta 2 günlük, maya ve küf için 30°C sıcaklıkta 2 günlük inkübasyon dönemlerini takiben gerçekleştirilmiştir (Seale ve ark. 1990). Örneklerden saptanan LAB, maya ve küf sayıları logaritmik koliform üniteye (logcfu/g) çevrilmiştir.

3.2.3. İstatistik Analizler

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde varyans analizi, gruplar arası farklılığın belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. (Soysal 1998). Bu amaçla Statistica paket programı (1994) kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Mikrobiyolojik analiz görüntüleri



Şekil 5. Buğday' da Mrs Agar besi ortamında LAB gelişimi



Şekil 6. Mısır'da gelişen küflerden bir görüntü

Araştırmada elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

zm ekstratının ilavesinin farklı depolama süresi ve şartlarında mısır da su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH, LAB, maya ve kf gelişimine olan etkileri izelge 6 da verilmiştir.

Çizelge 6. Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve şartlarında mısır da su aktivitesi, ham yağ, ham kül, ham protein, pH, kuru madde, küf ve laktik asit bakterisi (LAB) gelişimine olan etkileri (logcfu/g)

Depolama Süresi (D.Sü.)	Depolama Sıcaklığı (D.Sı.)	Üzüm Ekstraktı İlavesi (Ü.E.)	Su Aktivitesi	Ham Yağ	Kuru Madde	Ham Kül	Ham Protein	pH	Küf	LAB	
1 Ay	22°C	YOK	0,382 ab	2,825 a	91,550 b	1,230 bc	8,549 a	5,887 d	10,325 b	8,012 b	
1 Ay	22°C	VAR	0,377 ab	2,880 a	91,500 b	1,335 a	8,914 a	5,812 e	5,075 c	7,512 b	
1 Ay	41°C	YOK	0,386 ab	2,740 a	92,425 a	1,293 ab	8,846 a	5,688 g	7,450 bc	7,175 b	
1 Ay	41°C	VAR	0,412 a	3,050 a	92,525 a	1,395 a	8,570 a	5,733 f	3,975 c	5,700 b	
3 Ay	22°C	YOK	0,361 b	0,970 c	90,050 d	1,163 bc	6,885 b	5,990 a	20,150 a	16,350 a	
3 Ay	22°C	VAR	0,345 bc	1,768 b	90,700 c	1,235 bc	7,249 b	5,985 ab	3,000 c	10,525 b	
3 Ay	41°C	YOK	0,304 d	2,668 a	91,600 b	1,143 c	6,780 b	5,960 b	10,950 b	0,000 c	
3 Ay	41°C	VAR	0,325 cd	3,239 a	91,450 b	1,200 bc	6,996 b	5,928 c	11,450 b	0,393 c	
SEM			0,0068	0,1435	0,1510	0,0192	0,1707	0,0197	1,0571	1,0116	
Varyasyon kaynağı			P düzeyleri								
Depolama Süresi			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,799404
Depolama Sıcaklığı			0,2221	<0,001	<0,001	0,560053	0,473263	<0,001	0,309722	<0,001	<0,001
Üzüm Ekstraktı İlavesi			0,4189	0,0073	0,3494	0,0070	0,2408	0,0157	<0,001	0,1058	<0,001
D.Süresi x D.sıcaklığı			0,0013	<0,0001	0,4943	0,1337	0,5817	<0,001	0,4856	<0,001	<0,001
D.Sıcaklığı. x Ü.E ilavesi			0,0406	0,9620	0,2705	0,8797	0,1689	0,0012	<0,001	0,2459	<0,001
D.Sürsi. x Ü.E. ilavesi			0,6195	0,1025	0,4425	0,5044	0,3867	0,7883	0,0955	0,4404	<0,001
D.Sü. x D.Sı. x Ü.E.			0,8682	0,4238	0,1123	0,9139	0,3853	<0,0001	0,0019	0,1158	<0,001

❖ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, (P<0,05)

Çizelge 6'da görüldüğü gibi LAB ve küf sayıları sırasıyla 3,000 –20,150, 0–16,350 logcfu/g arasında değişim göstermiştir. Depolama süresi ve üzüm ekstratı ilavesinin küf sayılarına etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Depolama süresinin ve üzüm ekstratı ilavesinin LAB sayısı üzerine önemli bir etkisi gözlenmemiştir ($P>0,05$).

