

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI MEYVE-SEBZE VE ATIKLARININ TOPLAM FENOLİK MADDE,
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ VE ENZİMATİK ESMERLEŞME ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Zuhal ŞAHİN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Fatih SÖNMEZ

Kasım 2022

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI MEYVE-SEBZE VE ATIKLARININ TOPLAM FENOLİK MADDE,
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ VE ENZİMATİK ESMERLEŞME ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Zuhal ŞAHİN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Bu tez 22 / 11 /2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

İmza

Zuhal ŞAHİN

22.11.2022

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmalarımın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Fatih SÖNMEZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım için örnek temininde desteklerini esirgemeyen DÖHLER GRUP A.Ş.'a, IRMAK zeytinyağı fabrikasına teşekkürlerimi sunarım.

Çankırı Karatekin Üniversitesinde görevli sayın Doç. Dr. Şevki ADEM hocama, çalışmalarım da her zaman beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Öğr. Gör. Tülay DURAN'a, doktora eğitimim boyunca yoğun çalışmalarımı gönül rahatlığı ile yapmama destek olan ablam Hülya ÇETİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmalarım boyunca manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen eşim Cemil ŞAHİN'e, motivasyon kaynaklarım oğlum Emre ve kızım Erva'ya varlıkları için çok teşekkür ederim. Tabiki tüm eğitim hayatım boyunca bana güvenip ve her zaman arkamda olan babam Tuncay GÜNEŞLİ, annem Zeynep GÜNEŞLİ ve canım kardeşlerime ayrı ayrı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Serbest Radikaller.....	3
2.2. Serbest Radikal Kaynakları.....	4
2.3. Serbest Radikal Türleri.....	5
2.4. Serbest Radikallerin Etkileri.....	6
2.5. Bazı Radikalik Reaksiyonlar.....	7
2.6. Antioksidanlar.....	10
2.7. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	11
2.7.1. Sentetik antioksidanlar.....	13
2.7.2. Doğal antioksidanlar.....	14
2.8. Antioksidan Aktivitesi Ölçüm Yöntemleri.....	26
2.8.1. Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite metodu (TEAC veya ABTS).....	28
2.8.2. DPPH radikali yakalama kapasitesi metodu (DPPH).....	29

2.8.3. Folin-ciocalteu ayracı (FCR) ile toplam fenolik yöntemi.....	30
2.9. Enzimler.....	31
2.9.1. Polifenol Oksidaz Enzimi.....	32
2.9.2. Enzimatik esmerleşme.....	34
2.9.3. Enzimatik Olmayan Esmerleşmeler.....	35
2.10. Çalışmada Kullanılan Materyaller.....	35
2.10.1. Kocayemiş (<i>Arbutus unedo</i>).....	35
2.10.2. Ayva (<i>Cydonia oblonga</i> Miller).....	38
2.10.3. Nar (<i>Punica granatum</i> L.).....	41
2.10.4. Pirina.....	43
2.10.5. Siyah havuç (<i>Daucus carota</i> ssp. <i>sativus</i> var. <i>atrorubens</i> Alef).....	44
2.10.6. Mürdüm eriği (<i>Prunus domestica</i> subsp. <i>Insititia</i>).....	45
2.10.7. Kuşburnu (<i>Rosa canina</i>).....	46
2.10.8. Elma (<i>Malus domestica</i>).....	48
 BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	50
3.1. Materyal.....	50
3.2. Yöntem.....	50
3.2.1. Kullanılan araç-gereçler.....	50
3.2.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler.....	50
3.2.3. Kimyasal çözeltilerin hazırlanışı.....	51
3.2.4. Ekstraksiyon.....	52
3.2.5. Toplam fenolik madde tayini.....	52
3.2.6. DPPH aktivite ölçümü.....	53
3.2.7. ABTS aktivite ölçümü.....	54
3.2.8. PPO enzim inhibisyon ölçümü.....	54
3.2.9. Renk ölçümü.....	55

BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA BULGULARI.....	56
 BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	71
 KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ	93



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

a_0^*	: Referans madde kırmızılık/yeşillik kromatik bileşeni
a^*	: Örnek kırmızılık/yeşillik kromatik bileşeni
ABTS	: 2,2'-azonobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
b_0^*	: Referans madde sarılık/mavilik kromatik bileşeni
b^*	: Örnek sarılık/mavilik kromatik bileşeni
BHA	: Bütillendirilmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksi tolueen
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
ET	: Elektron transfer
FCR	: Folin-Ciocalteu ayırıcı
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
HAT	: Hidrojen atom transfer
IUB	: Uluslararası biyokimya birliği
L_0^*	: Referans madde siyah/beyazlık kromatik bileşeni
L^*	: Örnek siyah/beyazlık kromatik bileşeni
PPO	: Polifenol oksidaz
RGB	: Üç boyutlu renk ölçüm parametresi
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TEAC	: Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite
TPC	: Toplam fenolik içerik
XYZ	: Üç boyutlu renk ölçüm parametresi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Orbitaler ve türleri	3
Şekil 2.2. Alkanın radikalik klorlanması.....	8
Şekil 2.3. Radikal kombinasyonu ve radikal bölünmesi reaksiyonu.....	8
Şekil 2.4. Anti- Markovnikov katılması	9
Şekil 2.5. Otoksidasyon reaksiyon mekanizması.....	10
Şekil 2.6. Antioksidanların sınıflandırılması.....	12
Şekil 2.7. Butillenmiş hidroksi toluene (BHT)'nin molekül şekli.....	13
Şekil 2.8. Butillenmiş hidroksi anisol (BHA)'nin molekül şekli.....	14
Şekil 2.9. Melatonin molekül şekli.....	15
Şekil 2.10. Bazı organosülfür bileşiklerin molekül şekli.....	15
Şekil 2.11. C vitamini molekül şekli.....	16
Şekil 2.12. E vitamini molekül şekli.....	16
Şekil 2.13. Bazı karotenoidlerin molekül şekli.....	17
Şekil 2.14. Polifenollerin sınıflandırılması.....	19
Şekil 2.15. Hidroksisinamik asit türevlerinin molekül yapısı.....	19
Şekil 2.16. Bazı hidroksibenzoik asit türlerinin molekül yapısı.....	20
Şekil 2.17. Resveratrol izomerlerinin molekül şekli.....	20
Şekil 2.18. Bazı lignan türevlerinin molekül yapısı.....	21
Şekil 2.19. Proantosiyandinlerin genel molekül yapısı.....	22
Şekil 2.20. Bazı proantosiyandinlerin genel molekül yapısı.....	22
Şekil 2.21. Elajik asit molekül yapısı.....	22
Şekil 2.22. Flavonoid genel molekül yapısı.....	23
Şekil 2.23. Flavon genel molekül yapısı.....	24
Şekil 2.24. Flavonol genel molekül yapısı.....	24
Şekil 2.25. Flavanol yapısı genel molekül yapısı.....	25
Şekil 2.26. Flavanon genel molekül yapısı.....	25

Şekil 2.27. İzoflavon genel molekül yapısı.....	26
Şekil 2.28. Antosiyanin genel molekül yapısı.....	26
Şekil 2.29. Hidrojen atomu transferine dayanan metot reaksiyonu.....	27
Şekil 2.30. Elektron transferine dayanan metot reaksiyonu.....	27
Şekil 2.31. ABTS ve ABTS ^{•+} radikal katyonunun oksidan-antioksidan ile reaksiyonu.....	29
Şekil 2.32. DPPH ve antioksidan arasında gerçekleşen reaksiyon.....	30
Şekil 2.33. Molibdenyum'a elektron transfer edilmesi.....	31
Şekil 2.34. Aktif merkezin substrata uygunluğu.....	31
Şekil 2.35. Bakır atomunun merkezde bulunuşlarına göre polifenol oksidazlar...	33
Şekil 2.36. Monofenollerin o-kinonlara yükseltgenmesi.....	33
Şekil 2.37. Monofenollerin o-kinonlara yükseltgenmesinde bakırın reaksiyondaki etki mekanizması.....	34
Şekil 2.38. <i>Arbutus unedo</i> L meyve ve yaprağı.....	36
Şekil 2.39. <i>A.unedo</i> meyvelerinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı.....	37
Şekil 2.40. <i>A.unedo</i> meyvelerinde bulunan bazı galloil türevlerinin, tanenlerin, flavonollerin ve proantosiyanidinlerin kimyasal yapıları.....	37
Şekil 2.41. <i>A.unedo</i> yapraklarında bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı.....	38
Şekil 2.42. <i>Cydonia oblonga</i> Miller meyvesi.....	39
Şekil 2.43. Ayva kabuğunda bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı....	39
Şekil 2.44. Ayva çekirdeğinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı..	40
Şekil 2.45. Ayva yaprağında bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı....	41
Şekil 2.46. Nar meyvesinin kabuk ve çekirdekleri.....	42
Şekil 2.47. Nar kabuk ve çekirdeğinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapısı.	43
Şekil 2.48. Pirinada bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı.....	44
Şekil 2.49. Siyah havuç meyvesi.....	44
Şekil 2.50. Siyah havuçta bulunan bazı fenolik bileşiklerin ve antosiyaninlerin kimyasal yapısı.....	45
Şekil 2.51. Mürdüm eriği meyvesi.....	46
Şekil 2.52. Mürdüm eriğinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı...	46

Şekil 2.53. Kuşburnu meyvesi.....	47
Şekil 2.54. Kuşburnu meyvesinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı.....	48
Şekil 2.55. <i>Malus domestica</i> meyvesi.....	48
Şekil 2.56. Elmada bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı.....	49
Şekil 3.1. Gallik asit standart eğrisi.....	53
Şekil 3.2. Ekstrakt çözeltilerinin elma dilimlerine daldırılması	55
Şekil 4.1. Kocayemiş ve kocayemiş yaprağının DPPH inhibisyon grafiği.....	56
Şekil 4.2. Kocayemiş ve kocayemiş yaprağının ABTS inhibisyon grafiği.....	57
Şekil 4.3. Kocayemiş ve kocayemiş yaprağının PPO enzim inhibisyon grafiği....	57
Şekil 4.4. Ayva yaprak ve kabuğun DPPH inhibisyon grafiği.....	58
Şekil 4.5. Ayva yaprak ve kabuğun ABTS inhibisyon grafiği.....	58
Şekil 4.6. Ayva yaprak, kabuk ve çekirdeğin PPO enzim inhibisyon grafiği.....	58
Şekil 4.7. Pirina ve nar posasının DPPH inhibisyon grafiği.....	59
Şekil 4.8. Pirina ve nar posasının ABTS inhibisyon grafiği.....	59
Şekil 4.9. Pirina ve nar posasının PPO enzim inhibisyon grafiği.....	60
Şekil 4.10. Siyah havuç ve elma posasının DPPH inhibisyon grafiği.....	60
Şekil 4.11. Siyah havuç ve elma posasının ABTS inhibisyon grafiği.....	61
Şekil 4.12. Siyah havuç ve elma posasının PPO enzim inhibisyon grafiği.....	61
Şekil 4.13. Kuşburnu ve mürdüm eriği kabuğunun DPPH inhibisyon grafiği.....	62
Şekil 4.14. Kuşburnu ve mürdüm eriği kabuğunun ABTS inhibisyon grafiği.....	62
Şekil 4.15. Kuşburnu ve mürdüm eriği kabuğunun PPO enzim inhibisyon grafiği	62
Şekil 4.16. Kocayemiş yaprağı, kocayemiş meyvesi ve kuşburnu meyvesinin TPC, DPPH, ABTS ve PPO inhibisyon sonuçlarının garfiks gösterimi.	63
Şekil 4.17. Ayva yaprağı, ayva çekirdeği, ayva kabuğu ve mürdüm eriği kabuğunun TPC, DPPH, ABTS ve PPO inhibisyon sonuçlarının garfiks gösterimi.....	64
Şekil 4.18. Pirina, nar posası, siyah havuç posası ve elma posasının TPC, DPPH, ABTS ve PPO inhibisyon sonuçlarının garfiks gösterimi.....	64
Şekil 4.19. Daldırma yöntemi ile ekstraktların uygulanması.....	70

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları.....	4
Tablo 2.2. Reaktif oksijen türleri (ROS).....	5
Tablo 2.3. Reaktif nitrojen türleri (RNS).....	5
Tablo 2.4. Reaktif klor, brom ve hidrojen türleri.....	6
Tablo 4.1. Ekstraktların TPC, antioksidan aktivite (DPPH, ABTS) ve PPO enzimi inhibisyon değerleri.....	63
Tablo 4.2. Ekstraktların sudaki çözeltilerinin daldırma yöntemi ile uygulanması sonucu elde edilen renk ölçüm sonuçları	65
Tablo 4.3. Ekstraktların sudaki çözeltilerinin püskürtme yöntemi ile uygulanması sonucu elde edilen renk ölçüm sonuçları	66
Tablo 4.4. Ekstraktların sudaki çözeltilerinin daldırma yöntemi ile uygulanması ve farklı zamanlarda elde edilen renk ölçüm sonuçları.....	68

ÖZET

Anahtar kelimeler: Antioksidan özellik, enzimatik esmerleşme, ekstraksiyon, toplam fenolik bileşik.

Bu çalışmada, kocayemiş (*Arbutus unedo*) meyve ve yapraklarından, ayva (*Cydonia oblonga* Miller) kabuk, çekirdek ve yapraklarından, nar (*Punica granatum* L.), elma (*Malus domestica*), siyah havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef) posalarından, pirina, mürdüm eriği (*Prunus domestica* subsp. *Insititia*) kabuğundan ve kuşburnu (*Rosa canina*) meyvesinden toplam fenolik bileşikler ekstrakte edilmiştir. Bu ekstraktların antioksidan özellik olarak ABTS ve DPPH aktiviteleri, ayrıca polifenol oksidaz (PPO) inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir. Aynı zamanda, elma dilimleri üzerine daldırma ve püskürtme yöntemleri uygulanarak ekstraktların enzimatik esmerleşmeye etkileri renk parametreleri ölçülerek araştırılmıştır.

Bu ekstraktlar arasından, kocayemiş yaprağı $226,95 \pm 6,35$ mg GAE/g ekstrakt değeri ile en toplam yüksek fenolik madde içeriğine sahiptir. Ayrıca, bu ekstrakt sırasıyla $25,38 \pm 0,35$ µg/ml ve $2,33 \pm 0,22$ µg/ml IC₅₀ değerleri ile en yüksek DPPH ve ABTS aktivitesi göstermiştir. Tüm materyallerden elde edilen ekstraktlar PPO enzimini inhibe etmiştir. Kocayemiş yaprağından elde edilen ekstraktın $16,90 \pm 3,21$ µg/ml IC₅₀ değeri ile en yüksek inhibitör etkiye sahip olduğu görülmüştür. Kocayemiş meyvesi ve yaprağının ekstrakt çözeltilerinin daldırma yöntemi ile elma dilimlerine uygulanması sonucu enzimatik esmerleşmeye karşı en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmayan veya atık olarak karşımıza çıkan bu örneklerin çoğunun antioksidan ve PPO inhibitör özelliğine sahip olduğu görülmüştür. Göstermiş oldukları bu özelliklerden dolayı, farklı prosesler uygulanarak bu materyallerin ekonomiye katma değerli ürün olarak geri kazandırılabilceği düşünülmektedir.

INVESTIGATION OF THE TOTAL PHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT PROPERTIES AND EFFECTS OF SOME FRUIT-VEGETABLES AND PULP ON ENZYMATIC BROWNING

SUMMARY

Keywords: Antioxidant activity, enzymatic browning, extraction, total phenolic compound

In this study, total phenolic compounds were extracted from arbutus fruits and leaves, quince peel, seeds and leaves, pomegranate, apple, black carrot pulp, olive pomace, damson peel and rosehip fruit. Their ABTS and DPPH activities, as antioxidant properties, as well as polyphenol oxidase (PPO) inhibitory activities were determined. Moreover, the effects of the extracts on enzymatic browning were investigated by measuring the color parameters by applying dipping and spraying methods on the apple slices.

Among these extracts, *Arbutus unedo* leaf has the highest phenolic content with a value of 226.95 ± 6.35 mg GAE/g extract. In addition, this extract showed the highest DPPH and ABTS activity with IC_{50} values of 25.38 ± 0.35 μ g/ml and 2.33 ± 0.22 μ g/ml, respectively. Extracts from all materials inhibited the PPO enzyme. It was observed that the extract of *Arbutus unedo* leaf had the highest inhibitory effect with an IC_{50} value of 16.90 ± 3.21 μ g/ml. It was determined that the extract solutions of the *Arbutus unedo* fruit and leaf showed the best effect against enzymatic browning by using dipping method.

According to the obtained results, it was observed that most of these samples, which are not widely used in the food industry or are encountered as waste, have antioxidant and PPO inhibitor properties. Due to their properties, it is considered that these materials can be recycled as a value-added product to the economy by applying different processes.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Reaktif oksijen türleri (ROS) diyabet, kalp hastalıkları, damar sertliği, katarakt ve kanser gibi ciddi hastalıkların oluşumunda önemli bir etkiye sahiptir. Oksidatif stres, biyolojik hasara neden olan serbest radikallerin zararlı etkilerine denir [1]. İnsan vücudundaki serbest radikaller otoimmün, kanser, inflamatuvar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi bazı önemli kronik hastalıkların oluşumunda patojenik rol oynamaktadır [2, 3]. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron veren moleküllerdir, kısa yarı ömre, düşük stabiliteye ve yüksek kimyasal reaktiviteye sahiptirler [4, 5]. Bu radikaller doğal olarak veya fagositoz, hücre proliferasyonunun düzenlenmesi, maddelerin sentezi ve hücreler arası sinyalleşme ile ilgili bazı biyolojik fonksiyonlardan dolayı ortaya çıkar. Radikaller lipidlere, proteinlere veya DNA'ya zarar verir [6]. Dokuyu bu hasarlardan korumak için serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi önemlidir [7]. Bu nedenle antioksidanların insanları birçok ölümcül hastalığa karşı korumada önemli rol oynadığı gösterilmiştir [8, 9].

Antioksidanlar, gıdada yada vücutta düşük konsantrasyonlarda bulunduğunda ilgili molekülün oksidatif hasarını geciktiren, inhibe eden veya ortadan kaldıran maddeler olarak tanımlanır. İnsan vücudu, doğal olarak yerinde antioksidanlar üreterek ve ayrıca gıda yoluyla antioksidanlar sağlayarak oksidatif strese karşı çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir [10].

Meyve ve sebzeler düşük enerji içeriği, yüksek mineral ve vitamin içeriği nedeniyle beslenme ve insan sağlığı açısından önemlidir. Meyve ve sebzelerin düzenli tüketimi, besin açısından zengin olmaları nedeniyle dünya çapında beslenme kılavuzlarında yaygın olarak tavsiye edilmektedir [11].

Yeterli miktarda meyve-sebze tüketimi kanser, kalp-damar hastalıkları, hipertansiyon, sindirim sistemi hastalıkları gibi bazı kronik hastalık riskini azaltır. Sebzeler ve meyveler, özellikle A vitamini, C vitamini ve beta-karoten antioksidanlar için en iyi kaynaklardır [12].

Tirozinazlar olarak bilinen polifenol oksidaz (PPO), sebze ve meyvelerin kesme yüzeylerinde fenol bileşiklerinin oksidasyon ürünleri sonucu esmerleşmeye neden olan enzim grubu için kullanılan genel bir terimdir. PPO, aktif bölgesinde bakır içeren oksidoredüktaz sınıfının bir enzimidir [13].

PPO, monofenolleri oksijen varlığında hidroksilasyon yoluyla o-difenollere ve daha sonra oksijen varlığında dehidrojenasyon yoluyla o-kinonlara katalize eder. O-kinonların enzimatik olmayan polimerizasyonu, oksidatif bileşen tarafından bir dizi oligomerizasyon ve polimerizasyon reaksiyonu ile melanin veya melanin benzeri bileşenler oluşturur [14].

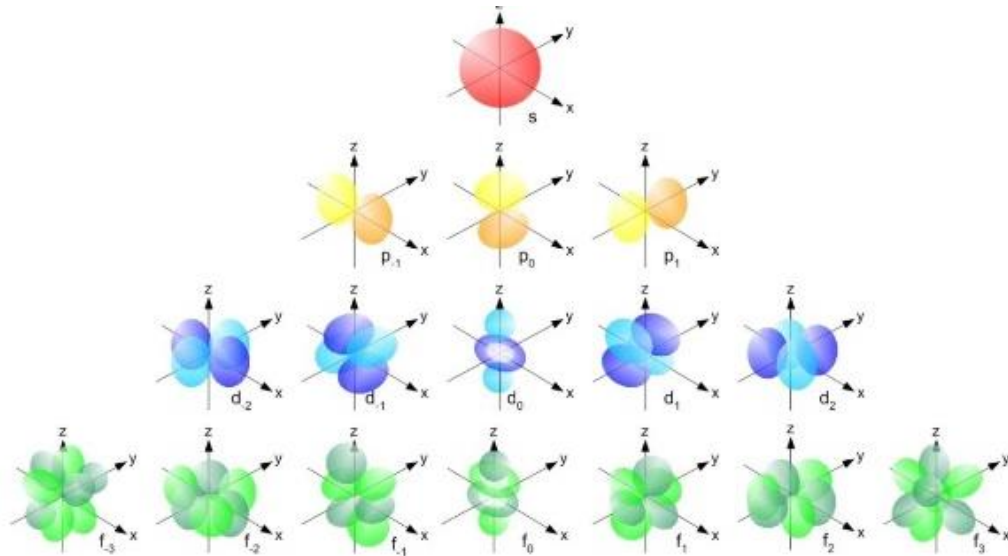
Meyve ve sebzelerde çeşitli fenolik bileşikler bulunur, sadece küçük bir grup, bir substrat olarak doğrudan PPO'ya etki eder. Ayrıca, kantitatif olarak önemli diğer fenol grupları antosiyanin, flavonoid ve tanenler de PPO tarafından zayıf bir şekilde oksitlenir [15].

Bu çalışmada, kocayemiş (*Arbutus unedo*) meyve ve yapraklarından, ayva (*Cydonia oblonga* Miller) kabuk, çekirdek ve yapraklarından, meyve suyu üretim atığı olarak nar (*Punica granatum* L.), elma (*Malus domestica*), siyah havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef) posalarından, pirina, mürdüm eriği (*Prunus domestica* subsp. *Insititia*) kabuğundan ve kuşburnu (*Rosa canina*) meyvesinden toplam fenolik bileşikler ekstrakte edilmiştir. Bunların anntioksidan olarak 2,2'-azonobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonat (ABTS) ile 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) aktiviteleri ve PPO inhibitör aktivitesi araştırılmıştır. Ayrıca ekstraktların enzimatik esmerleşme üzerine etkileri farklı uygulama metotları ile renk parametreleri ölçülerek araştırılmıştır.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİ

2.1. Serbest Radikaller

Atom, proton ve nötrondan oluşan pozitif yüklü bir çekirdekten ve bu çekirdeğin etrafında bulunan negatif yüklü elektrondan oluşmaktadır. Elektronlar dalga ve partikül özelliğine sahiptirler. Çekirdek etrafında bulunan elektronların yeri tam olarak ifade edilemez, sadece bulunma olasılığının en fazla olduğu tahmin edilen yerden söz edilebilir. Elektronların bulunma olasılığının en yüksek olduğu yere “orbital” adı verilir. Her orbital iki elektron içerebilir ve zıt spinli olarak bulunmaktadır. Elektronlar farklı enerji seviyesinde, farklı orbitallerde bulunurlar. Elektronların enerji seviyeleri çekirdekten uzaklaştıkça artar. Şekil 2.1.’de s, p, d ve f orbitalleri bulunur. s orbitalleri küresel, p orbitalleri elipsoid, d ve f orbitalleri ise karmaşık geometrik bir şekilde bulunurlar. Elektronların bulunduğu 1. yörünge bir tane s orbitali (1s), 2. yörünge s ve p (2s, 2p), 3. yörünge s, p, d (3s, 3p, 3d) ve 4. yörünge ise s, p, d, f (4s, 4p, 4d, 4f) orbitallerini içerir [16].



Şekil 2.1. Orbitaller ve türleri [16]

Serbest radikal; eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller olarak tanımlanır [17]. Serbest radikaller eşleşmemiş elektrona sahip olduklarından kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Eşlenik halde elektronlarını bulunduran molekül veya atomlar ise kararlı bir yapıya sahiptir. Reaksiyona girme eğilimleri serbest radikaller kadar yüksek değildir. Bundan dolayı eşlenmemiş elektronu içermeyen ve radikallerden daha zayıf bir şekilde reaksiyona giren, kararlı yapıda bulunan moleküller ‘radikal olmayan’ olarak adlandırılır [18].

2.2. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal kaynakları hücre içi sıvısı, biyolojik veya toksik maddeler olabilir. Serbest radikal kaynakları endojen (iç kökenli) ve eksojen (dış kökenli) olmak üzere iki grupta toplanabilir (Tablo 2.1.) [19].