Depolama sıcaklığının ($P<0,01$) LAB üzerindeki etkileri istatistiksel anlamda önemli bulunurken, Depolama süresinin ve üzüm ekstratı ilavesinin ($P<0,05$) önemli bir fark yaratmadığı görülmüştür ($P>0,05$). Küf sayılarında ise depolama şartlarının etkili olduğu gözlenmiştir ($P<0,01$). Faktörler arasında ikili ve üçlü interaksiyonların önemli olduğu bulgularına rastlanmıştır.

Su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH değerleri sırasıyla 0,386-0,412, %0,970-3,239, %6,780-8,914,% 90,050-92,525, %1,143-1,395, 5,733-5,990 arasında değişim göstermiştir. Depolama süresinin su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, kül, pH değerleri üzerine istatistiksel anlamda etkisi olduğu saptanmıştır ($P<0,01$). Depolama sıcaklığı ham yağ, kuru madde ve pH üzerine etkili olup ($P<0,01$) su aktivitesi, ham kül ve ham protein üzerine önemli bir etki yaratmamıştır ($P>0,05$).

Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve şartlarında buğday su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH, LAB, maya ve küf gelişimine olan etkileri çizelge 7'de özetlenmiştir.

Çizelge 7. Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve sıcaklıklarında buğday da su aktivitesi, ham yağ, kuru madde, ham kül, ham protein, pH, küf ve LAB gelişimine olan etkileri (logcfu/g)

Depolama Süresi (D.Sü.)	Depolama Sıcaklığı (D.Sı.)	Üzüm Ekstraktı İlavesi (Ü.E.)	Su Aktivitesi	Ham Yağ	Kuru Madde	Ham Kül	Ham Protein	pH	Küf	LAB
1 Ay	22°C	YOK	0,440 ab	1,040 ab	90,775 d	2,640 a	12,349 a	6,584 ab	6,375 a	16,000 b
1 Ay	22°C	VAR	0,455 a	1,005 ab	91,698 c	2,632 a	12,790 a	6,426 d	5,475 a	26,500 a
1 Ay	41°C	YOK	0,399 b	1,085 ab	92,150 b	2,535 a	12,544 a	6,282 ef	0,175 b	2,500 d
1 Ay	41°C	VAR	0,398 b	1,097 ab	91,997 c	2,645 a	12,531 a	6,228 f	0,350 b	0,550 d
3 Ay	22°C	YOK	0,333 c	0,800 b	91,360 cd	1,895 b	9,634 bc	6,619 a	0,047 b	8,925 c
3 Ay	22°C	VAR	0,320 c	1,250 a	91,973 c	1,957 b	9,879 ab	6,479 cd	0,030 b	14,475 b
3 Ay	41°C	YOK	0,325 c	1,077 ab	92,988 ab	1,933 b	9,007 cd	6,512 bc	0,020 b	4,600 cd
3 Ay	41°C	VAR	0,334 c	1,242 a	93,162 a	1,940 b	8,755 d	6,347 e	0,027 b	6,400 cd
SEM										
Varyasyon kaynağı		P düzeyleri								
Depolama Süresi		<0,001	0,6698	0,0024	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,0135
Depolama Sıcaklığı		0,0459	0,2290	<0,001	0,4814	0,0213	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Üzüm Ekstraktı İlavesi		0,8044	0,0853	0,0769	0,1018	0,5735	<0,001	0,6623	<0,001	<0,001
D.Sü. x D.Sı.		0,0257	0,6917	0,1878	0,2781	0,0313	0,0015	<0,001	<0,001	<0,001
D.Sı. x Ü.E.		0,9193	0,4788	0,0853	0,5434	0,2095	0,2884	0,5145	<0,001	<0,001
D.Sü. x Ü.E.		0,6856	0,0654	0,9836	0,7513	0,5619	0,2158	0,6710	0,7765	0,7765
D.Sü. x D.Sı. x Ü.E.		0,3895	0,3239	0,4567	0,1018	0,9560	0,0901	0,5336	0,0482	0,0482