Tablo 2.1. Serbest Radikal Kaynakları [19]

Endojen (İç Kökenli) Kaynaklar	Eksojen (Dış Kökenli) Kaynaklar
Mitokondriyal elektron transport zinciri	Çözücüler
Mikrozomal elektron transport zinciri	Anestezikler
Kloroplast elektron transport zinciri	İlaçlar
Oksidan enzimler	İyonize radyasyon
Proteinler	X-ışını
Araşidonik asit döngüsünün aktivasyonu	Güneş ışığı (UV)
Oksidatif stress	Isı şoku
Peroksizomlar	Ozon
Plazma membra	Sigara dumanı
Transizyon (geçiş) metalleri	Kirleticiler
Fagositik hücreler	Egzoz gazları
Endojenik bileşiklerin otooksidasyon reaksiyonları	Glutasyonu okside eden maddeler - Asetaminofen – kokain
Egzersiz	Metal iyonları

2.3. Serbest Radikal Türleri

Serbest radikaller kendi arasında oksijen, nitrojen, klor, brom ve hidrojen kaynaklı olarak sınıflandırılabilir. Bu sınıflara ait genel gruplandırma Tablo 2.2.-2.4.'de verilmiştir. Nitrojen kaynaklı olan serbest radikaller reaktif nitrojen türleri (RNS) ve oksijen kaynaklı olanlar ise reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılabilir [18]. ROS türlerine örnek olarak süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), Hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$), lipid peroksil ($LOO^{\cdot}$) ve alkoksil ($RO^{\cdot}$) radikalleri gösterilebilir. RNS türlerini ise nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$) oluşturur. Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri diğer nonradikal reaktif türlere kolaylıkla dönüşebilir. Genel olarak oksidanlar diye adlandırılan hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen ($^1O_2$), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipid peroksit ($LOOH$) ise serbest radikaller olarak gösterilmezler [17, 20, 21].

Tablo 2.2. Reaktif oksijen türleri (ROS) [17]

Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^{\cdot}$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^{\cdot}$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksil	$HO_2^{\cdot}$	Ozon	O_3
Lipid peroksil	$LOO^{\cdot}$		

Tablo 2.3. Reaktif nitrojen türleri (RNS) [20]

Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	$NO^{\cdot}$	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	$NO_2^{\cdot}$	Nitroksil katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksid	N_2O_4
		Dinitrojen trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$
		Peroksinitrik asit	$ONOOH$
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$

Tablo 2.4. Reaktif klor, brom ve hidrojen türleri [21]

Radikaller		Nonradikaller	
Klor atomu	$\text{Cl}^\cdot$	Nitril klorür	NO_2Cl
		Hipokloröz asit	HOCl
		Kloraminler	R_2NCl , RNCl_2
		Brom klorür	BrCl
		Klor gazı	Cl_2
		Klor dioksit	ClO_2
Brom atomu	$\text{Br}^\cdot$	Hipobromöz asit	HOBr
		Brom gazı	Br_2
		Brom klorür	BrCl
Hidrojen radikali	(atomik) $\text{H}^\cdot$	Proton (hidrojen katyonu)	H^+
		Hidrür (hidrojen anyonu)	H^-

2.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller reaktif özelliğe sahiptirler. Çok sayıda biyomolekül ile reaksiyona girip farklı bileşikler meydana getirirler. Oluşan bu bileşikler çoğu zaman toksik özelliğe sahiptirler [19].

Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkileri; Reaktif oksijen türleri proteinler ile reaksiyona girerek amino asit modifikasyonlarına neden olmaktadır [22]. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri değişiklik göstermektedir. Bu değişikliğe etki eden parametreler; amino asit bileşimi, proteinin aktivasyonundan veya yapısının düzenlenmesinden sorumlu amino asitlerin yerleşimi, hasarlı proteinin onarılabilirliği olarak verilir [23].

Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerindeki etkileri; Hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) tüm DNA molekülünün bileşenleriyle reaksiyona girmektedir. Aynı zamanda DNA yapısında bulunan bazlara (pürin, pirimidin) ve deoksiriboz iskelete de zarar vermektedir [19, 24].

DNA ile serbest radikallerin reaksiyonu sonucu hücre mutasyonları ve ölüm gerçekleşir. DNA’da zincir kırılmaları ve nükleik asit baz değişimleri sitotoksosite’ye neden olurlar [25].

Serbest radikallerin lipidler üzerindeki etkisi; Lipit yapısındaki doymamış yağ asitlerinden serbest radikallerinin etkisiyle bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlayan ve bir lipit radikali ($L\bullet$) oluşan kimyasal olaya lipit peroksidasyonu adı verilir. Bu lipit radikali reaktiftir ve bir seri değişikliğe uğrar. Bu reaksiyon zinciri, iki lipit peroksit radikali eşleşinceye kadar devam eder. Siklik peroksit (LOOL) oluşumu ile reaksiyon sonlanmaktadır [19, 26].

Peroksitler oksidasyonun ilk ürünüdür ve kokusuzdurlar. Fakat peroksitler daha sonra hidrokarbonlar, aldehitler, ketonlar, alkoller ve organik asitlere parçalanırlar. Lipid peroksidasyonunu radikaller (superoksid radikali, hidroksil radikali, peroksil radikal ve alkoksil radikali) başlatır [27].

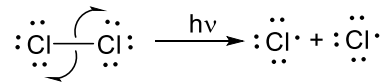
Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerindeki etkisi; Serbest radikaller ($\bullet OH$), karbonhidratlar ile reaksiyonunda; karbon atomundan bir hidrojen atomu çıkarır ve karbon merkezli radikal oluştururlar. Bu radikaller bazı önemli moleküllerde (hyalüronik asit) zincir kırılmalarına yol açar [28].

2.5. Bazı Radikalik Reaksiyonlar

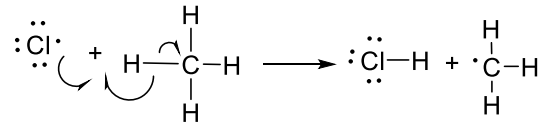
Radikal reaksiyonları biyoloji, tıp ve endüstride çok önemli bir pozisyona sahiptir. Radikaller çok farklı şekillerde reaksiyona girerler. Genel olarak reaksiyonları aşağıda verilmiştir [29].

Atom koparma reaksiyonlarına (Atom-abstraksiyonu) örnek olarak alkanların halojenlenme tepkimesi verilebilir. Radikal mekanizması ile gerçekleşen bu reaksiyon Şekil 2.2.’de verilmiştir.

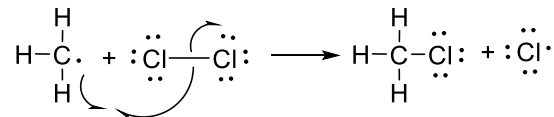
1. basamak



2. basamak



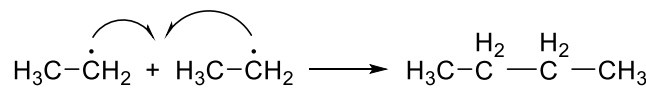
3. basamak



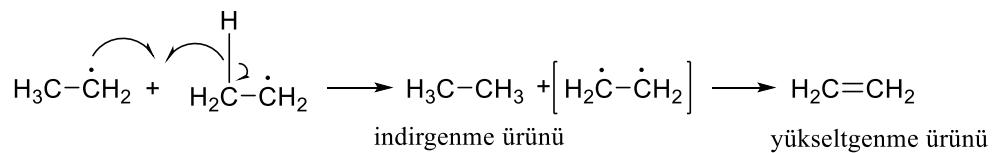
Şekil 2.2. Alkanın radikalik klorlanması [29]

Radikal kombinasyonu ve disproporsiyonasyon (Radikal bölünmesi) reaksiyonu Şekil 2.3.'de verilmiştir. Radikal zincir reaksiyonlarının en önemli basamaklarından biri olan radikal sönme (terminasyon) reaksiyonudur. İki radikalın dimerizasyonu bir radikal terminasyonudur. İki radikalın çarpışması, iki farklı reaksiyon ile sonuçlanabilir. Her iki radikal kombine olarak yeni bir bağ oluştururlar ki bu reaksiyona radikal kombinasyonu denir. İkinci bir alternatif ise, radikalın biri diğerinden bir hidrojen kopararak indirgenirken, diğer molekülde oluşan iki radikal birleşerek bir çift bağ meydana getirir. Bu reaksiyonda molekülün biri indirgenirken, diğeri yükseltgenir. Bu ve benzeri reaksiyonlara disproporsiyonasyon denir [29, 30].

Radikal kombinasyonu



Radikal bölünmesi

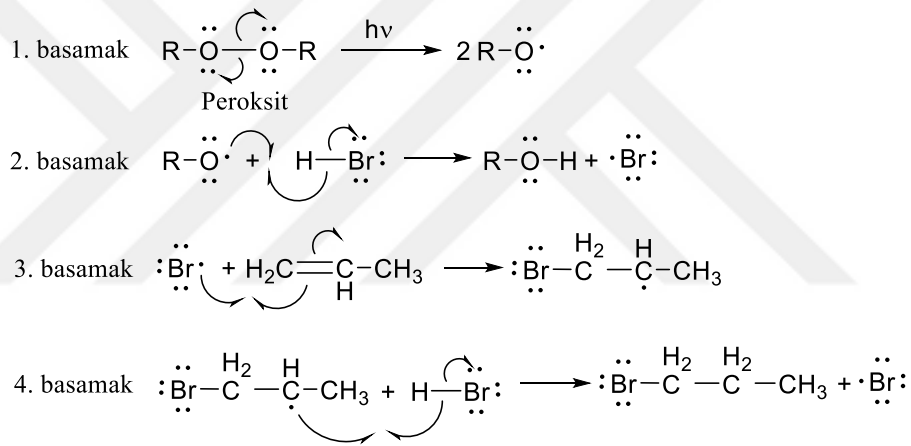


Şekil 2.3. Radikal kombinasyonu ve radikal bölünmesi reaksiyonu [30]

1933 öncesi, alkenlere katılma tepkimesinde bağlanma pozisyonu, çok karmaşık bir konuydu. Katılma bazı zamanlar, Markovnikov kuralına uygun olarak bağlandığı halde, kimi zamanda bu kuralın tam tersi bir konumdan bağlanıyordu. Bu konuda,

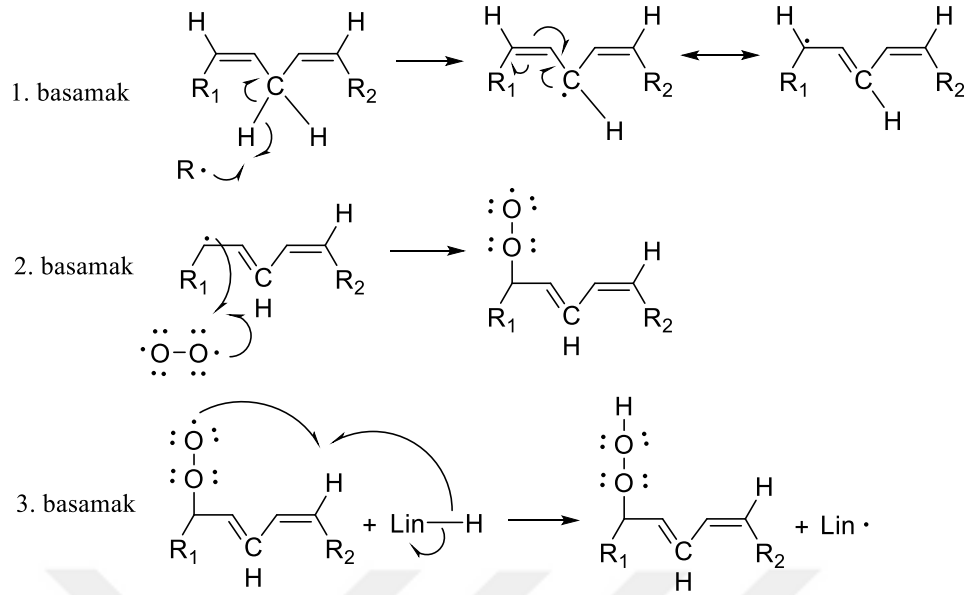
aynı reaksiyon koşullarında gerçekleştirilen pek çok çalışma örneği yayınlanmış fakat konu bir türlü aydınlatılamamıştı. Bir laboratuvar çalışmasında Markovnikov katılma elde edilirken, bir başkasında anti-Markovnikov katılması elde ediliyordu. Dahası aynı araştırmacının, aynı koşullarda yaptığı değişik çalışmalarda dahi aynı durum ile karşılaşılıyordu.

1933’de M.S. Kharach ve F. R. Mayo tarafından gerçekleştirilen araştırma ile bu karışıklık çözüldü. Bu araştırma sonucunda etkenin, alkenlerde bulunan organik peroksitler olduğu ortaya çıktı. Böylece peroksit ya da hidroperoksit içeren alkenlerin, anti-Markovnikov katılma vereceği bulundu [29, 30]. Reaksiyon mekanizması Şekil 2.4.’de verilmiştir.



Şekil 2.4. Anti- Markovnikov katılması [29]

İki çift bağ arasında bulunan $-\text{CH}_2-$ grubunda bulunan hidrojen atomları (lin-H), radikaller tarafından çok kolay koparılabilmektedir. Bu hidrojen otomlarından birinin koparılması ile yeni bir radikal oluşur (Lin $\cdot$). Oluşan bu radikal otoksidasyon adı verilen genel tepkime basamaklarıyla (Şekil 2.5.), oksijen ile bir dizi reaksiyon verir. Otoksidasyon sonucu bir hidroperoksit oluşur [30].



Şekil 2.5. Otoksidasyon reaksiyon mekanizması [29, 30]

2.6. Antioksidanlar

Antioksidan, oksijen veya peroksitlerle oluşan reaksiyonları engelleyen, oksidasyona karşı koyan madde olarak tanımlanabilir. Çeşitli ürünlerde antioksidanların birçoğu koruyucu olarak kullanılmaktadır. Antioksidan madde biyolojik olarak da şöyle tanımlanmaktadır; hava oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilen, bozulmayı engelleyen ve geciktirebilen sentetik veya doğal maddedir. Antioksidanlar gıda endüstrisinde çok geniş bir alana sahiptir. Besinlerin acı bir tat almasını, bozulmasını ve çürümelerini geciktirici özelliğe sahip bir grup kimyasal maddelerdir. Yağların kalitesini (tat, koku, renk vb.) ve raf ömrünü uzatan, bozunmasını engelleyen maddeler içeren antioksidanlardan, insanlardaki doğal fizyolojik fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkilerini önemli şekilde azaltan diyetel antioksidanlara kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir [31].

İnsan sağlığı üzerinde ise antioksidanların yerini belirleyen en önemli etken, yapı-aktivite ilişkileri, çözünürlükleri, sahip oldukları kimyasal yapıları ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir [32, 33].

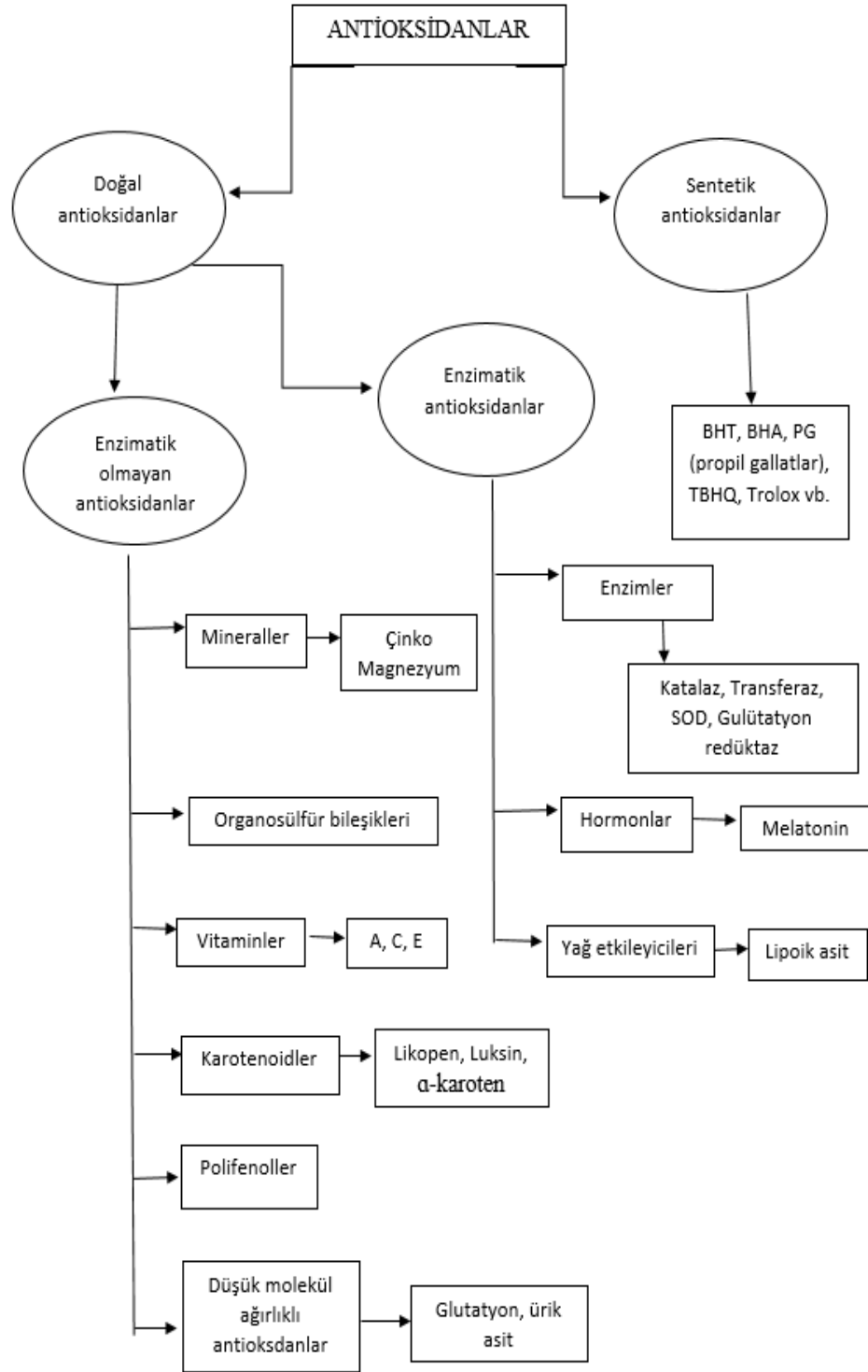
Nasıl ki antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretilbiliyorsa, aynı zamanda gıdalar ile dışarıdan da alınabilmektedir. Gıdalarda bulunan en önemli doğal antioksidanlar, vitaminler (C, E ve A vitaminleri), karotenoidler, flavonoidler ve polifenoller olarak sıralanabilir. Bu doğal antioksidanların sağlık üzerindeki en önemli etkilerinden biri insan vücudunu zararlı serbest radikallerden korumaktır [34, 35].

2.7. Antioksidanların Sınıflandırılması

Genel olarak enzimatik antioksidanlar (endojen) hücre içinde, enzimatik olmayan antioksidanlar (eksojen) ise hücre dışında etki göstermektedir. Antioksidanların etkileri iki farklı şekilde görülmektedir.

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesindeki etkileri;
 - a. Başlatıcı reaktif türevlerini,
 - b. Oksijeni,
 - c. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki göstermektedir.
2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesindeki etkileri;
 - a. “Toplayıcı” etki, serbest oksijen radikallerini tutma veya daha az reaktif olan yeni bir moleküle çevirmedi. Bu şekilde etkili olan antioksidan enzimlerdir (SOD, katalaz, GSH-Px vb.).
 - b. “Bastırıcı” etki, serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girip oksijene bir hidrojen bağlayarak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale dönüştürmektir. Askorbik asit, α - tokoferol, flavonoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
 - c. “Zincir kırıcı” etki, serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincir reaksiyonlarını kırıp fonksiyonlarını engellemek. Hemoglobin, seruloplazmin, albumin gibi bileşikler bu şekilde etki ederler.
 - d. “Onarıcı” etki, serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasını [33, 36].

Antioksidanlar Şekil 2.6.'da veriliği gibi doğal ve sentetik olmak üzere iki grupta toplanır. Doğal antioksidanlar ise kendi içinde enzimatik ve enzimatik olmayan şeklinde sınıflandırılır.



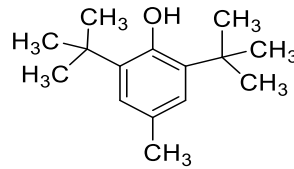
Şekil 2.6. Antioksidanların sınıflandırılması [31, 33, 35]

2.7.1. Sentetik antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, farklı teknikler ile sentezlenir veya üretilir. Sentetik antioksidanlar genel olarak polifenolik bileşikler grubundandır. Radikal reaksiyonlarını ve zincir oluşumunu durdururlar. Polifenolik türevler hidroksil veya metoksi grubu içeren bileşiklerdir. Bu sentetik bileşikler antioksidan aktiviteye sahip olduklarından, eczacılıkta, kozmetikde ve gıdada yaygın olarak kullanılır [37].

Ayrıca sentetik antioksidanlar gıdada besinlerin uzun süre bozulmaması için kullanılmaktadırlar. En sık rastlanan sentetik antioksidanlardan en yaygın olanları butillenmiş hidroksidi toluen (BHT) ve butillenmiş hidroksidi anisol'dur (BHA) [38].

Butillenmiş hidroksidi tolüen (BHT veya 2,6-Di-tert-butil-4-metilfenol) yaygın olarak kullanılan sentetik bir fenolik antioksidandır ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [39]. BHT, fenolik bir yapıya sahiptir. Molekül yapısı Şekil 2.7.'de verilmiştir. BHT yapısındaki fenolik hidroksit gruplarından hidrojen vererek serbest yağ asiti radikal oluşumunu engeller. Gliseridler üzerinde etkili ve koruyucu bir antioksidan olduğu belirlenmiştir [40].



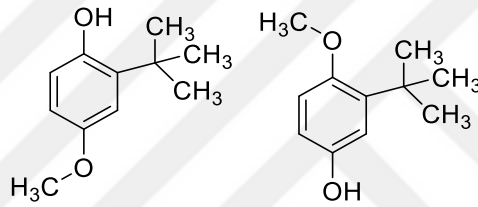
Şekil 2.7. Butillenmiş hidroksi toluen (BHT)'nin molekül şekli [39]

BHT; suda çözünemeyen ancak yağlarda çözünürlüğü iyi olan, beyaz renkli ve kristal yapıya sahip olup, kaynama noktası 265 °C dir [41].

BHT geniş bir kullanım alanına sahip bir antioksidandır. Kurutulmuş patates, et, tahıl, hayvan yemi, sakız, çerez, bira ve gıda paketleme de kullanılmasının yanı sıra kozmetik, ilaç, lastik ve petrol ürünlerinde kullanılmaktadır [42]. Gıda ürününe direk olarak katılabilir veya paketleme malzemesine de ilave edilebilir. Yağ içeren gıdalara, yağlara ve tahıl ürünlerine direk olarak eklenebilir [41, 43]. BHT'nin fazla

tüketimi insan üzerinde olumsuz etki gösterebilir. Aşırı hassasiyete ve alerjiye yol açabilir ve kanserojenik etkileri de görülebilir [44].

Butillenmiş hidrokdisi anisol (BHA); iki izomerin karışımı ve beyaz mumsu parçacıklar halindedir. Karışımındaki bu izomerler 2-tersiyer-bütıl-4-hidroksianisol ve 3-tersiyer-butıl-4-hidroksianisol'dur (Şekil 2.8.). BHA suda çözünemeyen fakat yağlarda çözünebilen bir antioksidandır. BHA ilk olarak 1948 yılında ABD'de gıdalarda kullanılmasına izin verilmiştir. Birçok ülkede tüketilmekte olup katı ve sıvı yağlarda kullanılmaktadır. Yapısında hidroksil grubuna karşı ikinci (-orto) veya üçüncü (-meta) pozisyonunda tersiyer bütıl grubu bulunmaktadır. Sahip olduğu bu kimyasal yapıdan dolayı BHA'ya 'engelleyici fenol' denilmektedir [45].

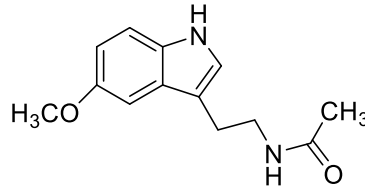


Şekil 2.8. Butillenmiş hidroksi anisol (BHA)'nin molekül şekli [45]

2.7.2. Doğal antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, hem güvenilir olmasından dolayı hem de istenmeyen yan etkilere sebep olmamasından sentetik antioksidanlardan daha fazla tercih edilmektedir. Doğal antioksidanlar gıdaların yapısında bulunur. Gıdalarda meydana gelen bazı kimyasal reaksiyonların sonucunda antioksidanlar oluşabileceği gibi doğal kaynaklardan ekstrakte edilerek de gıdalara katılabilirler. Flavonoidler çok güçlü antioksidan aktivite göstermektedirler ve meyve-sebze yaygın olarak bulunurlar. Meyve ve sebze tüketimi ile bazı kronik rahatsızlıkların (kardiyovasküler hastalıklar, kanser vb.) arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Vitaminler ve karotenoidler gibi antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler, oksidatif stresle bağlantılı bu kronik hastalıklardan korunmada etken rol oynayan bileşiklerdir [46].