❖ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. (P<0,05)

Çizelge 7’de görüldüğü gibi LAB ve küf sayıları sırasıyla 0,550-26,500, 0,020-6,375 logcfu/g arasında değişim göstermektedir. Depolama süresi, üzüm ekstratı ilavesinin depolama sıcaklığının küf ve LAB sayılarına etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama süresi küf sayıları üzerindeki etkileri istatistiksel anlamda önemli bulunurken ($P<0,001$), üzüm ekstratı ilavesi önemli bir fark yaratmadığı görülmüştür ($P>0,05$). LAB sayılarında ise üzüm ekstratı ilavesi etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken ($P<0,001$), depolama süresi ($P>0,05$) önemli bir fark yaratmamıştır. Özellikle depolama süresi ($P<0,05$) ve depolama sıcaklığı ($P<0,001$) önemli düzeyde etkili olurken, depolama sıcaklığı ve üzüm ekstratı faktörleri arasında önemli etkileşimler olduğu gözlemlenmiştir.

Su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH değerleri sırasıyla 0,320-0,455, %0,800-1,250, %8,755-12,790, % 91,360-92,988, % 1,895-2,645, 6,228-6,619 arasında değişim göstermektedir. Depolama süresi su aktivitesi, ham protein, pH üzerine istatistiksel anlamda etkide bulunurken ($P<0,001$), ham yağ ve kuru madde üzerinde önemli bir fark yaratmadığı görülmüştür ($P>0,05$). Depolama sıcaklığının kuru madde ve pH üzerine etkisi var iken ($P<0,001$), üzüm ekstratının da sadece pH üzerine istatistiksel bir anlamda etkisi olduğu görülmüştür ($P<0,001$). Faktörler arası etkileşime rastlanmamıştır.

Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve sıcaklıklarında arpa da su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH, LAB, maya ve küf gelişimine olan etkileri Çizelge 8’ de özetlenmiştir.

Çizelge 8. Üzüm ekstratı ilavesinin farklı depolama süresi ve sıcaklıklarında arpa da su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH, LAB, maya ve küf gelişimine olan etkileri (logcfu/g)

Depolama Süresi (D.Sü.)	Depolama Sıcaklığı (D.Sı.)	Üzüm Ekstraktı İlavesi (Ü.E.)	Su Aktivitesi	Ham Yağ	Kuru Madde	Ham Kül	Ham Protein	pH	Küf	LAB
1 Ay	22°C	YOK	0,403 bc	0,403 d	91,485 d	2,392	10,324 a	5,928 a	1,250 c	9,550 d
1 Ay	22°C	VAR	0,374 cd	0,379 d	90,298 e	2,485	10,924 a	5,962 a	3,375 a	27,400 b
1 Ay	41°C	YOK	0,439 ab	1,163 c	93,265 ab	2,382	10,661 a	5,708 c	4,175 a	34,175 a
1 Ay	41°C	VAR	0,461 a	1,342 abc	91,963 cd	2,425	10,338 a	5,848 b	2,600 b	26,525 b
3 Ay	22°C	YOK	0,353 d	1,477 a	91,375 d	2,422	7,994 c	5,823 b	0,425 c	3,900 e
3 Ay	22°C	VAR	0,334 d	1,230 bc	92,275 cd	2,457	7,016 d	5,933 a	0,725 c	2,200 e
3 Ay	41°C	YOK	0,331 d	1,385 ab	93,925 a	2,368	8,931 b	5,844 b	0,300 c	11,050 d
3 Ay	41°C	VAR	0,357 d	1,332 abc	92,925 bc	2,487	9,230 b	5,832 b	0,350 c	19,275 c
SEM			0,0093	0,0771	0,2200	0,0154	0,2413	0,0141	0,2810	2,0311
Varyasyon kaynağı			P Düzeyleri							
Depolama Süresi			<0,001	<0,001	<0,001	0,6843	<0,001	0,7408	<0,001	<0,001
Depolama Sıcaklığı			0,0048	<0,001	<0,001	0,4418	<0,001	<0,001	0,1270	<0,001
Üzüm Ekstraktı İlavesi			0,9951	0,4592	0,0090	0,02519	0,4669	<0,001	0,3971	<0,001
D.Sü. x D.Sı.			0,0053	<0,001	0,7903	0,7143	<0,001	<0,001	0,0180	0,9012
D.Sı. x Ü.E.			0,0228	0,0488	0,0369	0,7757	0,5217	0,6611	<0,001	<0,001
D.Sü. x Ü.E.			0,7063	0,2671	0,0150	0,8705	0,0927	0,0523	0,8497	0,3414
D.Sü. x D.Sı. x Ü.E.			0,8674	0,9591	0,0619	0,2774	<0,001	<0,001	0,0030	<0,001

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, (P <0,05)

Çizelge 8’de görüldüğü gibi LAB ve küf sayıları sırasıyla 2,031 1- 34,175 ve 0,2810-4,175 arasında değişmektedir. Depolama süresi, depolama sıcaklığı ve üzüm ekstratı ilavesi LAB sayısı üzerine istatistiksel anlamda etkili olduğu saptanmış olup ($P<0,001$), depolama sıcaklığının küf sayımına istatistiksel anlamda etkisi olduğu saptanmakla beraber ($P<0,001$) depolama sıcaklığı ve üzüm ekstratı ilavesinin küf sayımı üzerine etkisi istatistiksel anlamda görülmemiştir ($P>0,05$).

Su aktivitesi, ham yağ, ham protein, kuru madde, ham kül, pH değerleri sırasıyla 0,331 - 0,461, % 0,379 -1,477, % 7,016 – 10,924 , % 90,298 -93,925, % 2,368- 2,487, 5,708 – 5,962 arasında değişim göstermektedir. Depolama süresinin su aktivitesi, ham yağ, kuru madde, ham protein üzerine istatistiksel anlamda etkisi olup ($P<0,001$) ham kül ve pH üzerine bir etkisi olmadığı saptanmıştır ($P>0,05$). Depolama sıcaklığının ham yağ, kuru madde, ham protein, pH üzerine istatistiksel anlamda etkisi olup ($P<0,001$), su aktivitesi ve ham kül üzerine etkisi olmadığı görülmüştür ($P>0,05$). Üzüm ekstratı ilavesinin pH üzerine istatistiksel bir anlamda etkisi olduğunu gözlenmiştir ($P<0,001$). Faktörler arasında ikili, üçlü interaksiyonların önemli olduğu görülmüştür.

4.1. TARTIŞMA

Üzümde bulunan Resveratrolün funguslara karşı toksik etkisinin, üzüm hastalıklarına neden olan *Botrytis. cinerea'* ya karşı etkili olduğu kaynaklarda belirtilmektedir (Adrian ve ark. 1997). Laboratuvar çalışmalarında da ipliksi yapıda olan *Penicillium expansum* and *Aspergillus niger* üzerinde de etkili olduğu bildirilmiştir (Filip ve ark. 2003). Başka bir çalışmada ise depolanan elmalarda da fungus gelişimini engelleyici etkileri olduğu görülmektedir (Gonzalez Ureña ve ark. 2003).

Mısırdaki mikotoksik karakterde olan türlerin gelişimini kontrol etmek amacıyla yapılan çalışmalara, resveratrol, p-hydroxybenzoic acid türevleri ile üzüm kabuğu ekstraktının etkili olduğunu gözlemlenmiş, bu bulgular tezdeki sonuçlarla paralellik göstermiştir (Fanelli ve ark. 2003).

Yapılan bir çalışmada doğal olarak fungus bulaşmış buğday örneklerine sentetik resveratrol uyguladığında fungus gelişiminin %60' dan fazla engellendiği tespit edilmiş ve kullanılan resveratrolün maliyetinin yüksek olduğu ve daha ucuz, etkili resveratrol kaynaklarının bulunması gerektiği sonucuna varılmıştır (Fuller 2004).