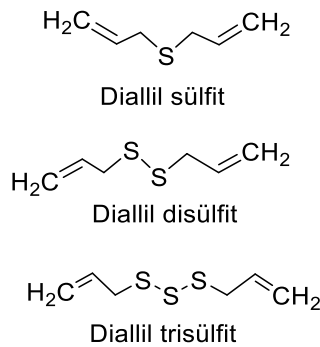
Melatonin bir hormondur. Melatonin molekül yapısı Şekil 2.9.'da verilmiştir. Uyku ve üreme gibi biyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynar. Bu hormon oksidatif strese yol açabilmektedir. Böylece serbest radikalleri ortadan kaldırıp zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir. Melatonin bir antioksidan olarak geniş alanda faaliyet gösterir ve çok geniş çaplı bir koruma sağlar [47].



Şekil 2.9. Melatonin molekül şekli [47]

Çinko serbest radikal oluşumunu engelleyici ve oksidatif stresten koruyucu etkisinden dolayı antioksidan etki göstermektedir. Redoks stabil olan çinko, kritik bazı bölgelerde redoks reaktif olan metallerin (demir, bakır) yerine geçer [48].

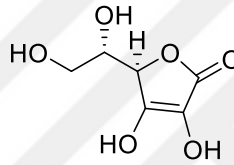
Organosülfür bileşikler genel olarak pırasa, soğan, sarımsak, soğancık gibi yiyeceklerde yaygın olarak bulunmaktadır. Diallil sülfid (DAS), diallil disülfid (DADS), allisin, diallil trisülfid (DATS) ve diallil tetrasülfid (DATT) (Şekil 2.10.) gibi organosülfür yapıları sarımsak ve soğana temel biyolojik özelliğini vermektedir. Yiyeceklere kendine has tadını ve kokusunu da vermektedir. Bu bileşiklerin serbest radikalleri etkisiz hale getirdiği ve nitrik oksit sentezini engellediği belirlenmiştir [49].



Şekil 2.10. Bazı organosülfür bileşiklerin molekül şekli [49]

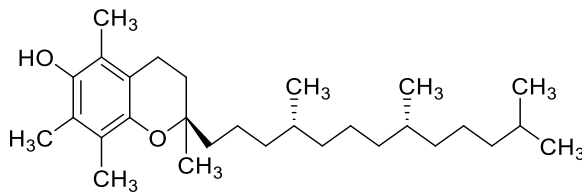
Molekül yapısı Şekil 2.11.'de verilen C vitamini (askorbik asit) suda eriyen bir vitamindir. Sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girebilmektedir. İlâveten moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olmaktadır.

C vitamini etki alanı oldukça geniştir. Kıkırdak ve kemik gelişiminde, demir emiliminde, yaraların iyileşmesinde ve stres durumunda bazı hormonların salınımı gibi durumlarda etki göstermektedir. Güçlü bir indirgeyici olmasının yanı sıra E vitamini ile birlikte antioksidan etki gösterir. C vitamini, antioksidan görevlerinin yanı sıra, Fe^{+3} 'ü lipid peroksidasyonunu artıran Fe^{+2} 'ye dönüştürerek, oksidan gibi de davranabilmektedir [50].



Şekil 2.11. C vitamini molekül şekli [50]

E vitamini, ilk olarak Evans tarafından 1938 yılında bulunmuştur. E vitamini yağda çözünen vitamindir. En aktif formu α -tokoferoldür (Şekil 2.12.). Antioksidan etki olarak zincir kırıcı fonksiyonundadır. Yapısında sahip olduğu hidrofobik kısmında kolaylıkla hidrojenini verebilen hidroksil grubu ($-OH$) bağlıdır. Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidine bağlanmak yerine α -tokoferolün hidroksil grubu ile birleşir ve reaksiyon zinciri kırılmış olur [31]. α -tokoferol yeni bir radikal olan α -tokoferol- $O^{\cdot}$ 'e dönüştürülmüş olur. Oluşan α -tokoferol- $O^{\cdot}$ radikalinin ise başka bir yağ asiti ile reaksiyona girme aktivitesi düşüktür. Sonuç olarak zincir reaksiyonu durdurulmuş olur [52].

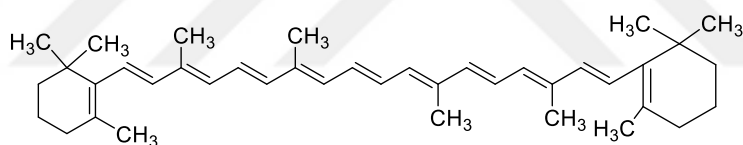


Şekil 2.12. E vitamini molekül şekli [31]

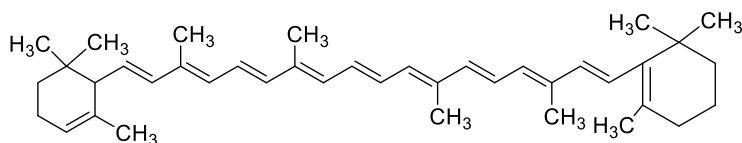
E vitamininin antioksidan kapasitesi çok yüksektir ve geniş bir alana sahiptir. E vitamini; radikallerin ortadan kaldırılması, reaksiyon zincirinin kırılması, endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi, bozuk yapı onarımı ve baskılama gibi mekanizmaların tamamını kullanarak antioksidan etkisini yerine getirir [53].

Karotenoidler, yağda çözünebilen bir yapıya sahiptir. Bütün fotosentetik organizmalarda bulunmakla beraber karotenoidler çok geniş dağılım göstermektedir. Karotenoidler iki gruba ayrılmaktadır. Birincisi oksijen içeren ksantofiller (lutein ve zeaksantin), ikincisi ise hidrokarbon karotenlerdir (α -karoten, β -karoten ve likopen) [54]. Bazı ksantofil ve hidrokarbon karotenlerinin molekül yapısı Şekil 2.13.'de verilmiştir.

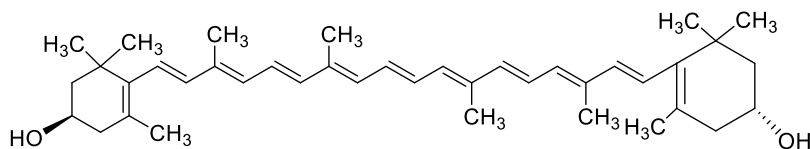
β -karoten doğada bulunan en yaygın karotenoid pigmentidir. β -karotenin zincir yapısının her iki ucunda da β -iyonon halkası bulunmaktadır. Bundan dolayı en yüksek provitamin A aktivitesine sahiptir [21].



beta-karoten



alfa-karoten



Lutein

Şekil 2.13. Bazı karotenoidlerin molekül şekli [54]

Polifenoller; Fenolik terimi kısaca, aromatik halkada hidroksil grubu ve çeşitli fonksiyonel grupları bulunduran maddeler olarak tanımlanırlar. Benzen halkasına bağlı olan hidroksil (-OH) sayısına bağlı olarak oluşan bileşikler ise polifenoller adını almaktadır. Fenolik bileşikler birçok gıdada (kahve, hububat, şarap, çay, meyve ve sebze) farklı miktar ve kalitede bulunmaktadır [55]. Polifenoller, gıdalarda saflık kontrol kriteri olmakla beraber tat, koku ve rengin oluşumunda etkili olan bir gıda bileşenleridir. Ayrıca antimikrobiyal, antioksidatif ve enzim inhibisyonu etkilerine sahip olmaları, insan sağlığı üzerinde de önemli bir yere sahiptirler [56]. Polifenoller yapısal özelliklerine göre Şekil 2.14.'de görüldüğü gibi 5 ana grupta sınıflandırılır. Bunlar fenolik asitler, stilbenler, flavonoidler (flavonol, flavanol, flavon, flavanon, izoflavon, antosiyanin), tanen ve lignanlardır [57].

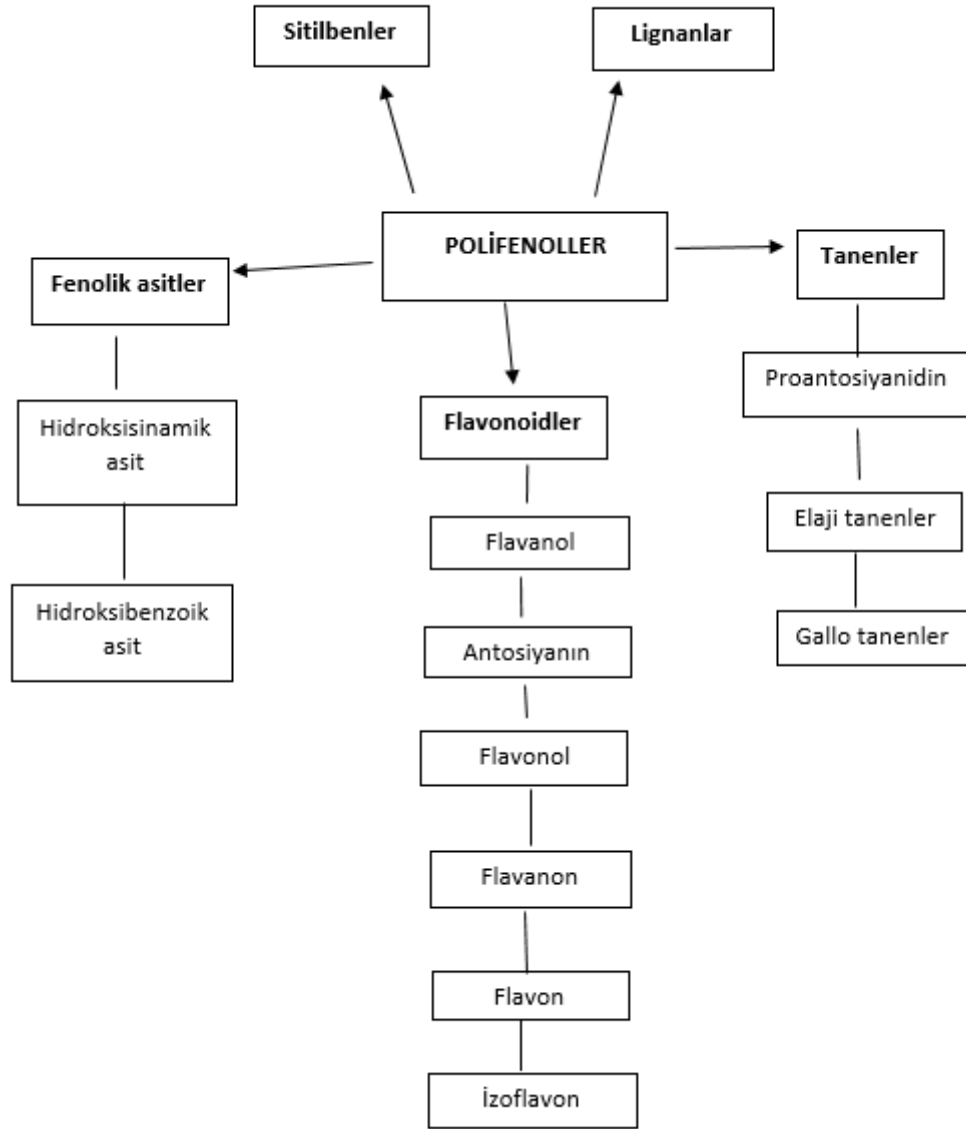
1. Fenolik asitler

Hidroksisinamik asitler, fenilpropan halkasına farklı pozisyonlara hidroksil grubunun bağlanmasına ve sayısına göre özellikleri farklılık göstermektedir. Genel molekül yapısı Şekil 2.15.'te verilmiştir. En yaygın olarak karşımıza çıkan hidroksisinamik asitler; sinapik asit, ferulik asit, o-kumarik asit ve kafeik asittir [58].

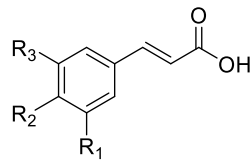
Hidroksisinamik asit türevleri polifenolik bileşenlerinin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Meyve, sebze, tahıl ve meyve çekirdeklerinde farklı miktarlarda bulunmaktadır [59].

Hidroksibenzoik asitler, hidroksisinamik asitlerden yağ asitlerinin β - oksidasyonu ile meydana gelmektedir. Gıdaların yapısında çok az miktarda bulunabildikleri gibi hiç bulunmayabilirler. En yaygın olarak bilinen hidroksibenzoik asit türevleri Şekil 2.16.'da verildiği gibi gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, salisilik asit ve protokateşik asittir [60].

Salisilik asit aspirin ile benzer bir kimyasal özellik göstermektedir. Keratolitik, analjezik, anti-enflamatuar ve anti-koagülan etki göstermesinden dolayı öne çıkmaktadır [61].

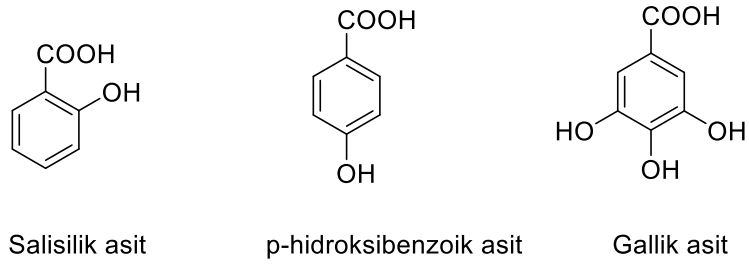


Şekil 2.14. Polifenollerin sınıflandırılması [57]



Hidroksisinnamik asit: $R_1=H$; $R_2=H$; $R_3=H$,
 o-kumarik asit: $R_1=H$; $R_2=OH$; $R_3=H$,
 kafeik asit: $R_1=OH$; $R_2=OH$; $R_3=H$,
 ferulik asit: $R_1=OCH_3$; $R_2=OH$; $R_3=H$,
 sinapik asit: $R_1=OCH_3$; $R_2=OH$; $R_3=OCH_3$

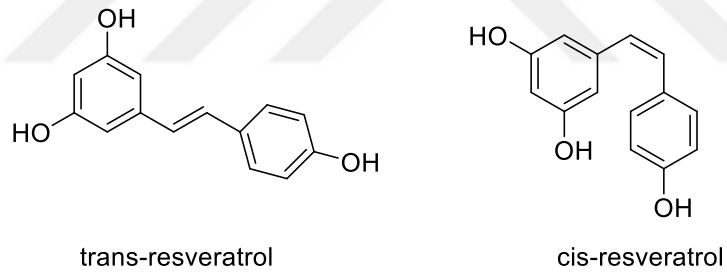
Şekil 2.15. Hidroksisinnamik asit türevlerinin molekül yapısı [58]



Şekil 2.16. Bazı hidroksibenzoik asit türlerinin molekül yapısı [60]

2. Stilbenler

Stilbenler, bitki dünyasının en yaygın polifenol grubundandır. Stilbenlerin en çok bilinen bileşiği resveratrol (3,5,4'-trihidroksistilben). Resveratrol'ün cis- ve trans formu olmak üzere iki izomerik yapıya sahiptir (Şekil 2.17.). Stilbenler, bitkilerde mantarların gelişmesini engelleyen bir yapıya sahiptir. Memelilerde spazm çözücü, yükseltgenme önleyici, hücre/doku zehiri, serbest oksijen gruplarını uzaklaştırıcı gibi birçok etki göstermektedir [62].



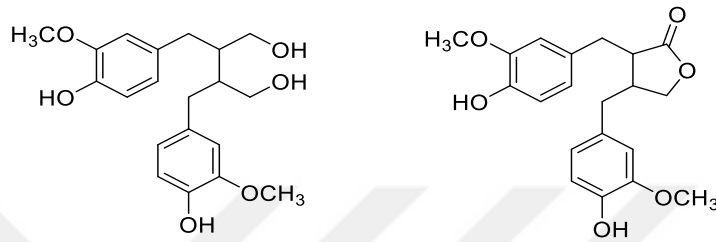
Şekil 2.17. Resveratrol izomerlerinin molekül şekli [62]

Resveratrol çok güçlü antioksidan özelliğe sahiptir. Neredeyse E vitamininden 50, C vitamininden ise 30 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir [58].

3. Lignanlar

Lignanlar, iki fenil propanoid (C₆-C₃ birimleri) kombinasyonundan oluşan polifenolik yapılardır. Farklı formlarda alt birimleri bulunabilir, bazı türevleri Şekil 2.18.'de verilmiştir [63]. Lignanlar β-hidroksifenilpropanın oksidatif birleşme ürünü olarak bilinen, doğal bileşenlerdir ve bitki türlerinde az olarak bulunurlar.

Lignanlarının bilinen en yaygın kaynağı keten tohumu (*Linum usitatisimum L.*) ve susamdır [64]. Bunların dışında ananas, havuç, hububat türleri, soya fasulyesi, sarımsak ve mercimek gibi bazı gıdalarda lignan içermektedir [65]. Lignanlar oldukça yüksek antioksidan ve (anti)östrojenik aktivite göstermektedir. Bu özelliklerinden dolayı kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkma riskini azaltmaktadırlar [66].



Şekil 2.18. Bazı lignan türevlerinin molekül yapısı [63]

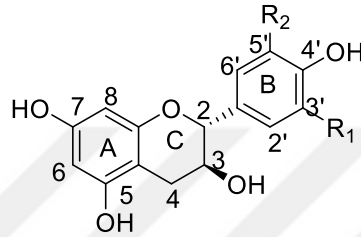
4. Tanenler

Tanenleri tanımlamak ve sınıflandırmak karışık bir konudur. Tanen bir bitki polifenoli heterojen grubudur. Bate-Smith ve arkadaşları tarafından tanen tanımı; suda çözünen, 500 ve 3000 dalton aralığında molekül ağırlığına sahip, reaksiyonlarını fenolik verebilen, proteinleri ve alkaloidleri çöktüren fenolik yapıya sahip bileşikler olarak yapılmıştır [67].

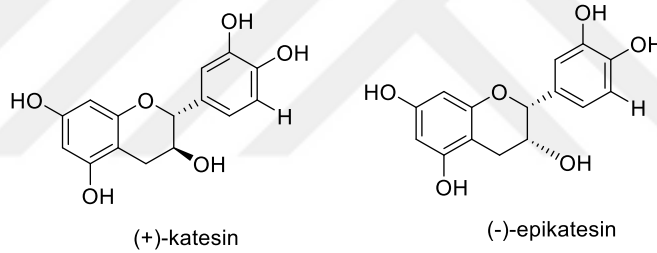
Lignandan sonra doğada yaygın olarak bulunan ikinci fenolik bileşik grubu proantosiyanidinlerdir. Proantosiyanidinler 3. C atomunda tek hidroksil (OH) grubu içeren oligomerik bir yapıya sahip fenolik bileşiktir (Şekil 2.19.). Hidrolize uğramazlar, karbon-karbon bağları sıcak asidik alkolde oksidatif olarak ayrılır ve renkli olan antosiyanidin pigmentlerini verirler [68]. Proantosiyanidinler, ikiye ayrılır başlatıcı ve bağlanmasına göre; A ve B tipi proantosiyanidinler. A-tipi proantosiyanidinlerin karakteristik özelliği iki eter bağı içermesinden ileri gelmektedir. Bitkilerden izole edilen bu bileşik yaygın olarak bilinmemektedir [69]. Fakat B-tipi proantosiyanidinler hem bitkilerden sıklıkla izole edilir hem de gıdalarda yaygın olarak bulunur [70]. Proantosiyanidinler çeşitli alt gruplara ayrılmaktadır. Proantosiyanidin grupları içerisinde en yaygın olanı

prosiyanidinlerdir. Proantosiyandinler (+)-kateşin, (-)-epikateşin ve bunların gallatlarından oluşan, flavan-3-ol üniteleridir (Şekil 2.20.).

Proantosiyandinler, birçok fizyolojik aktiviteye sahiptirler. Bunlara antimikrobiyal antialerjik, antioksidan, saç büyümesine yardımcı etkiler gibi örnekler verilebilir [71]. Yaygın olarak elma, ham badem, kakao, yaban mersini, kahve, ahududu, çilek gibi gıdalarda bulunurlar [72].

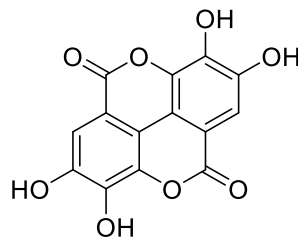


Şekil 2.19. Proantosiyandinlerin genel molekül yapısı [68]



Şekil 2.20. Bazı proantosiyandinlerin genel molekül yapısı [70]

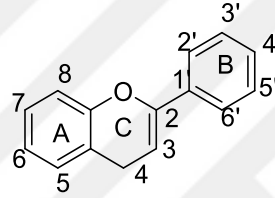
Elaji ve Gallo tanenler (hidroliz olabilen tanenler) asit hidrolizi sonucunda gallik asit ve elajik asite (Şekil 2.21.) parçalanmaktadır [73].



Şekil 2.21. Elajik asit molekül yapısı [73]

5. Flavonoidler

Flavonoidler bitkilerdeki sarı, mavi ve kırmızı renkli pigmentlerin temel kaynağı olan polifenolik bileşiklerdir. Çay, şarap gibi içeceklerde, meyve ve sebzeler doğal olarak bulunmaktadır. Temel yapılarında benzen ve heterosiklik halka bulunan bu yapıya bağlanan moleküller (-H, -OH) ile farklı isimler alırlar. Yapısında 15 karbon atomu bulunmaktadır. Bir karbon köprüsü (C halkası) ile bağlı olan iki fenil (A ve B halkaları) halkasından meydana gelen flavonoid molekül yapısı Şekil 2.22.'de verilmiştir. Flavon türevlerine flavonoid denirken flavan türevlerine ise flavanoid denir. Flavonoidler genel olarak 3, 5, 7, 2', 3', 4', 5' pozisyonlarında hidroksillenmişlerdir [74, 75].



Şekil 2.22. Flavonoid genel molekül yapısı [74]

Flavonoidlerin antioksidan kapasiteleri yapısına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Bu farklılığa etki eden önemli noktalardan bazıları şöyledir;

1. Elektron delokalizasyonuna katılan ve radikal kararlılığı sağlayan, B halkasındaki o-dihidroksi yapısı.
2. C halkasındaki 2. ve 3. karbon arasındaki çift bağ, bu bağ C halkasındaki keto grubunu oluşturur ve B halkasında elektron delokalizasyonunu artırır.
3. Maksimum antioksidan etki için gerekli, C halkasında 3. ve A halkasında 5. pozisyonundaki hidroksil grupları.

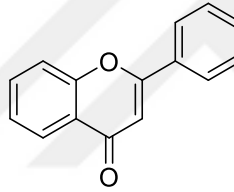
Flavonoidlerin antioksidan etkisindeki artış için hidroksillenme derecesine bakılırken, azalış içinde yapıya bağlanan şekere ve cinsine bakılmaktadır [76].

Bu bileşikler çok geniş bir kullanım alanına sahiptir (tıp, gıda, deri, metalurji, tekstil, ziraat vb.). Antioksidan özellikleri dışında antitümör, antiviral, antirombotik,

antiinflamatuvar, antiallerjik, kronik kalp hastalıklarından korunma etkisi de bulunmaktadır [77].

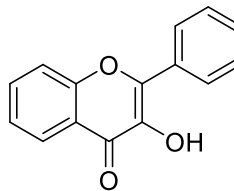
Flavon; Flavon yapısında bulunan A ve B halkaları, aromatik halka gibi davranarak reaksiyona girer. Bazı süstitüsyon reaksiyonlarında fenol ya da eterleri gibi davranış sergilerler. Ayrıca yapısında bulunan çift bağ ve karbonil grubu, hidrojen atomunun farklı pozisyonlarda katılabileceği konjuge bir sistem oluşturmıştır. Flavon genel molekül yapısı Şekil 2.23.'de verilmiştir.

Flavonların en basit yapısında aromatik halkalara bağlı hidroksil ve metoksil grupları bulunur. Yapılarında yalnızca oksijenle bağlı süstitüent içerdiklerinden O-süstitüe flavon adıyla da tanımlanır. Bilinen en önemli flavon bileşikler; krisin, luteolin ve apigenin'dir [75, 78].



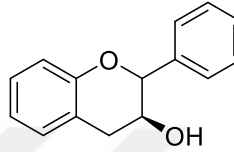
Şekil 2.23. Flavon genel molekül yapısı [75]

Flavonol; Flavon yapısının 3 pozisyonuna bir hidroksil grubu bağlanması flavonol bileşimini oluşturmaktadır (Şekil 2.24.). Bitkilerde en yaygın bulunan flavonoid grubudur. Yaygın olarak bilinen en önemli flavonol bileşikler; kuersetin, rutin, mirisetin, fisetin ve kaemferoldur. Genel olarak elma, soğan, dut, lahana, kiraz, çay, brokoli ve kırmızı şarapta görülmektedir [79].



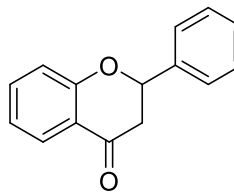
Şekil 2.24. Flavonol genel molekül yapısı [79]

Flavanol; Flavonol bileşiğinin C halkasında bulunan karbonil grubu $-CH_2$ bağlandığı zaman flavanol yapısı oluşur (Şekil 2.25.). Flavanol, flavon molekülünün indirgenmiş yapıdaki formudur. Kateşin ve epikateşin en önemli flavanoller olarak bilinir. Kateşin ve epikateşin gallik asit ile reaksiyona girerek kateşin ve epikateşin gallatlar oluşturur. Bunlar beyaz şarap, yeşil çay, siyah çay, şeftali, kırmızı şarap ve elmada fazla miktarda bulunmaktadır [80].



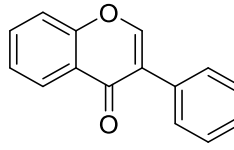
Şekil 2.25. Flavanol yapısı genel molekül yapısı [80]

Flavanon; Flavonun dihidroksi türevi flavanon'dur (Şekil 2.26.). Flavanon'un flavon ve flavonollerden farklı C halkasında bulunan çift bağı içermemesidir. C-2 atomunun asimetrik özelliğe sahip olmasından dolayı, rasemik karışım veya iki optik izomer yapısında bulunurlar. Doğada yaygın olarak glikozillenmiş türevleri formunda bulunurlar. Çok sayıda bitki türünden izole edilen naringin, hesperidin (5,7,3'-trihidroksi-4'-metoksiflavanon) ve naringenin (5,7,4'-trihidroksiflavanon) en önemli flavanon türevleridir [81].



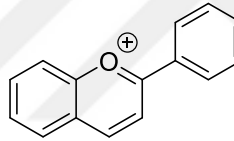
Şekil 2.26. Flavanon genel molekül yapısı [81]

İzoflavon; Flavonlarda B halkası C halkasında pozisyon 2'ye bağlı iken izoflavon da pozisyon 3'e bağlıdır [65]. İzoflavon molekül yapısı Şekil 2.27.'de gösterilmiştir. İzoflavonlar güçlü antikanserojen ve antioksidan özelliğe sahip doğal polifenolik bileşiklerdir. Dört temel yapıya sahiptir; aglikon, glikozit, malonil glikozit veya asetil glikozit [82].



Şekil 2.27. İzoflavon genel molekül yapısı [65]

Antosiyaninler; flavonoidlerin en önemli bileşiğidir. Antosiyaninlerin genel molekül yapısı Şekil 2.28.'de verilmiştir. Flavilyum katyonu antosiyaninlerin temel yapısını oluşturmaktadır. Antosiyaninler glikozit bir yapıya sahiptir. Bundan dolayı şekerler ve aglikondan (şeker olmayan) oluşur. Antosiyanidinler ise antosiyaninlerin aglikon kısmı olarak bilinmektedir. Antosiyanidin türevine şekerler gruplarının (arabinoz, galaktoz, glukoz, ramnoz, ksiloz vb.) bağlanması farklı renklerde antosiyaninler oluşmasına sebep olmaktadır. Antosiyaninler kırmızı, mavi, mor rengi veren bileşiklerdir [83]. Aynı zamanda antosiyaninler yüksek antioksidatif etkiye sahiptirler. Bazı hastalıkların risk faktörünü azalttığı bildirilmektedir [84, 85].



Şekil 2.28. Antosiyanin genel molekül yapısı [83]

2.8. Antioksidan Aktivitesi Ölçüm Yöntemleri

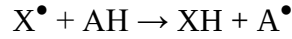
Antioksidan aktivite belirlemede çok farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin temeli; hidrojen atomu transferine (HAT, Hidrojen Atom Transfer) ve elektron transferine (ET, Electron Transfer) dayanmaktadır.

1. Hidrojen Atomu Transferine Dayanan Metot (HAT)

Antioksidan maddenin hidrojeni ile serbest radikallerin etkisiz hale gelmesinin ölçülmesi ile antioksidan aktivite belirlenmektedir.

Bu metotlarda öncelikle bir reaksiyon başlatıcı kullanılır ve peroksil radikali ($\text{ROO}^\bullet$) oluşturulur. Radikaller için antioksidan madde ortamdaki substrat ile yarışır. Peroksil

radikali tercihen antioksidandan bir hidrojen atomu alarak hidroperoksite (ROOH) dönüşür. Bu reaksiyon Şekil 2.29.'da verilmiştir. Sonuçta radikal ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilmiş veya geciktirilmiş olur [86].



Şekil 2.29. Hidrojen atomu transferine dayanan metot reaksiyonu [86]

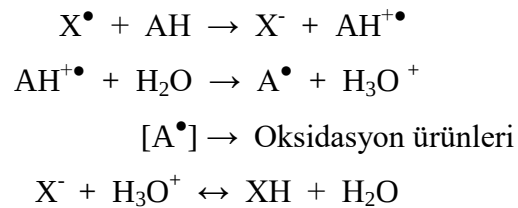
Hidrojen atom transferine dayalı yöntemleri aşağıdaki gibi sınıflandırabilir;

- a. Oksijen radikali absorbands kapasitesi, ORAC
- b. Toplam radikal yakalama antioksidan parametresi, TRAP
- c. Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu
- d. Krosin veya β -karoten ağartma metodu
- e. Kemiluminesans, CL
- f. Toplam oksidan yakalama aktivitesi, TOSC

2. Elektron Transferine Dayanan Metot (ET)

ET metotunun temel prensibi antioksidanların elektron transfer etmesi ile metal, karbonil ve radikal içeren bileşiklerin indirgenmesidir.

ET yöntemleri iki farklı bileşen içerir. Bu bileşenler antioksidan ve oksidandır. Antioksidan bir oksidan tarafından (Fe^{3+} , $ABTS^{\bullet+}$ gibi) yükseltgenir ve bir e^- antioksidandan oksidana transfer edilir. Bu elektron transferi ile oksidanda renk değişimi meydana gelir. UV/VIS spektrofotometre ile absorbandsda meydana gelen değişim ölçülür. Bu absorbands değişimi antioksidanın indirgeyici kapasitesi tayininde kullanılır [31]. ET'ye dayanan metotun genel reaksiyonu Şekil 2.30.'da verilmiştir.



Şekil 2.30. Elektron transferine dayanan metot reaksiyonu [31]

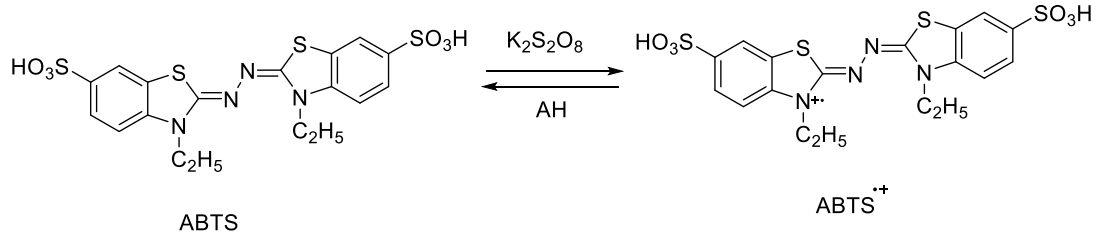
Elektron transferine dayalı yöntemler ise aşağıdaki gibi sınıflandırabilir;

- a. Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Güç, FRAP
- b. Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi, CUPRAC
- c. Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite, TEAC veya ABTS
- d. DPPH radikali yakalama kapasitesi, DPPH
- e. Folin-Ciocalteu Ayracı, FCR

HAT ve ET temelli metotlar radikal veya oksidan giderici kapasitesini ölçme esaslıdır. HAT yöntemleri ET yöntemlerine göre hızlı gerçekleşmektedir. ET yöntemleri bazı faktörlerden (çözücü ve pH gibi) etkilenir. ET yöntemleri, antioksidan tarafından oksidanın ne kadar güçlü indirgenebildiğini spektrofotometrik olarak ölçer. Renk değişimi, uygun dalga boyundaki absorbandsaki değişim ile ifade edilebilir [87].

2.8.1. Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite metodu (TEAC veya ABTS)

Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite analizi 1993 yılında Miller ve Rice-Evans tarafından uygulanmıştır [31]. TEAC yönteminde 2,2'-azonobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonat (ABTS) okside olur. ABTS peroksil veya farklı oksidanlar ile okside olur. Oksidasyon sonunda $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu oluşur. ABTS ve $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonunun molekül yapısı ve $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonunun oluşumu, antioksidan ile reaksiyonu Şekil 2.31.'de verilmiştir. $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu karanlıkta ve oda sıcaklığında 24 saat dayanıklıdır. $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu çok koyu (mavi-yeşil) bir renge sahiptir. Antioksidan kapasite ölçümünde, örneği $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonu ile reaksiyona girmesi sonucunda renkte meydana gelen azalma belirlenir. TEAC'ın için uygulanan spesifik dalga boyu 660, 734 ve 820 nm dir. ABTS yöntemi lipofilik bileşenlere uygulanabildiği gibi hidrofilik bileşenlere de uygulanabilir [88].



Şekil 2.31. ABTS ve ABTS^{•+} radikal katyonunun oksidan-antioksidan ile reaksiyonu [91]

TEAC yöntemi kolay uygulanabildiği için antioksidan kapasite tayin yöntemlerinde çalışma alanı çok geniştir. Aynı zamanda ABTS^{•+} radikali geniş bir pH aralığında kararlılık göstermektedir [89]. ABTS^{•+} radikali fenoliklerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde de kullanılabilir. Bu yöntemin dezavantajı, reaksiyonun tamamlanmasının zaman almasıdır. Reaksiyon tamamlanma süresi kısa tutulduğu zaman TEAC değerleri düşük bulunabilir [88].

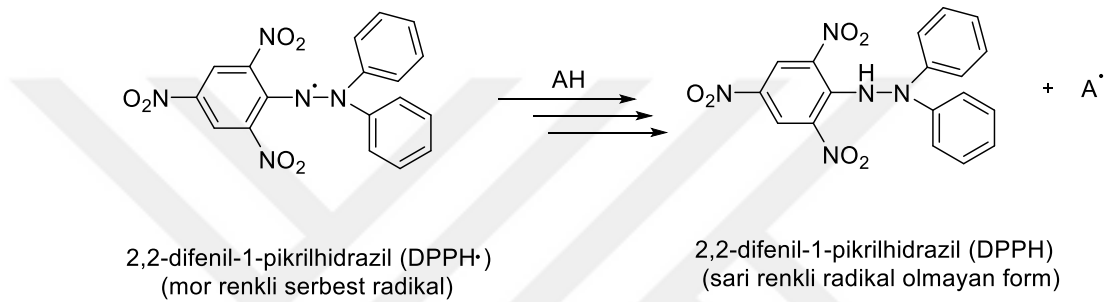
TEAC metodu için van den Berg vd. (1999) tarafından bir modifikasyon geliştirilmiştir [90]. Bu modifikasyonda 2,2'-azobis-(2-amidinopropan) HCl (ABAP) kullanılmış ve ABTS^{•-} radikal anyonu oluşturulmuştur. Bu yöntemde radikal oluşumuna etki edecek bileşiklerin girişimi önlemek için radikal oluşmadan önce antioksidan eklenmektedir.

2.8.2. DPPH radikali yakalama kapasitesi metodu (DPPH)

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali yakalama kapasitesi metodunda, sentetik bir radikal olan DPPH[•] kullanılmaktadır. DPPH kararlı ve uzun ömürlü bir azot radikali. Antioksidanın bu serbest radikal ile reaksiyonu sonucunda antioksidan aktivite tanımlanır. Peroksil radikalleriyle hızlı reaksiyon veren bazı antioksidanlar DPPH ile yavaş reaksiyona girebilir, bazen hiç reaksiyona bile girmeyebilir. Karotenoit yapıları gibi antioksidanlar ile de DPPH'nin absorbans spektrumu çakışabilir [31, 88]. DPPH yönteminde antioksidan, DPPH[•] serbest radikale proton transfer ederek reaksiyonu tamamlar (Şekil 2.32.). Bu transfer sonunda 517 nm'de absorbansında değişme meydana gelir. UV/VIS spektrofotometre ile absorbansın sabitlenmesi temeline dayanmaktadır [91]. Antioksidan maddenin farklı

konsantrasyonları ile DPPH'ın karıştırılması ile absorbansdaki değişim ölçülüp, konsantrasyona karşılık absorbans grafik çizilmektedir. Bu grafikten $y=ax+b$ denklemi belirlenip, DPPH• derişiminde %50 azalma göstermesine neden olan örnek konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$ cinsinden hesaplanmaktadır. Bu etkin derişim IC_{50} değeri olarak ifade edilmektedir.

Işık altında DPPH'in 517 nm'deki absorbansı azalma gösterirken karanlıkta önemli bir değişme olmadığı belirlenmiştir [92].

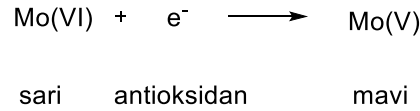


Şekil 2.32. DPPH ve antioksidan arasında gerçekleşen reaksiyon [93]

DPPH yöntemi basit ve hızlı bir metottur. Fakat ışığa ve oksijene karşı duyarlılığı çalışmalarda bazı kısıtlamalara sebep olmaktadır [93].

2.8.3. Folin-ciocalteu ayıracı (FCR) ile toplam fenolik yöntemi

Folin-Ciocalteu ayıracı (FCR) yöntemi; antioksidanların toplam fenol miktarını ölçmek için Singleton ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. FCR yönteminin temeli elektron transfer edilmesine dayanmaktadır. Bu transfer fenolik bileşikler veya farklı indirgeyici bileşiklerden molibdenyum'a olmaktadır (Şekil 2.33.). Folin-Ciocalteu reaktifi, molibdofosfotungstik heteropoliasittir ($3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 13\text{WO}_3 \cdot 5\text{MoO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Mo(VI) aktif merkez olarak kabul edilmektedir. Mavi renkli oluşan kompleks spektrofotometrik olarak 765 nm'de belirlenir [88]. Fenolik yapıdan bir protonun ayrılması ile fenolat anyonu oluşmaktadır. Bu fenolat FCR'yi indirgeme yeteneğine sahiptir. Fenolat anyonu ile FCR arasında mavi bir bileşik oluşur, bu fenolik bileşiklerin yapısından bağımsız olarak oluşmaktadır [31].

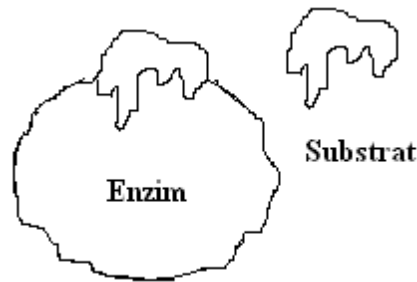


Şekil 2.33. Molibdenyum'a elektron transfer edilmesi [31]

FCR yöntemi, antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılan basit, tekrarlanabilirliği yüksek ve güvenilir bir uygulama yöntemine sahiptir. Folin-Ciocalteu ayırıcı ticari satışı bulunmaktadır. Yöntemin bazı olumsuz yönleri bulunmaktadır. Bunlardan bazıları rutin uygulamalarda zamanın uzun olması, lipofilik bileşiklere uygulanamaması ve ortamın bazik olmasından dolayı fenolik bileşenlerin sadece bu ortamda reaksiyon vermesidir [94].

2.9. Enzimler

Enzimler, metabolizma reaksiyonlarını hızlandıran, protein yapısına sahip biyolojik katalizörlerdir. Substrat, enzim tarafından değişikliğe uğratılan maddelerdir [95]. Substratlar enzimlerde bir özel bölge olan aktif bölgeye bağlanır. Şekil 2.34.'de görüleceği gibi substrat molekülünün şekli enzimin aktif bölgesine bağlanmaya uygundur [96].



Şekil 2.34. Aktif merkezin substrata uygunluğu [96]

Enzimler katalizledikleri reaksiyonların denge sabitini veya denge konumunu değiştirmezler. Reaksiyonun dengeye daha çabuk erişilmesini sağlarlar. Reaksiyon hızının artması aktivasyon enerjisinin düşmesinden kaynaklanmaktadır.

Enzimlerin aktiviteleri bazı bileşikler tarafından azaltılabilir veya tamamen yok edilebilir. Bu reaksiyonu gerçekleştiren bileşiklere ‘inhibitör’ bu sisteme enzim inhibisyonu adı verilir [95].

2.9.1. Polifenol Oksidaz Enzimi

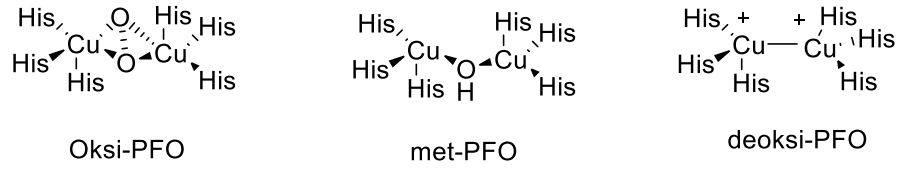
Polifenol oksidaz enzimi, Uluslararası Biyokimya Birliği (IUB) tarafından reaksiyonda kullanılan substrata göre isimlendirilmektedir. Polifenol oksidaz (tirozinaz, krezolaz, monofenol oksidaz, katekol oksidaz, fenolaz veya katekolaz, oksijen oksidoredüktaz (E.C 1.14.18.1)) olarak da bilinmektedir. Enzim isimlerindeki karışıklık için polifenol oksidazlarının adlandırılmasında düzenlemeler yapılmıştır. Tirozinaz (monofenol monooksijenaz) EC.1.14.18.1 enzim kodu ile, katekol oksidaz (difenoloksidaz, difenol oksijen oksidoredüktaz) EC.1.10.3.1 enzim kodu ile, lakkaz ise EC.1.10.3.2. enzim kodu ile belirtilmiştir [97, 98].

Katekol oksidazlar: o-Dihidroksi fenollerin O_2 varlığında o-kinonlara yükseltgenme tepkimelerini katalizleyen enzimlerdir [99].

Lakkazlar: Bu grup O_2 varlığında p-dihidroksi fenoller, p-kinonlara dönüştüren enzimlerdir.

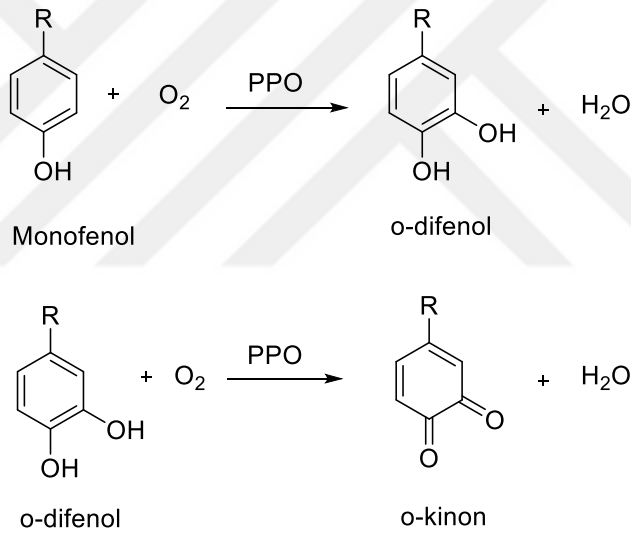
Tirozinazlar (Kresolazlar): O_2 varlığında monohidroksi fenollerin p-kinonlara dönüşmesini katalize eden enzimlerdir [100].

Polifenol oksidaz bir aktif bölgeye ve 6 histidin aminoasiti ile çevrelenmiş bir yapıya sahip olduğu bazı kimyasal ve spektroskopik araştırmalar ile belirlenmiştir. Aktif bölgenin bakır kompleksi içerdiği bilinmektedir. Bakır atomunu merkezde bulunuşlarına göre ‘met’ (Em), ‘deoksi’ (Ed), ‘oksi’ (Eo) türleri bulunur. Şekil 2.35.’de görüldüğü gibi met; $Cu^{2+} - Cu^{2+}$ aktif bölgesi *met*polifenol oksidaz, deoksi; $Cu^{+1} - Cu^{+1}$ aktif bölgesi PFO’nun indirgenmiş hali ve oks; $Cu^{2+} - O_2^{2-} - Cu^{2+}$ aktif bölgesi *oksi*polifenol oksidazdır [101, 102].



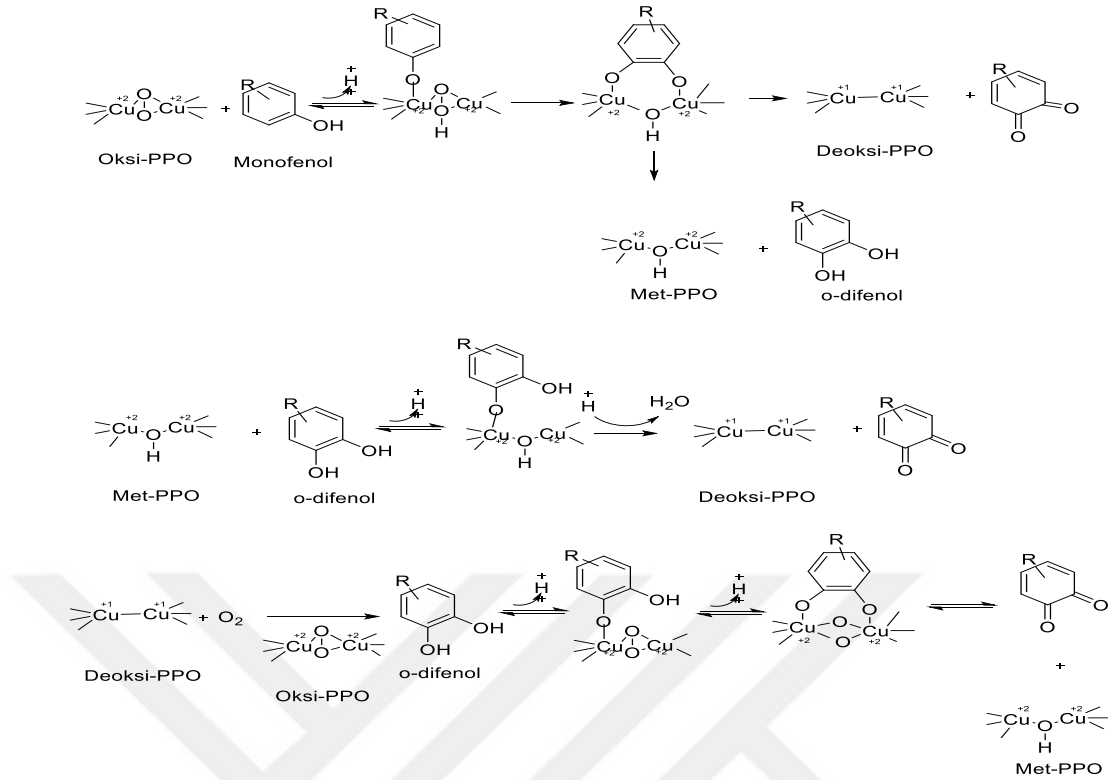
Şekil 2.35. Bakır atomunun merkezde bulunuşlarına göre polifenol oksidazlar [101]

PPO ortamda oksijen varlığında monofenollerin hidroksilasyonu ile o-difenoller oluşur. Daha sonra oksijen varlığında o-difenoller dehidrojenasyon ile o-kinonlara yükseltgenir (Şekil 2.36.). Monofenolleri katalizlemesine krezolaz, o-difenolleri katalizlemesine de katekolaz aktivitesi denilmektedir. O-kinonların bir seri oligamerisasyon ve polimerisasyon reaksiyonu ile melanin yada melanin benzeri bileşenleri oluşur [14].



Şekil 2.36. Monofenollerin o-kinonlara yükseltgenmesi [14]

Bakırın reaksiyondaki rolü; monofenollerin hidroksilasyonu sırasında ortamdaki bir molekül oksijen aktif bakırdan $2 e^-$ alarak H_2O 'ya indirgenir. Reaksiyon sonunda bakır, +2 değerlikli (inaktif) konumdadır. Bakırın tekrar aktif forma geçmesi için oluşan o-dihidroksifenolün o-kinona yükseltgenmesi gerekmektedir (Şekil 2.37.).



Şekil 2.37. Monofenollerin o-kinonlara yükseltgenmesinde bakırın reaksiyondaki etki mekanizması [101]

Fenolik bileşikler, meyve kalitesiyle ilişkili renk, tat, aroma ve doku gibi duyuşal özelliklere etki eden doğal maddelerdir. Meyve ve sebzelerde bazı doğal PPO substratları vardır. Bu substratlara örnek olarak klorojenik asit, kateşin ve epikateşin örnek olarak verilebilir [103].

2.9.2. Enzimatik esmerleşme

Fenolik maddeler ve spesifik oksidasyon enzimleri enzimatik esmerleşme reaksiyonlarında görev almaktadır. En basit olarak o-dihidroksifenol, o-kinona dönüşmesidir.

Bazı maddeler enzimatik esmerleşme reaksiyon ortamında bulunan, renk değişimine sebep olan o-kinonları geriye, yani o-kinonları fenolik formlara indirgeme özelliğine sahiptir. Bu sayede esmerleşme reaksiyonu durmakta ve renk bozulmamaktadır.