Mısırdaki yaygın olarak bulunan fungusların *Fusarium*, *Hyphopichia*, *Penicillium*, *Eurotium* olduğu ifade edilen bir çalışmada son zamanlarda küf mikotoksinlerinin önlenmesinde sentetik fungisidler yerine farklı bitkilerden elde edilen yağlar kullanıldığında bazı fungusların gelişiminin engellendiği saptanmıştır (Velluti ve ark. 2004). Ancak doğal olarak bulaşma olan danelerde bu yağların etkisinin zayıf olduğu belirlenmiştir (Marín ve ark, 2003, 2004).

Bir başka çalışmada kırmızı şarap yapımında kullanılan üzüm kabuklarından elde edilen dondurularak kurutulmuş, resveratrol içeren Res Vin in, sentetik trans-resveratrole benzer bir etki yaptığı ve sentetik resveratrole göre daha ekonomik olduğu bu tür uygulamalarda kullanılabileceği belirtilmiştir (Fanelli ve ark. 2003). Diğer yandan resveratrolün buğday ve mısırdaki küfler tarafından üretilen ochratoxin A ve ZEA adı verilen mikotoksinleri kontrol etmek amacıyla kullanılabileceği gözlenmiştir (Fanelli ve ark. 2003). Bir başka araştırmada ise doğal olarak bulaşma olan mısır örneklerinde resveratrolün etkisi incelenmiştir (Marin ve ark. 2003, 2004).

Başka bir çalışmada *F. Graminearum* aşılınmış olan örneklerde trans resveratrol ya da Res Vin in toksin birikiminde %80 azalmaya etkisi olduğu belirtilmiştir. Trans-resveratrol ve Res Vin'i etanol ile sulandırılıp, 25 mg/lt resveratrol olacak şekilde meydana gelen karışımdan 4 ml olacak şekilde daneler üzerine ilave edilip, etanolla sulandırılıp,

kullanılmıştır (David ve ark. 2008).

Başka bir araştırmada ise *P. verrucosum* veya *A. Westerdijkiae* gibi fungusları içeren doğal buğday örneklerini 0,85–0,99 su aktivitesi değerlerinde olacak 15, 25⁰C ve 30⁰C de 28 günlük 200 µg/g olacak şekilde resveratrol uygulamışlar ve depolama sonucunda funguslarda %60 azalma olduğunu kaydetmişlerdir. 50 µg/g bitkisel yağlar ve aynı miktarda resveratrol uygulanmış olan buğday örneklerinde yağlar etkili olmamıştır, ancak resveratrol uygulanmış olan örneklerde küfler %50 oranında etki gözlenmiştir. Gerek bitkisel yağ gerekse resveratrol miktarı 500 µg /g a yükseltildiğinde tüm uygulamalarda %90 inhibisyon olduğu belirlenmiştir. Ayrıca su aktivitesi, depolama sıcaklığı ve süresi ile resveratrol küfleri önemli bir şekilde etkilediği belirtilmektedir (Christensen ve Kaufmann 1969).

6.SONUÇ

Araştırma bulgularına göre farklı hammaddelerin besin madde kayıpları depolama şartları, depolama süresi ve üzüm ekstratı ilavesinden etkilenmiştir. Ham protein miktarı 3 tahılda da (mısır, buğday, arpa) depolama süresine bağlı olarak düşüş göstermiştir. Aynı şekilde su aktivitesi değerleri de her 3 tahılda da depolama süresine bağlı olarak etkilenmiştir.

Mısır da üzüm ekstratı ilavesi ile küf oluşumu önlenmiştir. Ancak, buğday ve arpa da aynı etki gözlenmemiştir. Bunun yanı sıra üzüm ekstratı ilavesiyle buğday ve arpa da LAB sayısında artış sağlanırken, mısır da ise benzer etki gözlenmemiştir. Diğer yandan mısıra baktığımızda depolama süresi 1 ve 3 aylık, depolama sıcaklığı 22 °C nem miktarı %57 olan numunelerde küf sayılarında oldukça yüksek bir düşüş gözlenmiştir. Buğday da ise yine depolama süresi 1 ve 3 aylık olan, depolama sıcaklığı 22 °C ve nem miktarı %57 olan numunelerde ise LAB sayısında artış gözlenmiştir. Arpa da ise özellikle depolama süresi 1 aylık 22 °C'lik nem miktarı % 57 olan numunelerde LAB sayısında oldukça yüksek bir artış gözlenmiştir.