Enzimatik esmerleşme reaksiyonları bazı parametrelere göre değişiklik gösterir. Bunlar bitki çeşidi, türü, yetiştiği bölge ve meyvenin olgunluğu gibi özelliklerdir. Enzimatik esmerleşme reaksiyonunun oluşabilmesi için, PPO'nun etkilediği fenolik substratlar ve moleküler oksijenin bir arada bulunmaları gerekir. İlaveten enzim aktivitesini etkileyen sıcaklık ve pH şartlarının da uygun olması gerekir. Enzimatik esmerleşmeyi azaltmak veya durdurmak için fenolik substratlar, moleküler oksijen ve PPO'dan birinin ortadan kaldırılması gerekmektedir [104].

2.9.3. Enzimatik olmayan esmerleşmeler

Enzimatik olmayan reaksiyonları 3 grupta inceleyebilir

1. Karamelleşme; polihidroksi karbonil bileşiklerinin (indirgen şekerler ve asitleri gibi) yüksek sıcaklığa ısıtılması. Oksijen varlığına bağlı değildir.
2. Askorbik asit degradasyonu; Polifenollerin di veya polikarbonil bileşiklerine oksidatif değişmesi ve askorbik asitin mümkün oksidasyonu.
3. Maillard reaksiyonu; indirgen şekerlerin karbonil grubu ile amino asitlerin amino grubunun kondenzasyonu ile başlar ve zincir reaksiyon sonucunda polimer oluşumu ile reaksiyon tamamlanır. Bu reaksiyon oksijen gerektirmez [105, 106].

2.10. Çalışmada Kullanılan Materyaller

2.10.1. Kocayemiş (*Arbutus unedo*)

Arbutus unedo L., çilek ağacı (Ericaceae familyası) meyvesi, yaprak dökmeyen küçük ağaçtır (Şekil 2.38.). Akdeniz bölgesi ve Kuzey Afrika'da yaygın olarak yetişmektedir. Türkiye'de yetişmekte olan bu tür Anadolu'da Dağ çileği, Çilek ağacı, Enderek ve Sandal ağacı olarak da bilinen kocayemiştir (*Arbutus unedo* L.) [107].



Şekil 2.38. *Arbutus unedo* L. meyve ve yaprağı [107]

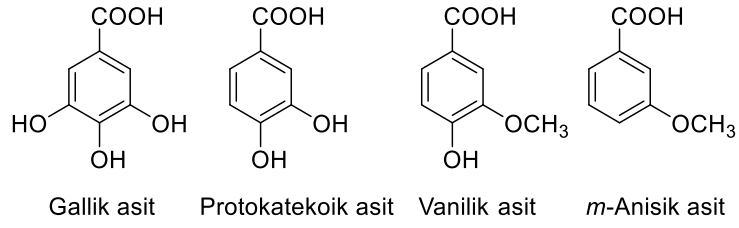
Bu meyve alkollü içecekler, reçeller, jöleler ve marmelatların üretimi için uygundur [108]. Süs, ekolojik ve ekonomik değerin yanı sıra tedavi edici ve tıbbi özellikler gibi birçok niteliğe sahiptir. İspanya ve Fas gibi bazı ülkelerde *Arbutus unedo* geleneksel tıpta hipertansiyonu tedavi etmek için kullanılmıştır [109].

Kocayemiş yapraklarının ise yüksek miktarda tanen içermesinden dolayı, idrar antiseptik, anti-inflamatuvar, anti-ishal, anti-hipertansiyon, anti-diyabetik ve insan trombosit anti-agregan gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir [110, 111].

Kocayemiş meyveleri ve yaprakları, polifenoller, aromatik asitler, iridoidler, monoterpenoidler, fenilpropanoidler, steroller, triterpenoidler ve flavonoidler gibi biyoaktif maddelerin varlığı ile bilinmektedir [112].

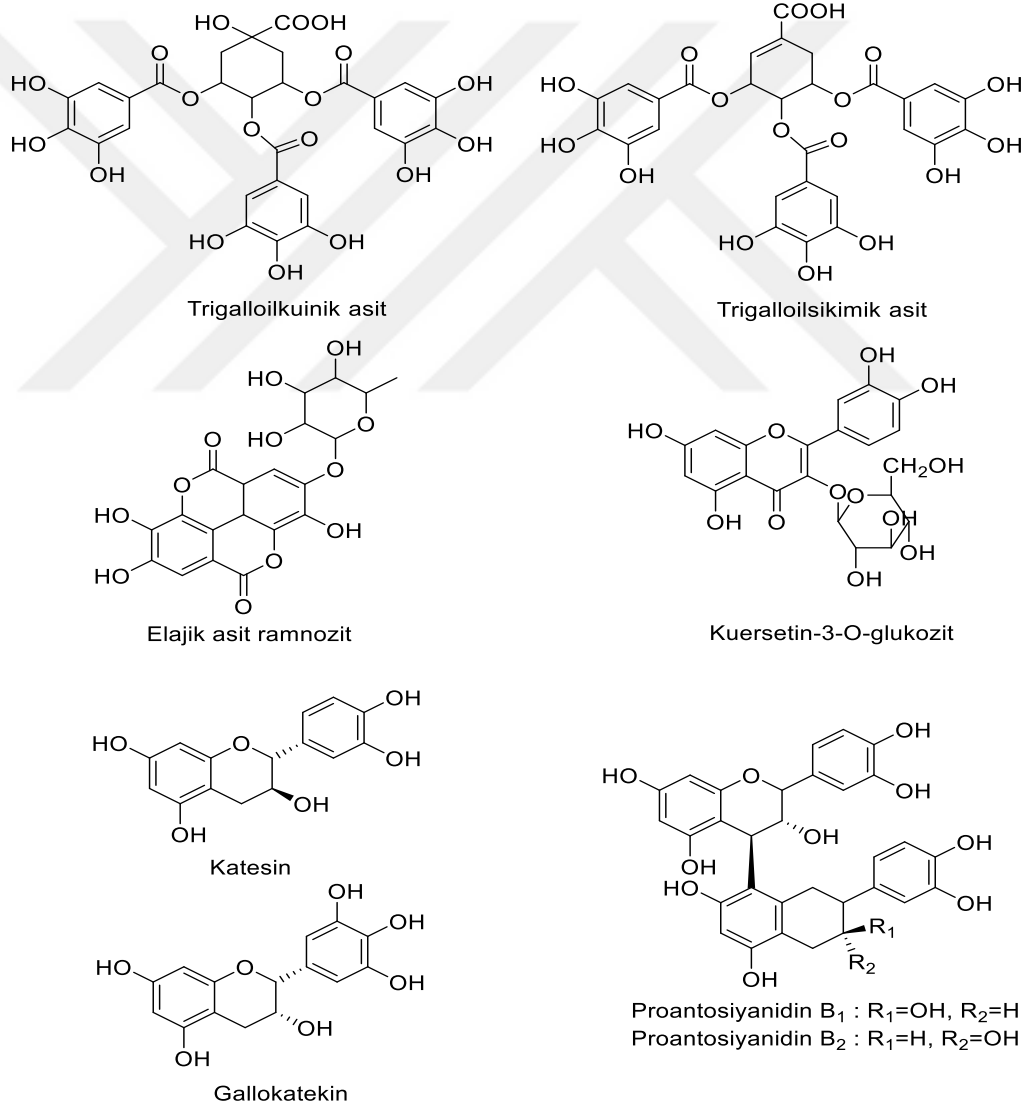
Kocayemişin yapraklarında terpenoidler, α - tokoferol, uçucu yağlar ve fenolik bileşikler gibi farklı fitokimyasal bileşikler bulunur. Kocayemiş meyvesinde fenolik asitler, flavonoller, flavan-3-oller ve antosiyaninler gibi çeşitli fenol gruplarına ait bileşenlerin varlığı bildirilmiştir [110, 113].

Kocayemiş meyve bileşiminde farklı fenolik bileşikler (gallik asit, protokateşik asit, gentisik asit, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, m-anisik asit (Şekil 2.39.) ve arbutin, β -D-glukogalin, gallik asit 4-o- β -D-glukopiranozit, 3-o-galloilkinik asit, 5-o-galloilkinik asit, 3-o-galloilşikimik asit ile 5-o-galloilşikimik asit) yani sıra vitaminler de dahil olmak üzere birçok önemli antioksidan bileşik içerir [110].



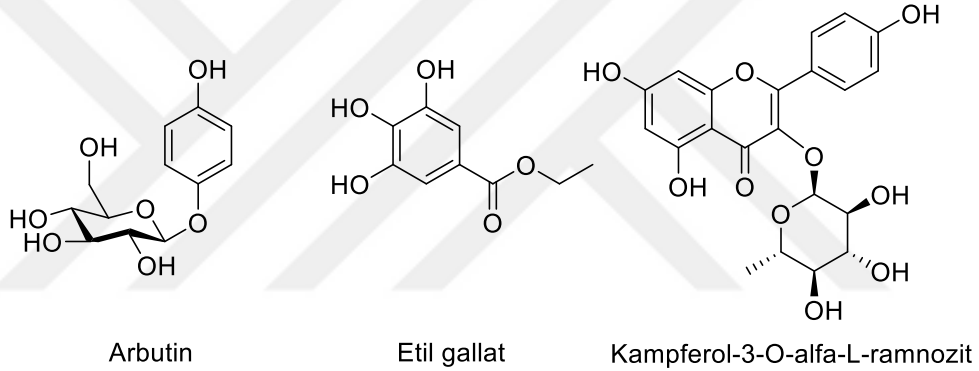
Şekil 2.39. *A.unedo* meyvelerinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [110]

A.unedo meyvelerinde bulunan bazı galloil türevlerinin, tanenlerin, flavonollerin ve proantosiyanidinlerin kimyasal yapıları Şekil 2.40.'da verilmiştir [114, 115].



Şekil 2.40. *A.unedo* meyvelerinde bulunan bazı galloil türevlerinin, tanenlerin, flavonollerin ve proantosiyanidinlerin kimyasal yapıları [114, 115]

Yapraklarda üç kaempferol izomeri ve dört quercetin izomeri bulunur. Males ve ark. (2006) *A. unedo* yapraklarının flavonoid bileşimini incelemiş ve kersetin, izokersitrin, hiperosid ve rutin tanımlamıştır [116]. Carcache-Blanco ve ark. (2006) (-)- katequin'in tanımlandığını bildirirken, Fiorentino ve ark. (2007) arbutin, etil gallat, p-hidroksibenzoil arbutin, galloilarbutin, (+)-gallokateşin, kateşin, kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside, kuersetin 3-O- α -l-ramnopranozid, mirisetin 3-O- α -l-ramnopranozid, kaempferol 3-O- β -d-arabinofuranozid, kuersetin 3-O- β -d-arabinofuranozid ve mirisetin 3-O- β -d-arabinofuranozid gibi oniki fenolik bileşik tanımladı [117, 118]. Yaprakta bulunan bazı fenolik maddelerin kimyasal yapısı Şekil 2.41.'de verilmiştir.



Şekil 2.41. *A.unedo* yapraklarında bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [117, 118]

2.10.2. Ayva (*Cydonia oblonga* Miller)

Ayva (*Cydonia oblonga* Miller), Rosaceae familyasının yaprak döken bir ağacının meyvesidir (Şekil 2.42.). Ilıman bir iklimde yetiştirilen meyve çeşitleri arasında yer alan ayva Kuzey Batı İran, Kuzey Kafkasya, Hazar Denizi ve Kuzey Anadolu'da yetişmektedir [119]. Tıbbi ve besin değerleri nedeniyle fonksiyonel bir meyve olarak kabul edilen ayva, daha çok reçel, marmelat, jöle, likör ve kek üretiminde kullanılmaktadır [97].

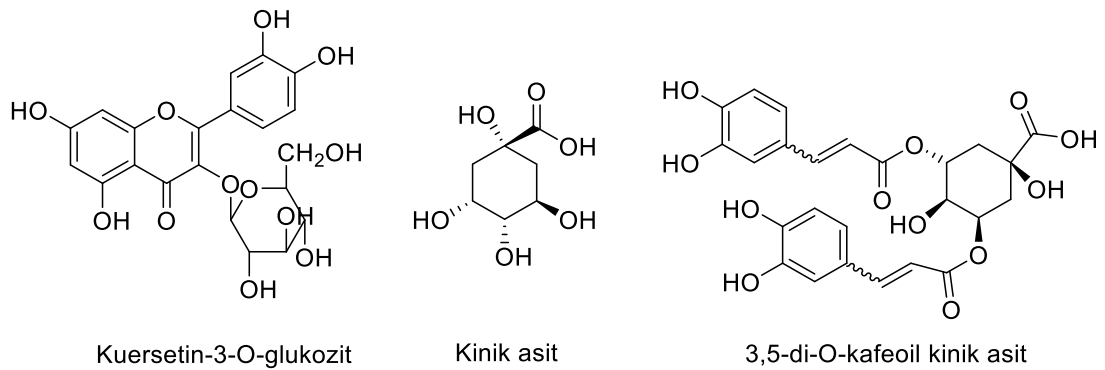


Şekil 2.42. *Cydonia oblonga* Miller meyvesi [97]

Ayva meyvesi, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-ülseratif özellikleri ile karakterize edilen biyolojik olarak aktif bileşenlere sahiptir. Sağlığı geliştirici etkisi iyi, ucuz ve önem taşıyan bir diyet besini olarak kabul edilmektedir [120].

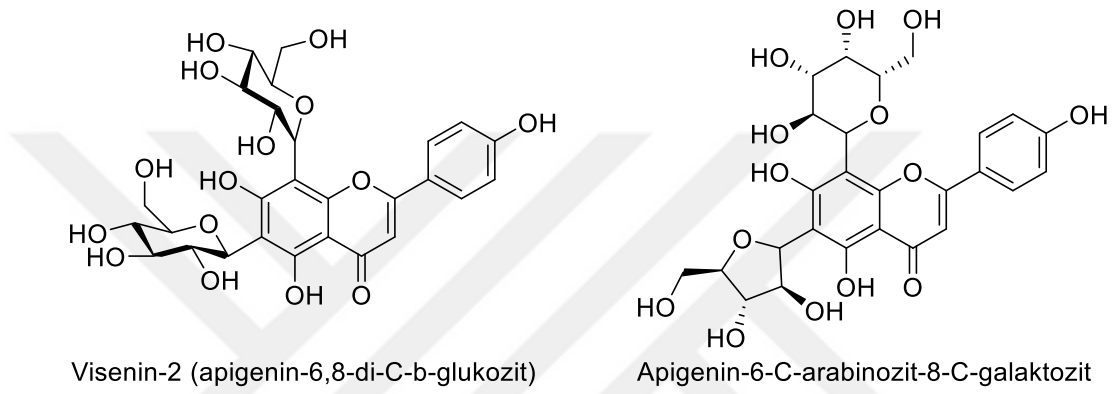
Ayva yaprakları, kaynatma veya infüzyondan sonra, geleneksel tıpta sakinleştirici, ateş düşürücü, ishal ve öksürük kesici özellikleri ile çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır [121].

Ayva kabuğu 13 fenolik içerir ve bunlardan bazıları; 3-O-kafeoilkinik, 4-O-kafeoilkinik, 5-O-kafeoilkinik, 3,5-di-O-kafeoilkinik asitler, kuersetin 3-galaktosit, rutin, kaempferol 3-glukozit, kaempferol 3-rutinosid ve 5 tanımlanamayan bileşik [122]. Bu fenolik bileşiklerden bazılarının kimyasal yapısı Şekil 2.43.'de verilmiştir.



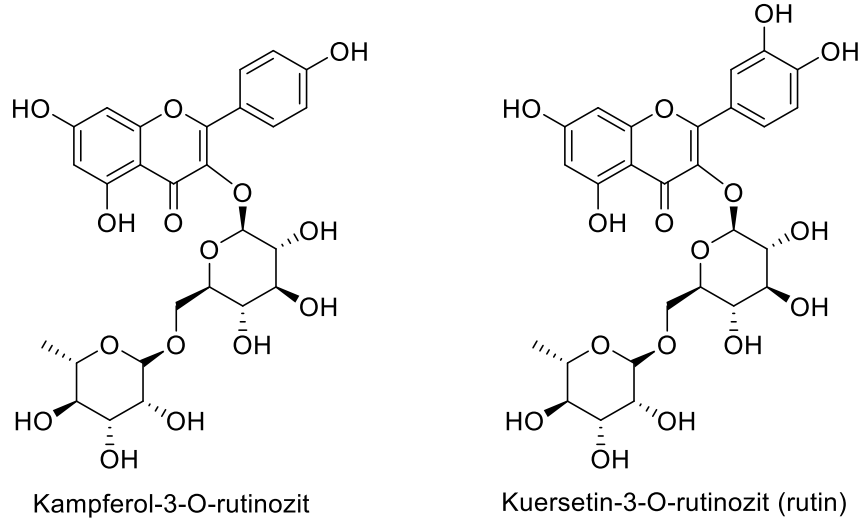
Şekil 2.43. Ayva kabuğunda bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [122]

Ayva çekirdeğinde bulunan bazı fenolik bileşikler, 3-O-kafeoilkinik, 4-O-kafeoilkinik, 5-O-kafeoilkinik ve 3,5-dikafeoilkinik asitler, lucenin-2 (6,8-di-C-glukosil luteolin), visenin-2 (6,8-di-C-glukosil apigenin), stellarin-2 (6,8-di-C-glukosil krizokol), izoshaftosid (6-C-arabinosil-8-C-glukosil apigenin), shaftosid (6 - C-glukosil-8-C-arabinosil apigenin), 6-C-pentosil-8-C-glukosil krizokol ve 6-C-glukosil-8-C-pentosil krizokol olup Şekil 2.44.'de bazılarının kimyasal yapısı verilmiştir [123].



Şekil 2.44. Ayva çekirdeğinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [123]

Ayva yaprağı ekstraktında ise dokuz fenolik bileşikten oluşan bir kimyasal profil belirlenmiştir. Bu fenolik maddeler; 3-O-, 4-O- ve 5-O-kafeoilkinik asitler, 3,5-O-dikafeoilkinik asit, kuersetin-3-O-galaktozid, kuersetin -3-O-rutinosid (rutin), kampferol-3-O -glikozit, kampferol-3-O-glukozit ve kampferol-3-O-rutinosid'dir [124]. Ayva yaprağında bulunan bazı fenolik maddelerin kimyasal yapısı ise Şekil 2.45.'de verilmiştir.



Şekil 2.45. Ayva yaprağında bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [124]

2.10.3. Nar (*Punica granatum* L.)

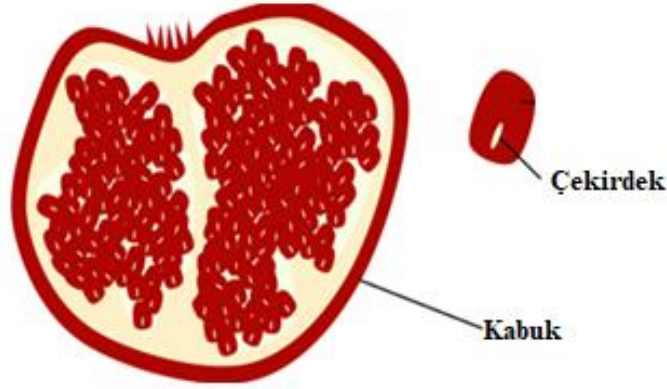
Nar (*Punica granatum* L.), Punicaceae familyasına ait, bilinen en eski yenilebilir meyvelerden biridir. Nar, İran, Hindistan, Mısır, Lübnan, Çin, İspanya, Fransa, ABD, Umman, Suriye, Tunus, İtalya, Yunanistan, Kıbrıs, İsrail, Türkiye, Şili, Portekiz ve Güney Afrika gibi bölgelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir [125, 126].

Nar yaygın olarak taze meyve ve meyve suyu olarak tüketilen yenilebilir bir meyvedir. Fitokimyasallar açısından zengin olduğu için 'süper meyve' olarak kabul edilir ve sayısız sağlık yararı olduğu bilinir [127].

Nar meyvesi fenolik asitler, tanenler, flavonoller ve antosiyaninler dahil olmak üzere zengin bir biyoaktif bileşik kaynağıdır. Narın kabuğunda ve diğer anatomik kısımlarında yaklaşık 48 fenolik bileşik (antosiyaninler, gallotaninler, hidroksisinamik asit, hidroksibenzoik asitler, ellajitanninler ve gallagil esterleri gibi hidrolize olabilen tanenler) tespit edilmiştir [128, 129].

Narlardan meyve suyu ekstraksiyonunda, kabuğu ve çekirdeğinden sonra kalan katı atık, flavonoidler (ör, antosiyaninler), hidrolize edilebilir tanenler (ör, punikalagin ve ellagik asit) ve yağ asitleri (ör, punisik asit) gibi çeşitli biyoaktif ve besin bileşenleri

içerir. Nar biyoatıklarındaki bu bileşenler, gıda ve cilt sağlığında çeşitli potansiyel katma değer uygulamalarına sahiptir [130].

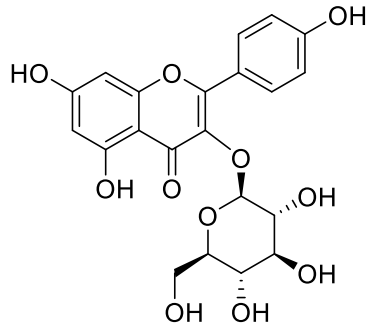


Şekil 2.46. Nar meyvesinin kabuk ve çekirdekleri [131]

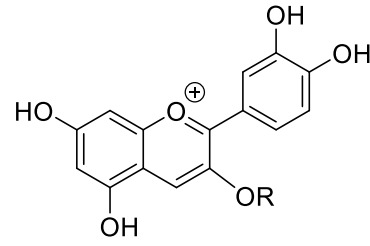
Tüm meyvenin yaklaşık %50'sini oluşturan Şekil 2.46.'da görülen nar kabuğu, esas olarak birkaç biyoaktif bileşikten oluşan yenmeyen kısımdır. Kabuki kısmı hidrolize olabilen tanenler (pedunkulajin, punikalın, punikalajin, ellajik ve gallik asitler), flavonoidler (kateşinler, antosiyaninler ve diğer kompleks flavonoidler), kompleks polisakkaritler ve mineraller (fosfor, magnezyum, kalsiyum, potasyum ve nitrojen) gibi bileşiklere sahiptir [131, 132]

Nar çekirdeğinde sekiz flavonoid, ((+)-kateşin, dihidroksigallokateşin, naringenin heksosit, kuersitrin3-O-ramnozit, kuersirtin heksozit, kampferol-3-O-glukozid, ayrıca cis- ve trans-dihidrokkampferol-heksozit) tanımlanmıştır. Nar çekirdeğinde on iki antosiyanin tespit edilmiştir ve dört antosiyanin tanımlanmıştır (siyanidin-3-O-pentosit, pelargonidin-3-O-glukozit, siyanidin-3-O-glukozit ve delphinidin-3-O-glukozit) [133].

Nar kabuk ve çekirdeğinde bulunan bazı flavonoid ve tanenlerin kimyasal yapısı Şekil 2.47.' de verilmiştir.



Kampferol-3-O-glukozit



Siyanidin-3-galaktosil : R=galaktoz
 Siyanidin-3-arabinosil : R=arabinoz
 Siyanidin-3-ksilosil : R=ksiloz
 Siyanidin-3-glukosil : R=glukoz

Şekil 2.47. Nar kabuk ve çekirdeğinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapısı [133]

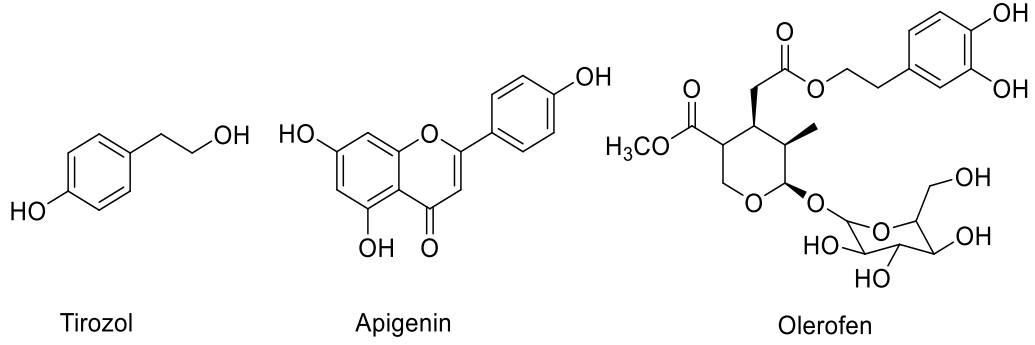
2.10.4. Pirina

Her yıl binlerce ton zeytin atığı üretiliyor, bu atık ürünler genellikle çöplüklere atılır ve bu da fenolik bileşiklerin varlığından dolayı çevresel sorunlara sebep olur. Bu nedenle, zeytin atık ürünlerinin bertarafı, bazı zeytin yetiştiren ülkelerde önemli bir sorun olmuştur [134].

Pirina, modern zeytinyağı endüstrisinin en bol ve ilgili yan ürünü olan, yarı katı bir yan üründür [135]. Pirinanın içeriği zeytinin cinsine, yetiştirildiği bölgenin iklim ve toprak şartlarına, zeytinden yağın çıkarılması sırasında kullanılan sisteme göre değişmektedir [136]. Pirina geleneksel veya modern olmak üzere iki tip üretilmektedir. Bu iki pirina çeşidi sırasıyla %25-30 ve %45-55 su içerir [137].

Pirina yüksek miktarda fenolik bileşikler içermesinin yanı sıra potasyum, kalsiyum, magnezyum, metaller, şekerler, azotlu bileşikler, uçucu yağ asitleri, polialkoller, pektinler ve yağlar gibi birçok organik ve inorganik bileşik de içerir [138, 139, 140]. Fenolik bileşikler, pirinadaki ana antioksidan bileşiklerdir. Pirina, birkaç sınıfa ayrılabilen farklı fenolik bileşikler içerir; basit fenoller (ör, tirozol ve hidroksitirozol) sinamik asit türevleri, flavonoidler (ör, apigenin, luteolin ve rutin (kersetin-3-rutinosit) ve sekoiridoidler (ör, olerofen), olerofen aglikon ve de (karboksimetil) olerofen aglikon izomerleridir [141].

Pirinada bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı Şekil 2.48.'de verilmiştir.



Şekil 2.48. Pirinada bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [141]

2.10.5. Siyah havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef)

Mor havuç olarak da bilinen siyah havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef) (Şekil 2.49.), Türkiye, Afganistan, Mısır, Pakistan, Hindistan ve Uzak Doğu gibi ülkelerde yetişmektedir. Turuncu havuç çok fazla yaygın olmasına karşın, insan sağlığına olan faydalarından dolayı şu anda Batı Avrupa'da siyah havuç tüketimi artmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin içeriği ile ilişkilendirilen antioksidan, anti-proliferatif ve anti-inflamatuvar gibi etkiler göstermektedir [142].

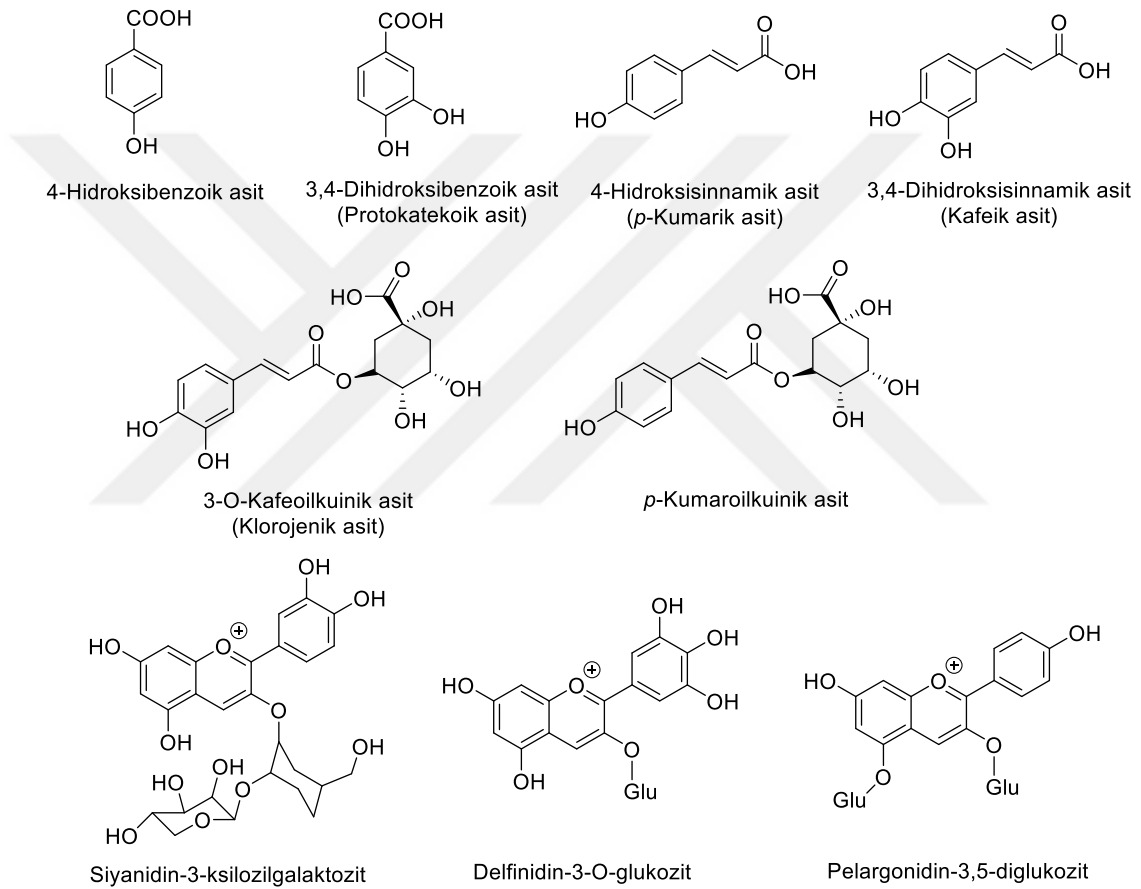


Şekil 2.49. Siyah havuç meyvesi [142]

Siyah havuç, antosiyaninlerdeki benzersiz profiline atfedilen yoğun bir mor renk ile karakterize edilir. Siyah havuçtaki bulunan bazı antosiyaninler, siyanidin-3-feruloil-ksilosil-glukosil-galaktozid ve siyanidin-3-sinapoil-ksilosilglukosil-galaktozid gibi siyanidin türevleridir. Aynı zamanda antikanser, antidiyabetik ve kardiyovasküler

özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Siyah havuç, antosiyaninlerin yanı sıra, kafeoilkinik, klorojenik, kafeik, sinapik, ferulik ve kumarik asitler dahil olmak üzere önemli miktarda fenolik asit içerir [143].

Siyah havuç ta dört hidroksibenzoik asit, yedi hidroksisinamik asit, iki flavonoid ve sekiz antosiyanin dahil olmak üzere toplam 21 polifenol tanımlanmıştır [144]. Bunlardan bazılarının kimyasal yapısı Şekil 2.50.'de verilmiştir.



Şekil 2.50. Siyah havuçta bulunan bazı fenolik bileşiklerin ve antosiyaninlerin kimyasal yapısı [144]

2.10.6. Mürdüm eriği (*Prunus domestica* subsp. *Insittia*)

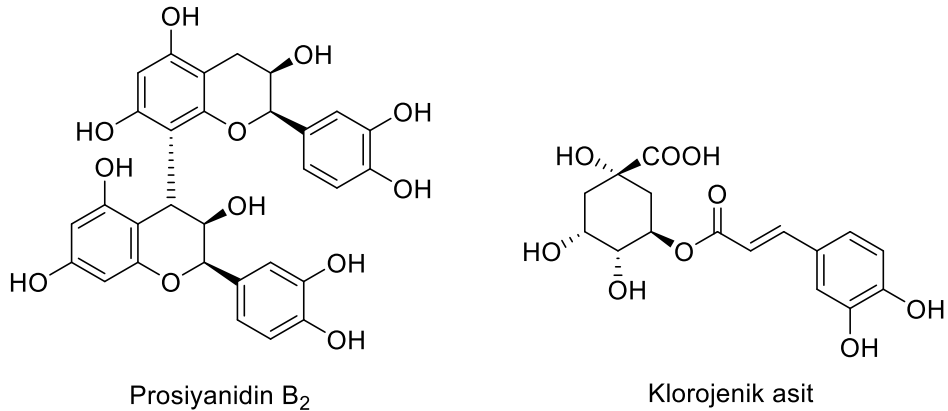
Mürdüm eriği (*Prunus domestica* subsp. *Insittia*) Avrupa–Asya türleri arasında bulunmaktadır. Mürdüm eriği, Mirabel veya Damson eriği olarak da adlandırıldığı bilinmektedir (Şekil 2.51.). Erik, taze olarak tüketilmesi ile beraber; kurutmalık,

meyve suyu, konsantre, reçel, marmelat, konserve, dondurma gibi çok çeşitli şekillerde değerlendirilebilmektedir [145].



Şekil 2.51. Mürdüm eriği meyvesi [145]

HPLC kullanılarak mürdüm eriği ekstraktında altı fenolik bileşik tanımlanmıştır. Bu fenolik bileşikler; klorojenik asit, p-kumaroilkinik asit, bir tanen: prosiyanidin B2 ve üç flavonoid: (-)-epikateşin, rutin ve izokerşetin olup kimyasal yapıları Şekil 2.52.'de verilmiştir [146].



Şekil 2.52. Mürdüm eriğinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [146]

2.10.7. Kuşburnu (*Rosa canina*)

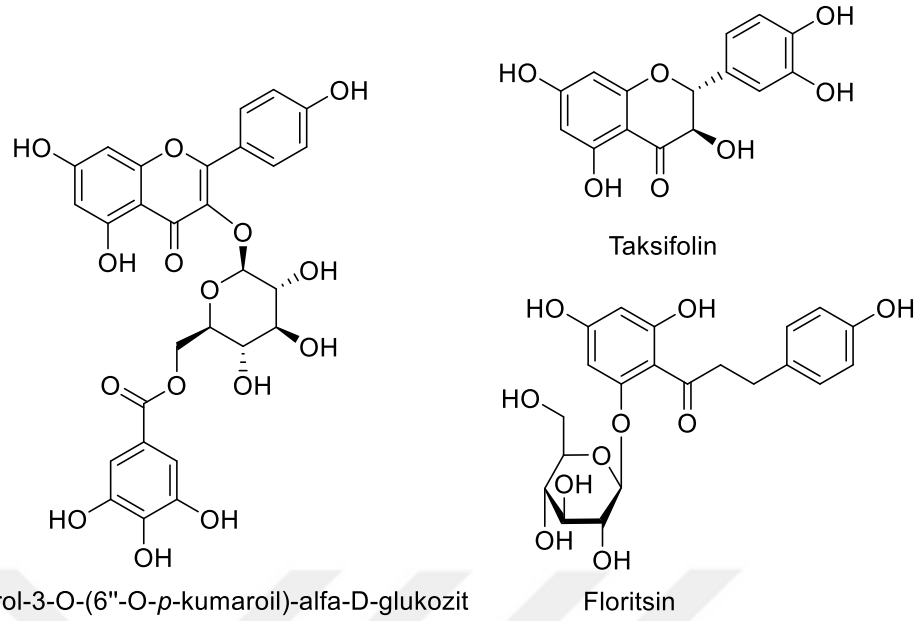
Rosa canina halk arasında kuşburnu, it burnu, gül burnu, yabani gül, gül elması, domuz turpu, köpek gülü, it gülü, şillan gibi farklı isimlerle bilinmektedir. Kuşburnu meyvesi Şekil 2.53.'de verilmiştir.



Şekil 2.53. Kuşburnu meyvesi [147]

Kuşburnu bitkisi Anadolu’da yaygın olarak yetişmesinden dolayı halk arasında tedavi ilaçlarında kullanılmıştır. Anadolu’da hemoroit, soğuk algınlığı, abdominal ağrılar ve romatizmada bitkinin meyveleri ve kökleri [147], Batı Karadeniz Bölgesinde kuşburnu bitkisinin kök ve meyveleri hemoroit tedavisinde, yaprak ve çiçeklerinin kaynatılmış formu bronşit tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca Orta Anadolu Bölgesi’nde ise böbrek, mide rahatsızlıklarında, ülser ve romatizmal ağrıların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca meyveleri şeker hastalığının tedavisinde tüketilmektedir [148].

Taze olgun kuşburnu, terpenoid bileşikler, tokoferoller, karotenoidler ve askorbik asitçe zengindir [149]. Kuşburnu ve tohumlarında eriyodiktiyol, taksifolin, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, kersetin, kemferol-3-O-(6"-O-E-p-kumaroil)- β -D-glukopiranozit ve -3-O-(6"-O-Z-p-kumaroil)- β -D-glukopiranozit, kersitrin, apigenin, floridzin ve metil gallat varlıkları tespit edilmiştir (Şekil 2.54.). Meyvalar fitoostrojen etkili matairesinol ve sekoisolarisiresinol ve kersetin flavonoitini içermektedir [150].



Şekil 2.54. Kuşburnu meyvesinde bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [150]

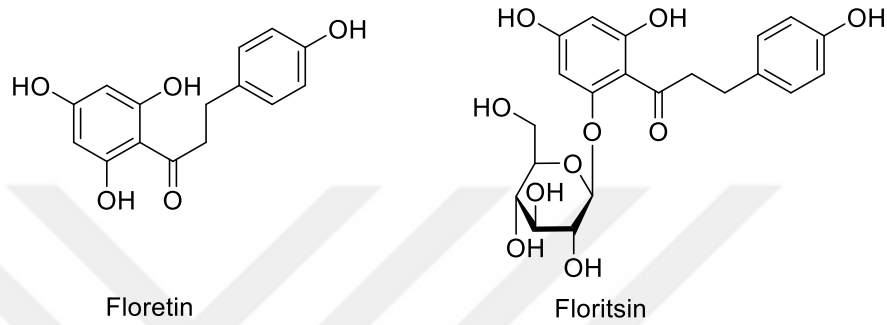
2.10.8. Elma (*Malus domestica*)

Elma (*Malus domestica*), *Rosaceae* familyasının, *malus* cinsinden bir meyvedir (Şekil 2.55.). *Malus* cinsine girer. *Malus* cinsi içerisinde Asya, Avrupa, Amerika ve başka ülkelerde yetişen 30'dan fazla türü bulunmaktadır [151]. Elma ağaçlarının çiçekleri pembe ya da beyazdır. Ser ve parlak bir kabuğa sahip olan elmanın kırmızıdan yeşile kadar renk skalası geniştir. Hoş bir kokusu olmakla beraber ekşi ya da tatlı bir tadı olan, gevrek ve küçük çekirdekli yenilebilen bir meyvedir.



Şekil 2.55. *Malus domestica* meyvesi [151]

Oldukça güçlü antioksidan aktiviteye sahip olan elma fenolik bileşiklerden oluşan fitokimyasallar içermektedir [152]. Elmanın içerdiği bazı fenolik bileşenler flavonoidler; flavonoller (kuersetin ve glikozitleri), flavanoller {(-)-epikateşin, (+)-kateşin ve onların oligomerleri olan prosiyanidinler} ve sadece elmalara özgü olan dihidrokalkonlar (floritsin ve floretin)'dir (Şekil 2.56.). Ayrıca elmalarda en çok klorojenik asit bulunmaktadır [153].



Şekil 2.56. Elmada bulunan bazı fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı [153]

Elma suyu üretiminde presleme sonrası açığa çıkan posa, başlangıç ürün miktarının yaklaşık % 20-35'ini oluşturmaktadır. Oluşan posanın bileşiminde ise % 94,5 oranında meyve eti ve kabuğu, % 4,1 oranında meyve çekirdeği ve % 1,1 oranında meyve sapı yer almaktadır [154].

Dolayısıyla yapılan çalışmalar elmanın sadece meyve eti, kabuğu veya meyve suyu ile sınırlı kalmamış aynı zamanda gıda sanayinde elmanın çeşitli ürünlere işlenmesi sonucu açığa çıkan, diyet lifi ve fitokimyasallar açısından zengin posası [155] ve içerisindeki çekirdeklerde [156] çeşitli araştırmalara konu olmuştur.

BÖLÜM 3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Kocayemiş meyvesi ve yaprağı, ayva kabuğu, çekirdeği ve yaprağı, mürdüm eriği, kuşburnu (Pamukova, SAKARYA), siyah havuç ve elma posası fabrikasyon atık (Döhler gıda Karaman/Konya), pirina (ırmak zeytinyağı fabrikası Pamukova/Sakarya), nar meyve suyu atığı kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan araç-gereçler

Çalışmada kullanılan başlıca ekipmanlar, hassas terazi (AND GX-600), öğütücü (Waring blender), ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (MTOPS Ms300), worteks (SCIOLOGEX MX-S), Eppendorf Research plus mikropipet, pH metre (BANTE 921), soxhelet, Heidolph rotary evaporator, Shimadzu UV-1240 spektrofotometre ve renk ölçerdir (3nh NR60CP).

3.2.2. Kullanılan kimyasal çözeltiler

Metil alkol, Folin Ciocalteu fenol reaktifi, sodyum karbonat, gallik asit, 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), askorbik asit, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), potasyum persülfat, Tyrosinase from mushroom (≥ 1000 unit/mg solid), Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat, di-Sodyum hidrojen fosfat dihidrat, 1,2-dihidroksibenzen (katekol). Tüm kimyasallar Sigma Aldrich ve Merck olarak temin edilmiştir.

3.2.3. Kimyasal çözeltilerin hazırlanışı

%20 Na_2CO_3 : 20 g sodyum karbonat suda çözülülerek 100 ml ye tamamlanmıştır.

DPPH $\cdot$ Radikal çözeltisi: 5 mg 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil tartılıp %70 lik metil alkol ile çözülerek hacmi 250 ml ye tamamlanmıştır.

ABTS $\cdot^+$ radikal çözeltisi: ABTS'den 19,2 mg tartılıp su ile hacmi 5 mL'ye tamamlanır ve 7 mM ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. ABTS stok çözeltisine 3,31 mg $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ilave edilerek son konsantrasyonu 2,45 mM olacak şekilde hazırlanmıştır. ABTS $\cdot^+$ radikal çözeltisi, 24 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra stok çözelti su ile seyreltilerek kullanılmıştır.

0,1 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 1,7799 g tartılıp 50 ml suda çözülüp hacmi 100 ml ye tamamlanmıştır.

0,1 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 1,5602 g tartılıp 50 ml suda çözülüp hacmi 100 ml ye tamamlanmıştır.

0,1 M fosfat tamponu (pH: 6.8): 5,8 ml $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ile 4,2 ml $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ karıştırılıp pH ayarı yapılmıştır.

Tirozinaz enzimi: Liyofilize olarak satın alınan tirozinaz enzimi (2,94 mg solid) 500 μL pH 6,8 fosfat tamponu ile çözülmüştür. 50 μL lik ependorf tüplere bölünerek -20°C de muhafaza edilmiştir.

0,1 M katekol: 0,11 g 1,2-dihidroksibenzenden tartılarak 10 ml fosfat taponu ile çözülmüştür.

3.2.4. Ekstraksiyon

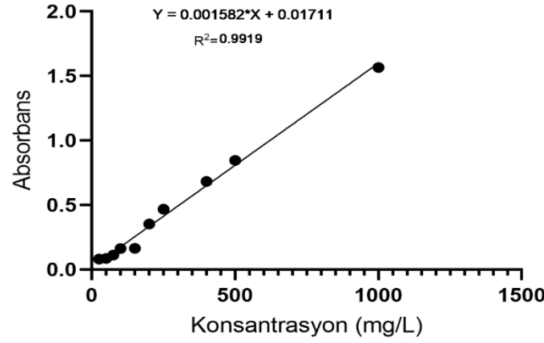
Ekstraksiyon için kullanılan tüm materyaller kurutulup muhafaza edilmiştir. 3 g tartılan örnekler (kocayemiş ve yaprağı, ayva yaprağı, kabuğu ve çekirdeği, kuşburnu, nar posası, elma posası, siyah havuç posası, mürdüm eriği kabuğu ve pirina) metil alkol ile 18000 rpm’de homojenize edilip 1 saat oda koşullarında ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar buhner hunisinde vakum altında kuruluğa kadar süzölmüştür. Süzöntü rotary evoparatörde uzaklaştırılmıştır. Ekstraktlar uygulanacak analiz solventi ile istenilen konsantrasyonlarda hazırlanıp kullanılmıştır.

Bu örneklerden pirina ekstrakte edilmeden önce hekzan ile yıkanmıştır. Kocayemiş ve ayva yaprağında ise önce hekzan ile 18 saat boyunca sokshelet sisteminde ekstraksiyon işlemine başlanmıştır.

3.2.5. Toplam fenolik madde tayini

Ekstraktlardan hazırlanan 1000 ppm numunelerin toplam fenolik madde miktarının tayini için Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi uygulanmıştır. Buna göre tüplere 100 µl örnek konup üzerine 200 µl Folin ayıracı ve 2 ml saf su ilave eklendikten sonra 3 dakika beklenmiştir. Daha sonra 1 ml sodyum karbonat (%20’lik Na_2CO_3) ilave edilmiş ve 1 saat karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometrede (Shimadzu UV-1240) 765 nm dalga boyundaki absorbansı ölçölmüştür. Örneklerin fenolik madde içeriğinin belirlenmesi için gallik asit kullanılarak standart eğri hazırlanmış ve bu eğriye göre hesaplanmıştır. Standart eğri için 25-1000 mg/L konsantrasyon aralığında 10 farklı gallik asit çözeltisi hazırlanmıştır ve 765 nm dalga boyundaki absorbans değeri belirlenmiştir. Belirlenen bu değeri ile gallik asit konsantrasyonları kullanılarak bir grafik çizilmiş ve bu grafikten gallik asit standart eğrisini tanımlayan denkleme ulaşölmüştür (Şekil 3.1.). Ekstraktların fenolik madde miktarlarını belirlemek için spektrofotometrede okunan absorbans değeri gallik asit standart eğrisini veren denklemde yerine konularak gallik asit eşdeğeri (GAE) hesaplanmıştır. Uygun seyreltme oranı ile eşitlikten bulunan değeri çarpılarak ekstraktların toplam fenolik madde miktarı mg GAE/g ekstrakt olarak hesaplanmıştır.

Bu ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak verilmiştir.



Şekil 3.1. Gallik asit standart eğrisi

3.2.6. DPPH aktivite ölçümü

0,05 mM olarak hazırlanan DPPH[•] radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) mevcut olarak ortamda bulunan hidrojen verici bileşikler ile reaksiyona girerek hidrazine indirgenmekte ve DPPH[•] çözeltisinin sahip olduğu mor-menekşe rengi bu indirgenme ile sarıya dönmektedir. Rengin açılması DPPH[•] radikal çözeltisinin absorbansındaki azalışın 517 nm’de ölçülmesiyle belirlenmiştir. Ekstrakt konsantrasyonları 125-1000 mg/L aralığında hazırlanmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlardan 200 µL alınarak taze hazırlanmış 3 ml DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisine eklenmiştir. Standart olarak aynı oranda sırasıyla askorbik asit kullanılmıştır. 30 dk karanlıkta inkübe edilip sonra absorbans değerleri 517 nm’de okunmuştur. DPPH inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. İnhibisyon değerlerine karşılık konsantrasyon grafiği çizilmiş ve regresyon eşitliğinden hesaplama yapılmıştır. IC₅₀ değeri kalibrasyon eğrisinden bulunmuştur. Bu analiz 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak verilmiştir.

$$\%İnhibisyon = \frac{(Abs\ kontrol - Abs\ örnek)}{Abs\ kontrol} * 100 \quad (3.1)$$

Abs kontrol = Kontrol grubunun absorbansı

Abs örnek = Kullanılan örneğin absorbansı

3.2.7. ABTS aktivite ölçümü

Mavi-yeşil renkli $ABTS^{\cdot+}$ radikal çözeltisi kullanılmak üzere 734 nm’de absorbans değeri $0,7 \pm 0,02$ olacak şekilde su ile seyreltilmiştir. 3 mL $ABTS^{\cdot+}$ çözeltisi üzerine 100 μ L farklı konsantrasyonlarda (125-1000 mg/L) hazırlanmış ekstraktlardan ilave edilip 734 nm’de başlangıç olmak üzere 6. dakika sonundaki farklı absorbans değerleri kaydedilmiştir. Standart olarak askorbik asit kullanılmıştır. Absorbans değerinden faydalanılarak % inhibisyon değeri hesaplanmıştır. Elde edilen ölçümler neticesinde her bir ekstraktın inhibisyon-konsantrasyon grafiği elde edilmiştir. Grafikten elde edilen denklem ile IC_{50} değeri hesaplanarak verilmiştir. Bu analiz 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak verilmiştir.

$$\%Inhibisyon = \frac{(Abs - Abs \text{ örnek}) * 100}{Abs} \quad (3.2)$$

Abs = $ABTS^{\cdot+}$ radikal absorbansı

Abs örnek = Örnek absorbansı

3.2.8. PPO enzim inhibisyon ölçümü

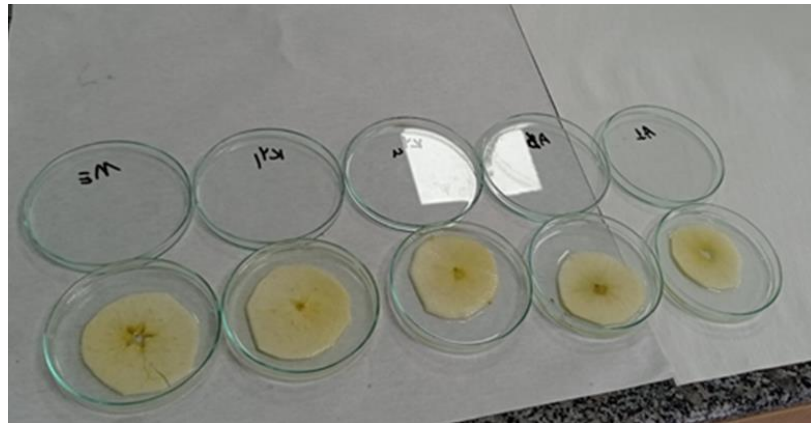
Enzim aktivitesi belirlemek için 2 ml tampon çözelti ve 950 μ L su 12,5x12,5x45 mm’lik spektrofotometre kuvetine alınmıştır. Üzerine 40 μ L substrat ve 10 μ L enzim ilave edilmiştir. 180 dakika boyunca 420 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedilmiştir. Dakikadaki absorbans farkı 0,001 olacak şekilde ayarlanmış ve bu değer %100 olarak kabul edilmiştir. Enzim inhibisyon aktivitesinde de 100 μ L farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ekstraktlardan ilave edilerek 3 dakika boyunca ölçüm alınmıştır. % inhibisyon değerleri hesaplanarak konsantrasyona karşı grafiği çizilmiştir. Sonuçlar IC_{50} değeri hesaplanarak verilmiştir. Bu analiz 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak verilmiştir.