Bu sonuçlara göre hammaddelerin besin madde kapsamları ile mikroorganizma içerikleri açısından depolanma öncesi ve sonrası arasında oldukça farklılık bulunmaktadır. Bu farkların en aza indirilmesi ancak ideal depolama şartlarının ve süresinin sağlanması ile mümkündür. Üzüm ekstratı ilave edildiği yemlere koruyucu etki yaparken, bu etkinin özellikle oda sıcaklığında bulunan numunelerde olumlu olduğu saptanmıştır. Yüksek sıcaklıkta ise olumsuz ya da hiçbir etkisi bulunmamıştır.

8. ÖZGEÇMİŞ

11.06.1986 tarihinde Ankara'da doğdum. Babam'ın işinden dolayı İzmit'te ikamet etmeye başladık. İlkokul ve ortaokulu İzmit'te okudum. Liseyi de Gölcük Barbaros Hayrettin Süper Lisesi'nde tamamladım. Ardından 2005 yılında Üniversite sınavlarında kazandığım Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesine başladım. 2009 yılında mezun olduğum Zootečni bölümünden sonra, aynı sene Yüksek Lisans eğitimime başladım.

7. KAYNAKLAR

- Adrian M, Jeandet P, Veneau J, Weston L.A ve Bessis R (1997). Biological activity of resveratrol, a stilbenic compound from grapevines, against *Botrytis cinerea*, the causal agent for grey mould. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1689–1702.
- Akyıldız A.R (1984). Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. Ankara Univ. Ziraat Fak. Yayınları: 895, Uygulama Kılavuzu: 213 (ilaveli ikinci baskı), 236, Ankara.
- Alçıçek A, Ayhan V, Ergül M (1992). Yemlerde Bulunan Bazı Mikroorganizmaların Yem Kalitesi ve Kanatlı Hayvanlar Üzerine Olan Etkileri. *Tavukçulukta Verimlilik Sempozyumu*.
- Altıok E (2003). Production of Grape Seed Proanthocyanidins. Izmir Institute of Technology, İzmir, Turkey,
- Anonim a (2007). Tarımda Çin zirvede, Türkiye'nin ağırlığı azalıyor. http://haber.mynet.com/detail_news/?type=Economy&id=N67249&date
- Arnous A & Meyer A.S (2008). Comparison of methods for compositional characterization of grape (*Vitis vinifera L.*) and apple (*Malus domestica*) skins. *Food and Bioproducts Processing*, 86(7): 9–86.
- Auger C, Teissedre P.L, Gerain P, Lequeux N, Bornet A, Serisier S, Besançon P, Caporiccio B, Cristol J.P, Rouanet J.M (2005). Dietary wine phenolics catechin, quercetin, and resveratrol efficiently protect hypercholesterolemic hamsters against aortic fatty streak Accumulation. *Journal of Agricultural and Food Chemical*, 53:2015–2021. 37.
- Ayhan V (1991). Yemlerin Depolanması TUIYAP EGE-MARMARA Dilimi ABAV Toplantısı, Basmacıoğlu ve Ergül, “Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları”.
- Ayhan V ve Alçıçek A (1995). Yemlerde küf mantarları ve genel etkileri. *Yem Magazin*, Eylül. 2: 40-44.