3.2.9. Renk ölçümü

Hazırladığımız ekstraktların esmerleşme üzerinde etkisini gözlemlemek için starking elma kullanılmıştır. Herbir ekstraktan 1 mg/mL’lik sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerden 10 mL alınarak ayrı ayrı petri kaplarına koyuldu (Şekil 3.2.). Hazırlanan ekstrakt çözeltilerine 2 mm kalınlığında dilimlenen elmalar daldırılıp 3 dakika beklendikten sonra boş petrilere alınarak beklemeye başlanmıştır. Ölçümler 5., 15., 30., 60., 120., 180. ve 240. dakikalarda alınmıştır. Aynı zaman dilimleri içinde kontrol olarak 1mg/mL’lik askorbik asit uygulanmış elma dilimi ve hiçbir ekstarktın uygulanmadığı elma kullanılmıştır.

Starking elmadan alınan diğer bir örneğe püskürtme yöntemi ile 2 mL ekstrakt çözeltilerinden uygulanmış ve ölçümleri alınmıştır. Daldırma yönteminde örneklerin 2 mL çözeltiyi absorpladığı belirlenmiştir. Bu nedenle püskürtme yönteminde de örnek üzerine 2 mL ekstrakt çözeltileri uygulanmıştır. Siyah/beyazlık (L^*), kırmızılık/yeşillik (a^*), sarılık/mavilik (b^*) ve taze meyve renk değerleri (L_0^* , a_0^* ve b_0^*) kolorimetre ile belirlenmiştir. Toplam renk farkı (ΔE) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Bu analiz 5 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

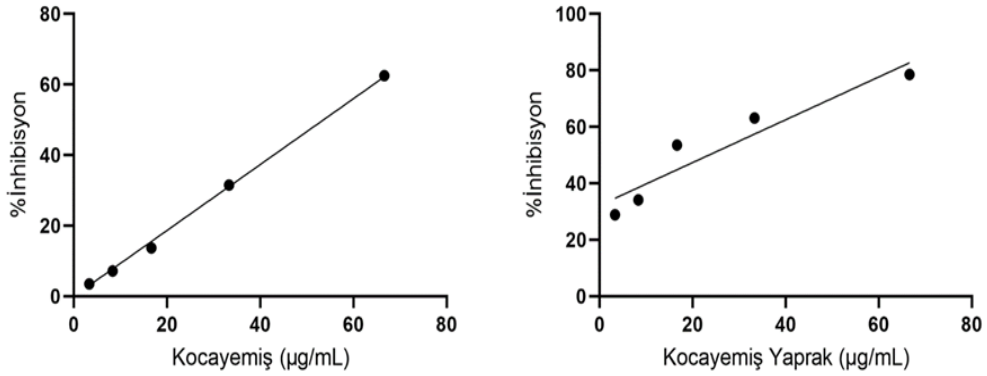
$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (3.3)$$



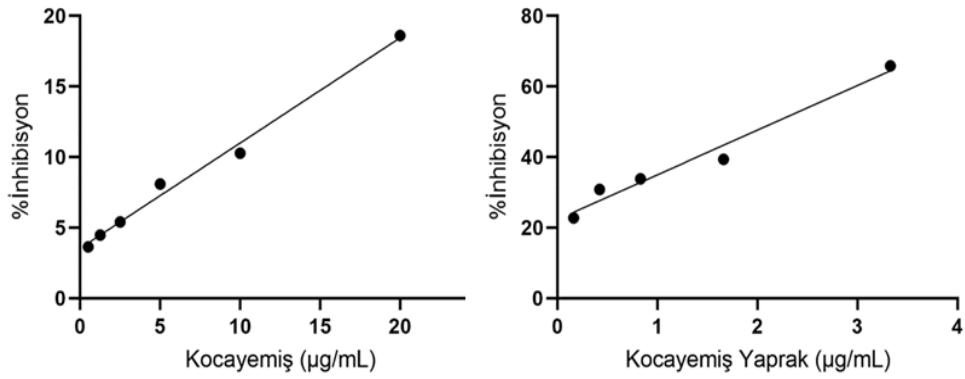
Şekil 3.2. Ekstrakt çözeltilerinin 2 mm kalınlığında dilimlenen elmalara daldırılması

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

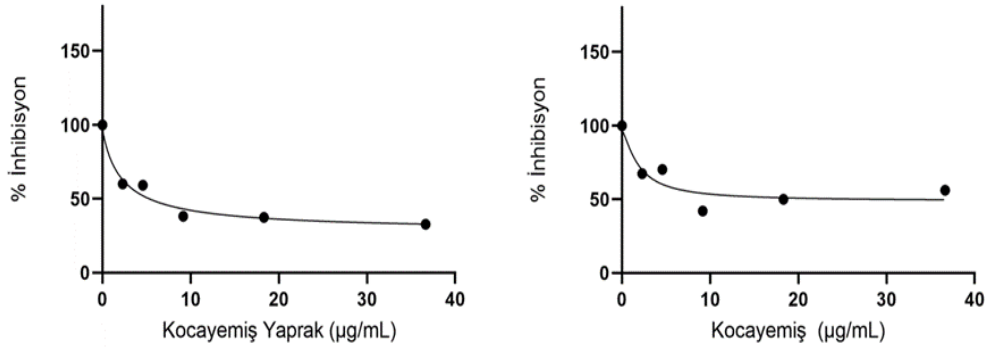
Kocayemiş meyve ve yaprağının toplam fenolik madde içeriği sırası ile $49,89 \pm 1,35$ ve $226,95 \pm 6,35$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Kocayemiş meyve ve yaprağının DPPH aktivitesi için IC_{50} değerlerinin hesaplandığı % inhibisyon-konsantrasyon grafiği Şekil 4.1.'de verilmiştir. Sırası ile IC_{50} değerleri $53,42 \pm 0,06$ ve $25,38 \pm 0,35$ $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.2.'de görüldüğü üzere kocayemiş meyve ve yaprağının ABTS aktivite değerleri için % inhibisyona karşı konsantrasyon grafiği çizilmiştir. Sırasıyla ABTS aktivitesi için IC_{50} değerleri $68,02 \pm 7,9$ ve $2,33 \pm 0,22$ $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. PPO enzim inhibisyon grafiği Şekil 4.3.'te verilmiştir. %inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden hesaplanan IC_{50} değerleri kocayemiş meyve ve yaprağı için sırasıyla $19,25 \pm 4,32$ ve $16,90 \pm 0,22$ $\mu\text{g/mL}$ dir.



Şekil 4.1. Kocayemiş ve kocayemiş yaprağının DPPH inhibisyon grafiği

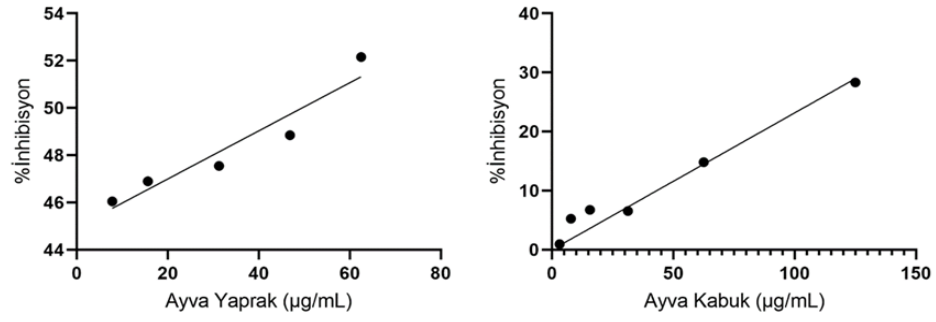


Şekil 4.2. Kocayemiş ve kocayemiş yaprağının ABTS inhibisyon grafiği

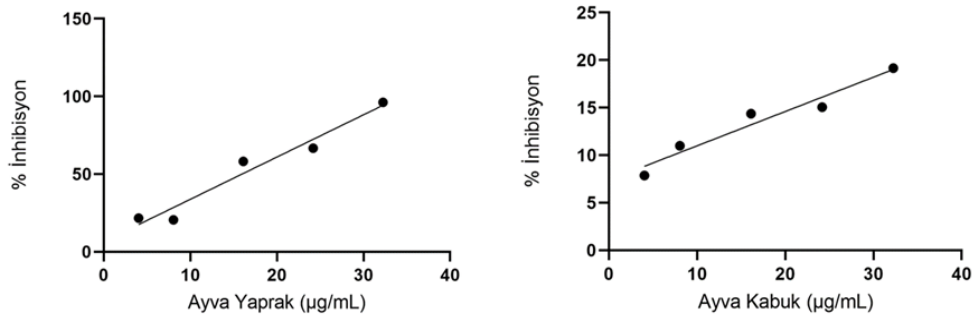


Şekil 4.3. Kocayemiş ve kocayemiş yaprağının PPO enzim inhibisyon grafiği

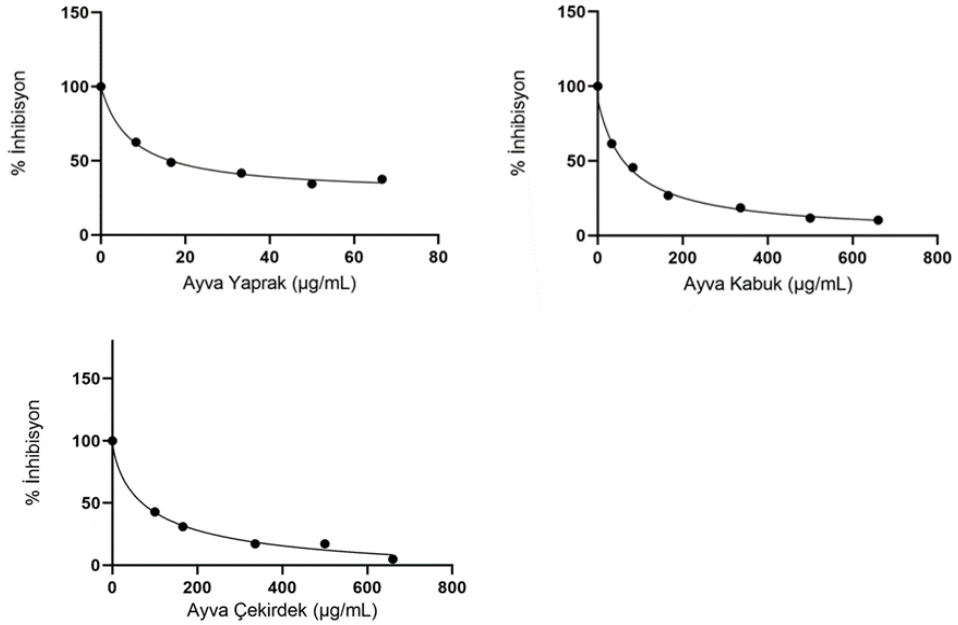
Ayva yaprak, kabuk ve çekirdeğinin toplam fenolik madde içeriği sırası ile $113,47 \pm 9,35$, $18,91 \pm 1,87$ ve $9,80 \pm 1,41$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Ayva yaprak ve kabuğunun IC_{50} değerlerinin hesaplandığı % inhibisyon-konsantrasyon grafiği Şekil 4.4.'de verilmiştir. IC_{50} değerleri sırasıyla $49,51 \pm 2,38$ ve $259,27 \pm 31,74$ µg/mL olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.5.'de görüldüğü üzere ayva yaprak ve kabuğunun ABTS aktivite değerleri için % inhibisyona karşı konsantrasyon grafiği çizilmiştir. Sırasıyla ABTS aktivitesi için IC_{50} değerleri olarak $11,05 \pm 3,95$ ve $110,84 \pm 10,33$ µg/mL olarak hesaplanmıştır. Ayva çekirdeğinin IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. PPO enzim inhibisyon grafiği Şekil 4.6.'da verilmiştir. %inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden hesaplanan IC_{50} değerleri ayva yaprak, kabuk ve çekirdeği için sırasıyla $36,47 \pm 8,28$, $173,25 \pm 5,69$ ve $386,75 \pm 9,27$ µg/mL dir.



Şekil 4.4. Ayva yaprak ve kabuğun DPPH inhibisyon grafiği



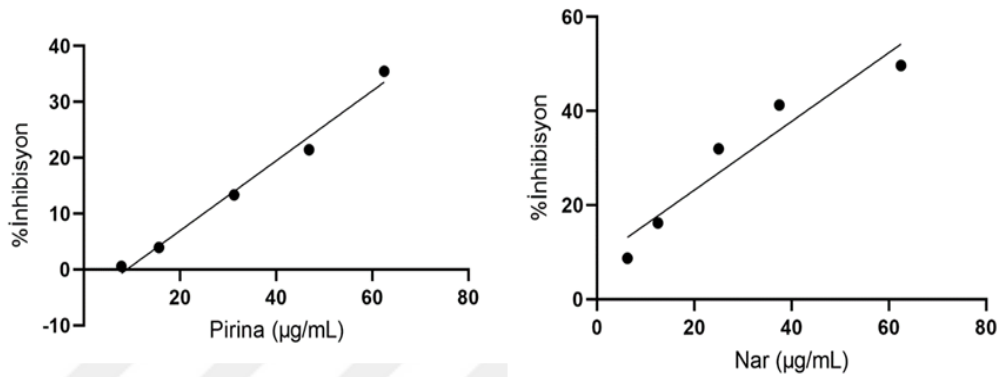
Şekil 4.5. Ayva yaprak ve kabuğun ABTS inhibisyon grafiği



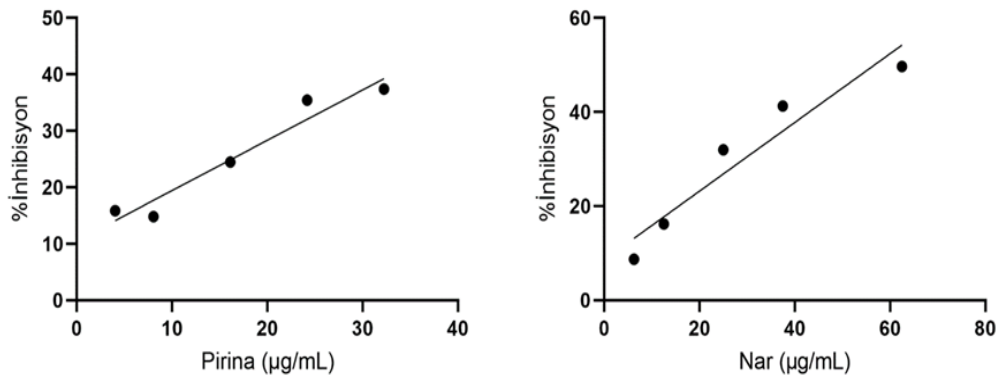
Şekil 4.6. Ayva yaprak, kabuk ve çekirdeğin PPO enzim inhibisyon grafiği

Pirina ve nar posasının toplam fenolik madde içeriği sırası ile $39,46 \pm 5,08$ ve $45,58 \pm 0,72$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Pirina ve nar posasının DPPH

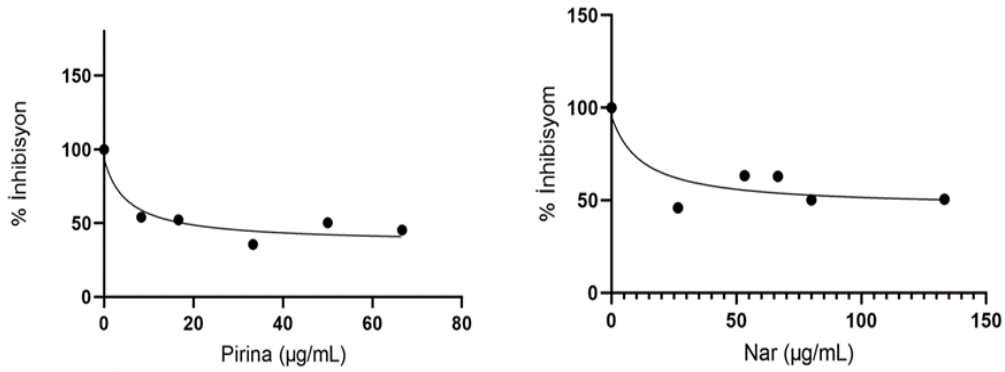
aktivitesi için IC_{50} değerlerinin hesaplandığı % inhibisyon-konsantrasyon grafiği Şekil 4.7.'de verilmiştir. Sırasıyla IC_{50} değerleri $95,39 \pm 6,21$ ve $55,40 \pm 2,71$ $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.8.'de görüldüğü üzere pirina ve nar posasının ABTS aktivite değerleri için % inhibisyona karşı konsantrasyon grafiği çizilmiştir. Sırasıyla ABTS aktivitesi için IC_{50} değerleri $45,77 \pm 1,97$ ve $39,54 \pm 3,35$ $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. PPO enzim inhibisyon grafiği Şekil 4.9.'da verilmiştir. %inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden hesaplanan IC_{50} değerleri pirina ve nar posası için sırasıyla $28,15 \pm 4,11$ ve $50,66 \pm 2,02$ $\mu\text{g/mL}$ dir.



Şekil 4.7. Pirina ve nar posasının DPPH inhibisyon grafiği

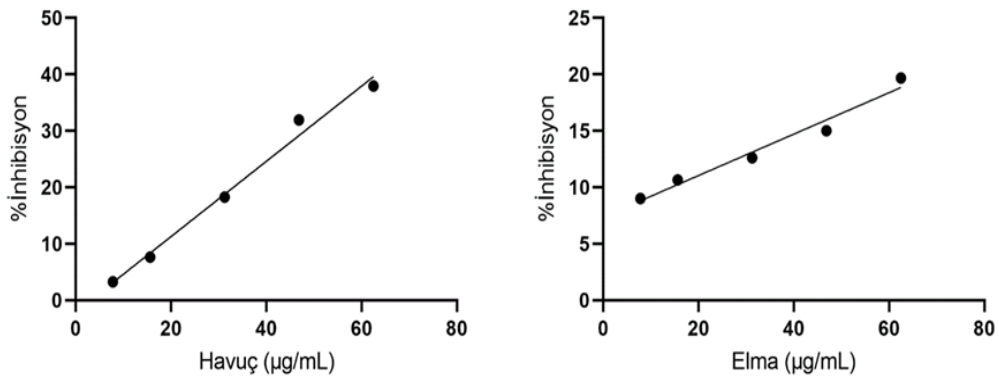


Şekil 4.8. Pirina ve nar posasının ABTS inhibisyon grafiği

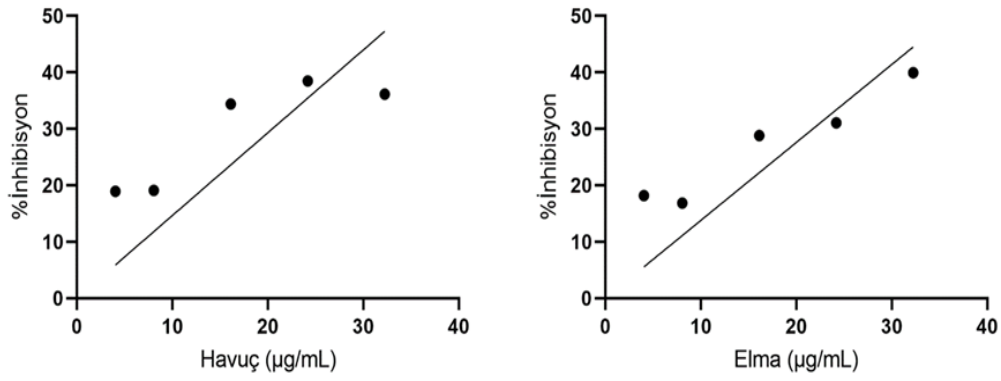


Şekil 4.9. Pirina ve nar posasının PPO enzim inhibisyon grafiği

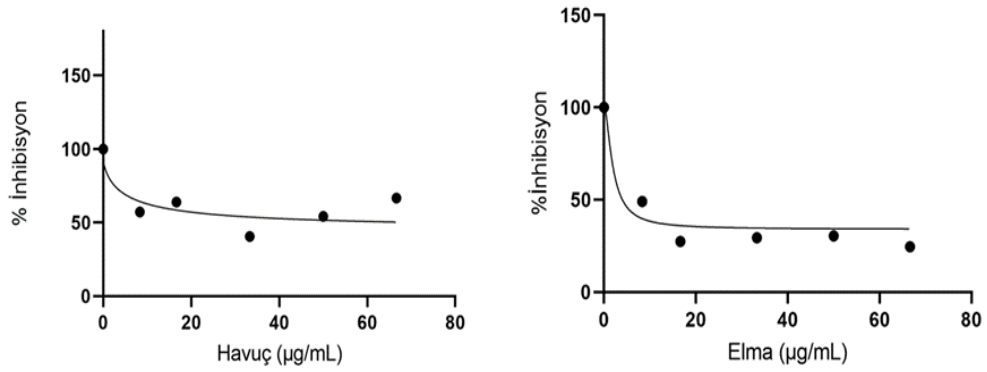
Siyah havuç ve elma posasının toplam fenolik madde içeriği sırası ile $40,08 \pm 3,58$ ve $17,38 \pm 3,67$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Siyah havuç ve elma posasının DPPH aktivitesi için IC_{50} değerlerinin hesaplandığı % inhibisyon-konsantrasyon grafiği Şekil 4.10.'da verilmiştir. Sırası ile IC_{50} değerleri $83,48 \pm 5,52$ ve $249,06 \pm 30,43$ µg/mL olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.11.'de görüldüğü üzere siyah havuç ve elma posasının ABTS aktivite değerleri için % inhibisyona karşı konsantrasyon grafiği çizilmiştir. Sırasıyla ABTS aktivitesi için IC_{50} değerleri $44,01 \pm 1,32$ ve $55,93 \pm 9,27$ µg/mL olarak hesaplanmıştır. PPO enzim inhibisyon grafiği Şekil 4.12.'de verilmiştir. %inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden hesaplanan IC_{50} değerleri siyah havuç ve elma posası için sırasıyla $53,53 \pm 5,96$ ve $27,76 \pm 1,57$ µg/mL dir.