- Cairns V ve Magan N (2003). Impact of essential oils on growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus ochraceus* on a wheat-based substrate. In Advances in Stored Product Protection Eds. P.Credland, D.M. Armitage, C.H. Bell, P.M. Cogan. CABI International, pp. 479-485.
- Christensen C M ve Kaufmann H. H. (1969). Granin Storage: The role of fungi in quality loss. University of Minnesota Press, Minneapolis, pp 153 .
- Aldred D, Cairns-Fuller V ve Magan N (2008). Environmental factors affect efficacy of some essential oils and resveratrol to control growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *A. westerdijkiae* on wheat grain. Journal of Stored Products Research, Volume 44, 4: 341-346&.
- Douillet B, Jeandet P, Adrian M, Bessis R (1999). Changes in the phytoalexin content of various vitis spp in response to ultraviolet C elicitation. Journal of Agricultural and Food Chemical, 47: 4456-4461 &.
- Ergül M (1997). Yemler Bilgisi ve Teknolojisi. III. Baskı. E. Ü. Ziraat Fak. Yayınları, No:487, İzmir.
- Ergül M (2005). Karma Yemler ve Karma Yem Teknolojisi. Ege Üniversitesi Yayınları Ziraat Fakültesi, Yayın No: 384: 169–188.
- Ergün A, Tuncer Ş.D, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan M.K, Küçükersan S, Şehu A (2004). Yemler Yem Hijyeni ve Teknolojisi, 237–262&.
- Fanelli C, Taddei F, Trionfetti Nisini P, Jestoi M, Ricelli A, Visconti A, Fabbri A.A (2003). Use of resveratrol and BHA to control growth and mycotoxin production in wheat and maize seeds. Aspects of Applied Biology, 68:63-71.
- Filip V, Plockova M, Smidrkal J, Spickova Z, Melzoch K, ve Schmidt S (2003). Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. Food Chemistry, 83: 585–593.

- Fuller V.C (2004). Dynamics and control of Ochratoxigenic strains of *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus ochraceus* in the stored grain ecosystem. PhD Thesis, pp:291&
- Gonzalez-Urena ve ark (2003). Improving Postharvest Resistance in Fruits by External Application of Trans-Resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemical*, vol. 51:82-89.
- Guerrero R.F, Liazid A, Palma M, Puertas B, Gonzalez-Barrio R, Gil-Izquierdo A, Garcia-Barroso C, Cantos-Villar E (2009). Phenolic characterisation of red grapes autochthonous to Andalusia. *Food Chemistry*, 112: 949–955.
- Gülcü M, Demirci A.Ş, Güner K.G (2008). Siyah Üzümün Zengin Besin içeriği ve Sağlık Açısından Önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Basmacıoğlu H ve Ergül M (2003). Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları. *Hayvansal*, 44(1): 9-17.
- Harris B (1998). The battle to minimise losses due to mycotoxins. *World Poultry, Magazine on Production, Processing & Marketing* Volume 14, No: 4.
- Hernandez-Jimenez A, Gomez-Plaza E, Martinez-Cutillas A, Kennedy J.A (2009). Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes. *Journal of Agricultural Food Chemical*, 57:10798–10803. 30.
- Huang D, Ou B, Prior R.L (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays *Journal of Agricultural Food Chemical*, 53:1841–1856.32.
- Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94:550-557.
- Karahocagil P, Ege H (2004). Karma Yem Sanayi. *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü. Bakış*, 5 (9): 1–4.

- Karadeniz F, Durst R.W, Wrolstad R.E (2000). Polyphenolic composition of raisins. *Journal of Agricultural Food Chemical*, 48: 5343–5350.
- Kubena L.F, Harvey R.B, Phillips T.D, Clement B.A (1993). Effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate on aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science*, 72:651-657.
- Lacopini P, Baldi M, Sorchi P, ve Sebastiani L (2008). Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and Resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal Food Composition and Analysis*, 21(8): 598-598.
- Langcake P, Pryce RJ (1977). A new class of phytoalexins from grapevines. *Experientia*, 33: 151-152.
- Magan N, Olsen, M (2004). *Mycotoxins in Food: Detection and Control*. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK.
- Makris D.P, Boskou G, Andrikopoulo N.K, Kefalas P (2008). Characterisation of certain major polyphenolic antioxidants in grape (*Vitis vinifera*) stems by liquid chromatography-mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 226:1075–1079.
- Marín S, Velluti A, Muñoz A, Ramos A.J, ve Sanchis V (2003). Control of fumonisin B1 accumulation in naturally contaminated maize inoculated with *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*, by cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarosa essential oils. *European Food Research and Technology*, 271: 332–337.
- Marín S, Velluti A, Ramos A.J ve Sanchis V (2004). Essential oils inhibition of zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* in maize grain. *Food Microbiolog*, 21: 313–318.
- Marín S, Ramos D, Cuevas ve Sanchis V (2006). *Fusarium verticillioides* and *Fusarium graminearum* Infection and Fumonisin B1 and Zearalenone Accumulation in Resveratrol-treated Corn. *Food Science and Technology International*, 12(4):353–359.

- Maciorowski K.G, Herrera P, Jones F.T, Pillai S.D, Ricke S.C (2007). Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. *Animal Feed Science and Technology*, 133:109–136.
- Meyer A.S, Yi O.S, Pearson D.A, Waterhouse A.L, Frankel E.N (1997). Inhibition of human lowdensity lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural Food Chemical*, 45: 1638–1643.
- Montealegre R.R, Peces R, Vozmediano J.L, Gascuena J.M, Romero G. E (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19:687–693.
- Nassif A (1991). Mycotoxin Control. *Poultry International*, September, p:40-42.
- Oğuz H, Kurtoğlu V, Ortatatlı M (2001). Preventive efficiency of dietary zeolite (clinoptilolite) in broiler chickens during aflatoxicosis. *Proceedings XV European Symposium on the Quality of Poultry Meat*. 9-12 September, Kuşadası-Turkey, p:145-150.
- Pastrana-Bonilla E, Akoh C.C, Sellaphan S, Krewer G (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grape. *Journal of Agricultural Food Chemical*, 51:5947-4503 26.
- Poudel, P. R, Tamura H, Kataoka I, Mochioka R (2008). Phenolic compounds.
- Raju M.V.L.N, Devegowda G (2000). Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *British Poultry Science*, 41:640-650.
- Rayne S, Karacabey E, Mazza G (2008). Grape Cane Waste as a Source of Trans- Resveratrol and Trans-Viniferin: High-Value Phytochemicals with Medicinal and Anti-Phytopathogenic Applications. *Industrial Crops and Products*, 27(3): 335-340.

- Romero P, Maite IG, Roza M, Lamuela RM (1999). Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1533-1536.
- Romero-Pérez A. I, Lamuela-Raventós R. M, Waterhouse A. L (1996). De la Torre-Boronat, M. C. Levels on cis- and transresveratrol and their glucosides in white and rose´ Vitis vinifera wines from Spain. *Journal of Agricultural Food Chemical*, 44:2124-2128.
- Rivero-Perez M.D, Muniz P, Gonzalez-Sanjose M.L (2008). Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. *Food and Chemistry Toxicology*, 46:2815–2822 35.
- Rusznayak S.T, Szent-györgyi A, Vitamin P (1936). *Flavonols as Vitamins in Nature* . - London [u.a.] : Nature, 1476-4687, Vol. 138, No. 3479 (1936), p. 27.
- Sarıççek B.Z, Kılıc U (2002). Uzum Cibresinin Yem Değerinin Belirlenmesi Uzerine Bir Arastırma. *OMU. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17, 1:9-12.
- Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H (1996). Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *Journal of Agricultural Food Chemical*, 44:37–41.
- Schieber A, Stintzing F.C, Carle R (2001). By-Products of Plant Food Processing as a Source of Functional Compounds-Recent Developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12: 401-413.
- Seale D.R, Pahlow G, Spoelstra S.F, Lindgren S, Dellaglio F, ve Lowe, J.F (1990). Methods for the microbiological analysis of silage in: “Grass and Forage Reports” (ed. S. Lindgren and K.L. Pettersson), *Proceedings of the Eurobac Conference 1986*, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, pages 147–164.
- Soleas GJ, Diamondis EP, Goldberg DM (1997). Resveratrol a molecule whose time has come and gone. *Clinical Biochemistry*, 30: 91-113.

Soysal İ (1992). Biometrinin Temel Prensipleri. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları No. 95, 155s Tekirdağ.

Trevor, K.S, Macdonald, E.J, Haladı S (2001). Current concepts in feed-borne mycotoxin and the potential for dietary prevention of mycotoxicoses. Science and Technology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium.

Velluti A, Marín S, Gonzalez P, Ramos A.J, ve Sanchis V (2004). Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium graminearum* on maize-based agar media. Food Microbiology 21: 649–656.

Yavuz H (2001). Çiftlik Havvyalarının Beslenmesinde Temel Prensipler ve Karma Yem Üretiminde Bazı Bilimsel Yaklaşımlar. Farmavet İlaç San ve Tic A.Ş, İstanbul.