Şekil 4.10. Siyah havuç ve elma posasının DPPH inhibisyon grafiği

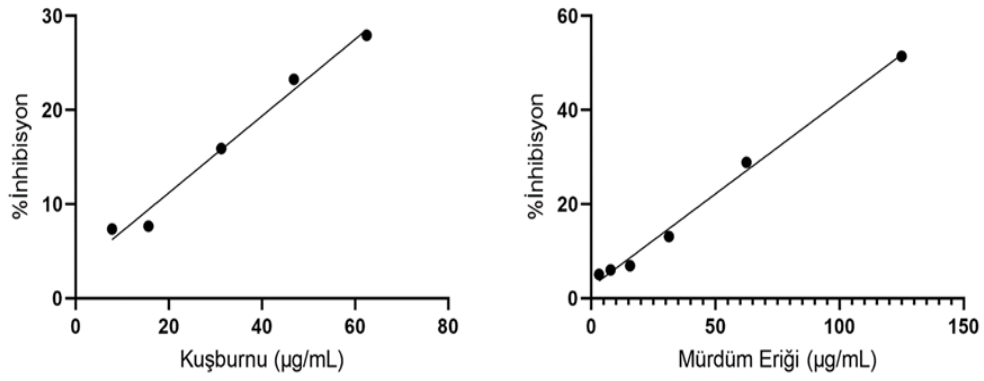


Şekil 4.11. Siyah havuç ve elma posasının ABTS inhibisyon grafiği

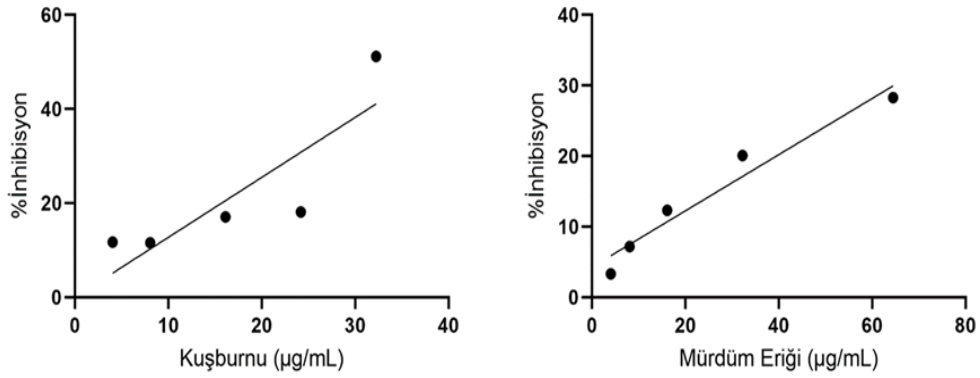


Şekil 4.12. Siyah havuç ve elma posasının PPO enzim inhibisyon grafiği

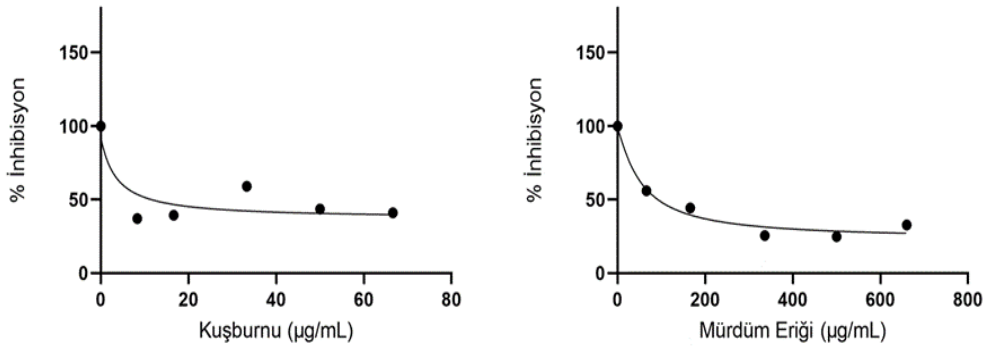
Kuşburnu meyvesi ve mürdüm eriği kabuğunun toplam fenolik madde içeriği sırası ile $9,69 \pm 2,45$ ve $25,58 \pm 2,52$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Kuşburnu meyvesi ve mürdüm eriği kabuğunun DPPH aktivitesi için IC_{50} değerlerinin hesaplandığı % inhibisyon-konsantrasyon grafiği Şekil 4.13.'de verilmiştir. Sırası ile IC_{50} değerleri $130,25 \pm 13,05$ ve $123,86 \pm 4,21$ µg/mL olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.14.'de görüldüğü üzere kuşburnu meyvesi ve mürdüm eriği kabuğunun ABTS aktivite değerleri için % inhibisyona karşı konsantrasyon grafiği çizilmiştir. Sırasıyla ABTS aktivitesi için IC_{50} değerleri $47,35 \pm 10,36$ ve $125,19 \pm 14,54$ µg/mL olarak hesaplanmıştır. PPO enzim inhibisyon grafiği Şekil 4.15.'de verilmiştir. %inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden hesaplanan IC_{50} değerleri Kuşburnu meyvesi ve mürdüm eriği kabuğu için sırasıyla $65,15 \pm 16,75$ ve $217,71 \pm 18,79$ µg/mL dir.



Şekil 4.13. Kuşburnu ve mürdüm eriği kabuğunun DPPH inhibisyon grafiği



Şekil 4.14. Kuşburnu ve mürdüm eriği kabuğunun ABTS inhibisyon grafiği



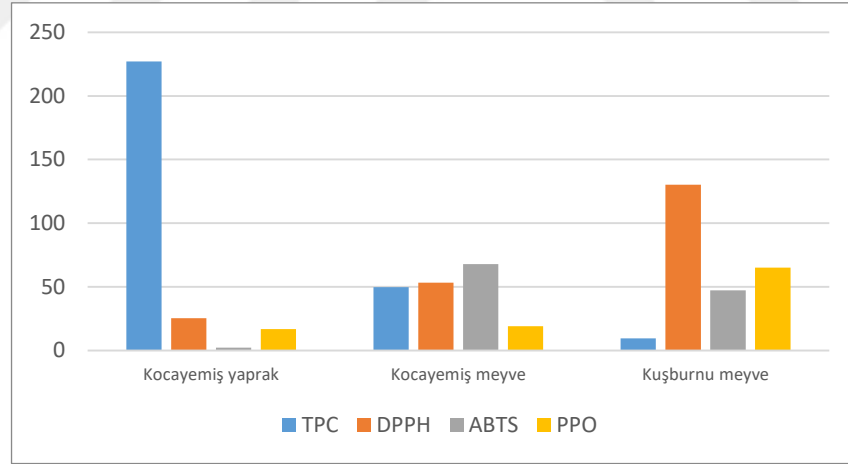
Şekil 4.15. Kuşburnu ve mürdüm eriği kabuğunun PPO enzim inhibisyon grafiği

Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları, antioksidan etki olarak DPPH ve ABTS aktivite değerleri ve PPO enzim inhibisyon değerleri IC_{50} olarak Tablo 4.1.'de verilmiştir.

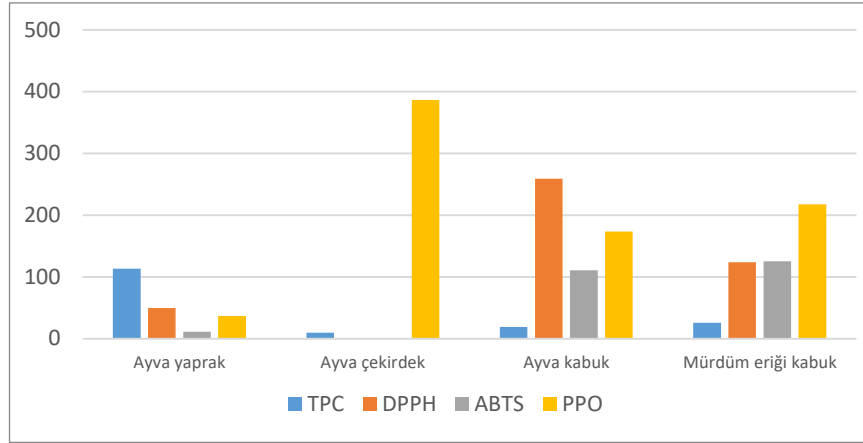
Tablo 4.1. Ekstraktların TPC, antioksidan aktivite (DPPH, ABTS) ve PPO enzimi inhibisyon değerleri

Materyal	TPC (mg GAE/g ekstrakt)	DPPH (IC ₅₀ , µg/mL)	ABTS (IC ₅₀ , µg/mL)	PPO inhibisyon (IC ₅₀ , µg/mL)
Kocayemiş meyve	49,89 ±1,35	53,42±0,06	68,02±7,9	19,25±4,32
Kocayemiş yaprak	226,95±6,35	25,38±0,35	2,33±0,22	16,90±3,21
Ayva yaprak	113,47±9,35	49,51±2,38	11,05±3,95	36,47±8,28
Ayva kabuk	18,91±1,87	259,27±31,74	110,84±10,33	173,25±5,69
Ayva çekirdek	9,80±1,41	-	-	386,75±9,27
Pirina	39,46±5,08	95,39±6,21	45,77±1,97	28,15±4,11
Nar posa	45,58±0,72	55,40±2,71	39,54±3,35	50,66±2,02
Siyah havuç posa	40,08±3,58	83,48±5,52	44,01±1,32	53,53±5,96
Elma posa	17,38±3,67	249,06±30,43	55,93±9,27	27,76±1,57
Kuşburnu meyve	9,69±2,45	130,25±13,05	47,35±10,36	65,15±16,75
Mürdüm eriği kabuk	25,58±2,52	123,86±4,21	125,19±14,54	217,71±18,79
Askorbik asit	-	2,36±0,97	29,23±0,77	1,33±0,5

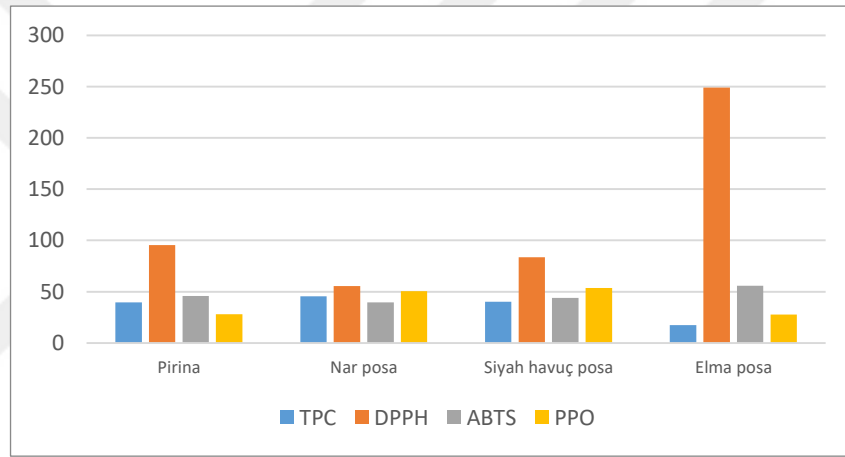
Veriler, ortalama sonuç ± standart sapma (SD) şeklinde verilmiştir (n = 3).



Şekil 4.16. Kocayemiş yaprağı, kocayemiş meyvesi ve kuşburnu meyvesinin TPC, DPPH, ABTS ve PPO inhibisyon sonuçlarının grafiksel gösterimi



Şekil 4.17. Ayva yaprağı, ayva çekirdeği, ayva kabuğu ve mürdüm eriği kabuğunun TPC, DPPH, ABTS ve PPO inhibisyon sonuçlarının grafiksel gösterimi



Şekil 4.18. Pirina, nar posası, siyah havuç posası ve elma posasının TPC, DPPH, ABTS ve PPO inhibisyon sonuçlarının grafiksel gösterimi

Daldırma yöntemi ile uygulanan sulu ekstrakt çözeltilerinin elmanın kararması üzerindeki etkileri renk parametrelerinin ölçülmesi ile belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.2.'de verilmiştir. Starking elma diliminin L_0^* değeri $68,36 \pm 1,46$, a_0^* değeri $-0,08 \pm 0,62$ ve b_0^* değeri $13,95 \pm 1,71$ olarak ölçülmüştür. L^* değerleri $61,85 \pm 2,11$ ile $68,32 \pm 1,75$ arasında, a^* değerleri $-0,77 \pm 0,53$ ile $3,26 \pm 0,49$ arasında, b^* değerleri $12,80 \pm 1,96$ ile $23,24 \pm 2,18$ arasında ve ΔE değerleri ise $2,29 \pm 1,58$ ile $10,55 \pm 2,45$ arasında değişiklik göstermiştir.

Tablo 4.2. Ekstraktların sudaki çözeltilerinin daldırma yöntemi ile uygulanması sonucu elde edilen renk ölçüm sonuçları

Materyal	L*	a*	b*	ΔE
Kocayemiş meyve	68,32±1,75	-0,77±0,53	13,99±2,14	2,29±1,58
Kocayemiş yaprak	67,60±1,22	0,438±0,54	14,65±2,14	2,30±1,46
Ayva yaprak	64,43±1,66	1,80±0,41	18,41±2,77	6,62±2,31
Ayva kabuk	63,51±1,69	0,22±0,26	23,24±2,18	10,55±2,45
Ayva çekirdek	62,42±2,91	2,22±0,56	19,01±2,39	8,37±3,20
Pirina	65,08±1,87	1,78±0,33	12,80±1,96	5,83±2,03
Nar posa	64,07±1,85	0,96±0,39	17,59±1,87	6,18±1,84
Siyah havuç posa	64,026±2,60	2,084±0,64	18,533±3,88	7,17±3,83
Elma posa	66,62±1,82	1,53±0,61	16,22±3,11	4,38±2,09
Kuşburnu meyve	64,337±1,77	1,52±0,44	18,134±2,58	6,45±2,05
Mürdüm eriği kabuk	61,85±2,11	3,26±0,49	19,89±1,70	9,55±2,23
Askorbik asit	64,458±3,14	1,193±0,39	17,707±1,80	5,98±2,77
Starking elma L ₀ *: 68,36±1,46, a ₀ *: -0,08±0,62, b ₀ *: 13,95±1,71 olarak ölçülmüştür.				
Veriler, ortalama sonuç ± standart sapma (SD) şeklinde verilmiştir (n = 5).				

Püskürtme yöntemi ile uygulanan sulu ekstrakt çözeltilerinin elmanın kararması üzerindeki etkileri renk parametrelerinin ölçülerek belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.3.'de verilmiştir. L₀* değeri 74,23±3,12, a₀* değeri -0,68±1,68 ve b₀* değeri 21,52±3,62 olarak ölçülmüştür. L* değerleri 57,04±4,91 ile 67,37±4,95 arasında, a* değerleri -0,49±0,82 ile 2,30±1,33 arasında, b* değerleri 19,26±1,48 ile 29,78±3,11 arasında ve ΔE değerleri ise 7,56±4,87 ile 17,54±5,04 arasında değişiklik göstermiştir.

Tablo 4.3. Ekstraktların sudaki çözeltilerinin püskürtme yöntemi ile uygulanması sonucu elde edilen renk ölçüm sonuçları

Materyal	L*	a*	b*	ΔE
Kocayemiş meyve	65,74 $\pm$ 2,33	0,32 $\pm$ 0,8	25,40 $\pm$ 2,84	9,69 $\pm$ 2,77
Kocayemiş yaprak	67,37 $\pm$ 4,95	0,10 $\pm$ 0,71	22,8 $\pm$ 2,69	7,56 $\pm$ 4,87
Ayva yaprak	63,34 $\pm$ 3,07	-0,49 $\pm$ 0,82	22,62 $\pm$ 3,94	11,56 $\pm$ 3,25
Ayva kabuk	63,08 $\pm$ 3,83	1,44 $\pm$ 1,55	26,69 $\pm$ 4,05	12,73 $\pm$ 5,09
Ayva çekirdek	60,34 $\pm$ 3,52	0,13 $\pm$ 0,78	19,26 $\pm$ 1,48	14,20 $\pm$ 3,39
Pirina	64,17 $\pm$ 3,75	1,32 $\pm$ 1,04	23,33 $\pm$ 3,75	10,83 $\pm$ 4,40
Nar posa	62,95 $\pm$ 2,60	0,95 $\pm$ 0,61	22,85 $\pm$ 2,23	11,68 $\pm$ 2,60
Siyah havuç posa	64,13 $\pm$ 2,37	-0,27 $\pm$ 0,8	29,78 $\pm$ 3,11	13,36 $\pm$ 2,70
Elma posa	62,83 $\pm$ 3,01	2,30 $\pm$ 1,33	26,06 $\pm$ 2,86	13,03 $\pm$ 2,73
Kuşburnu meyve	57,72 $\pm$ 3,88	1,84 $\pm$ 0,92	23,48 $\pm$ 3,15	17,17 $\pm$ 3,51
Mürdüm eriği	57,04 $\pm$ 4,91	1,41 $\pm$ 1,35	22,57 $\pm$ 2,68	17,54 $\pm$ 5,04
kabuk				
Askorbik asit	71,94 $\pm$ 3,52	-2,46 $\pm$ 0,29	20,48 $\pm$ 1,97	4,44 $\pm$ 2,27
Starking elma L ₀ * : 74,23 $\pm$ 3,12, a ₀ * : -0,68 $\pm$ 1,68, b ₀ * : 21,52 $\pm$ 3,62 olarak ölçülmüştür.				
Veriler, ortalama sonuç $\pm$ standart sapma (SD) şeklinde verilmiştir (n = 5).				

Daldırma yöntemi ile uygulanan sulu ekstrakt çözeltilerinin elmanın kararması üzerindeki etkileri 7 farklı zaman diliminde renk parametrelerinin ölçülmesi ile belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.4.'de verilmiştir. Starking elma diliminin L₀* değeri 78,53 $\pm$ 1,14, a₀* değeri -2,33 $\pm$ 0,72 ve b₀* değeri 20,35 $\pm$ 1,34 olarak ölçülmüştür. 5. dakikada L* değerleri 71,69 $\pm$ 1,59 ile 77,53 $\pm$ 0,99 arasında, a* değerleri -1,72 $\pm$ 0,31 ile 2,36 $\pm$ 0,32 arasında, b* değerleri 19,62 $\pm$ 1,89 ile 28,29 $\pm$ 2,30 arasında ve ΔE değerleri ise 2,59 $\pm$ 0,50 ile 11,55 $\pm$ 2,44 arasında değişiklik göstermiştir. 15. dakikada L* değerleri 69,44 $\pm$ 2,49 ile 76,45 $\pm$ 1,75 arasında, a* değerleri -0,93 $\pm$ 0,74 ile 3,87 $\pm$ 1,59 arasında, b* değerleri 20,07 $\pm$ 1,17 ile 29,82 $\pm$ 2,95 arasında ve ΔE değerleri ise 3,35 $\pm$ 1,40 ile 14,15 $\pm$ 4,14 arasında değişiklik göstermiştir. 30. dakikada L* değerleri 66,33 $\pm$ 2,61 ile 75,27 $\pm$ 1,82 arasında, a* değerleri -0,07 $\pm$ 0,64 ile 4,87 $\pm$ 0,80 arasında, b* değerleri 23,40 $\pm$ 1,35 ile 32,81 $\pm$ 3,44 arasında ve ΔE değerleri ise

5,22±2,00 ile 18,99±3,16 arasında değişiklik göstermiştir. 60. dakikada L* değerleri 66,87±1,65 ile 75,21±0,79 arasında, a* değerleri -0,14±0,86 ile 5,51±1,00 arasında, b* değerleri 23,42±1,24 ile 33,68±1,47 arasında ve ΔE değerleri ise 5,48±0,92 ile 19,12±2,03 arasında değişiklik göstermiştir. 120. dakikada L* değerleri 65,92±2,93 ile 76,36±1,09 arasında, a* değerleri -0,17±0,73 ile 5,69±1,04 arasında, b* değerleri 23,39±2,01 ile 34,63±1,46 arasında ve ΔE değerleri ise 4,64±0,64 ile 20,76±2,68 arasında değişiklik göstermiştir. 180. dakikada L* değerleri 64,96±0,97 ile 73,78±3,36 arasında, a* değerleri -0,01±0,71 ile 5,80±1,54 arasında, b* değerleri 23,44±1,68 ile 34,86±1,11 arasında ve ΔE değerleri ise 6,83±2,18 ile 21,52±1,08 arasında değişiklik göstermiştir. 240. dakikada L* değerleri 65,65±1,42 ile 72,86±2,13 arasında, a* değerleri 0,24±0,40 ile 6,88±1,45 arasında, b* değerleri 21,97±0,91 ile 35,11±0,41 arasında ve ΔE değerleri ise 7,18±1,27 ile 21,70±1,19 arasında değişiklik göstermiştir. Askorbik asite daldırılmış elma diliminin 5. ve 240. Dakikalar arasında L* değerleri 74,92±2,06 ile 67,96±3,65 arasında, a* değerleri -3,21±0,42 ile 3,47±0,50 arasında, b* değerleri 21,20±1,60 ile 32,76±0,79 arasında ve ΔE değerleri ise 4,08±2,06 ile 17,56±2,28 arasında değişiklik göstermiştir. Hiçbir ekstrakta daldırılmamış elma diliminin 5. ve 240. Dakikalar arasında L* değerleri 75,41±1,58 ile 65,40±4,01 arasında, a* değerleri 0,57±0,99 ile 7,74±1,03 arasında, b* değerleri 24,44±2,41 ile 37,05±1,51 arasında ve ΔE değerleri ise 46,01±2,78 ile 23,61±3,68 arasında değişiklik göstermiştir.

Ekstraktların sulu çözeltilerinin daldırma yöntemi ile elma dilimlerinin enzimatik esmerleşmesi üzerine etkilerinin farklı zamanlardaki görselleri Şekil 4.16.'da bulunmaktadır.

Tablo 4.4. Ekstraktların sudaki çözeltilerinin daldırma yöntemi ile uygulanması ve farklı zamanlarda elde edilen renk ölçüm sonuçları

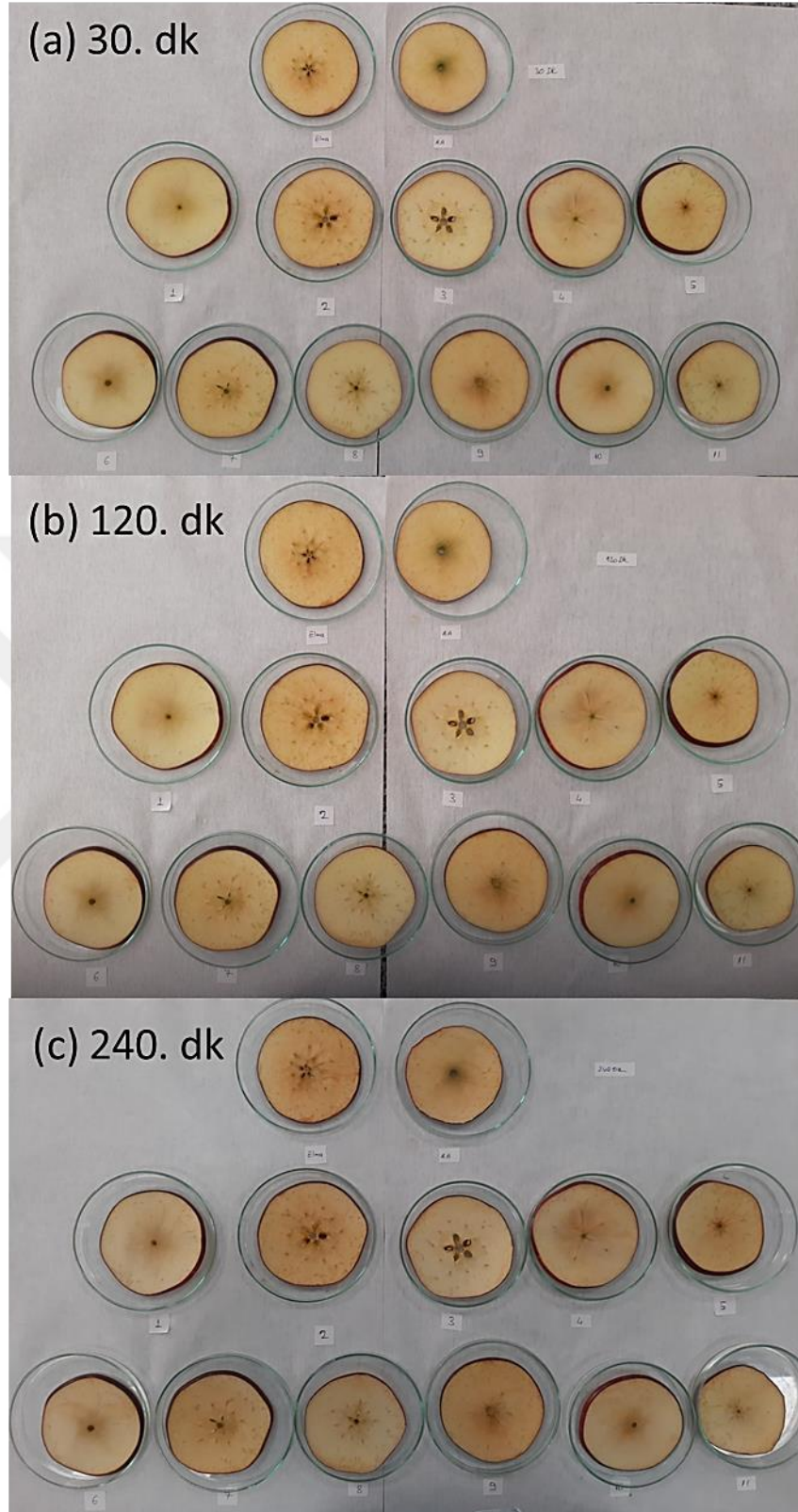
Materyal	Renk parametreleri	Süre (dk)						
		5	15	30	60	120	180	240
Kocayemiş meyve	L*	75,97 ±2,66	74,59 ±1,91	74,16 ±1,94	74,09 ±1,53	76,36 ±1,09	73,78 ±3,36	72,86 ±2,13
	a*	-0,29 ±1,44	-0,07 ±0,82	-0,07 ±0,64	0,20 ±0,87	0,05 ±0,58	0,62 ±1,12	0,32 ±0,41
	b*	22,39 ±0,74	24,27 ±2,17	24,45 ±1,43	24,62 ±2,38	23,46 ±0,88	24,84 ±1,92	25,03 ±0,94
	ΔE	4,12 ±2,65	6,04 ±2,58	6,63 ±1,86	6,66 ±3,51	4,64 ±0,64	7,36 ±3,57	8,00 ±1,37
Kocayemiş yaprak	L*	77,53 ±0,99	76,45 ±1,75	75,27 ±1,82	75,21 ±0,79	73,63 ±2,43	73,31 ±1,66	72,80 ±2,24
	a*	-1,26 ±0,86	-0,55 ±0,63	0,03 ±1,01	0,52 ±0,72	0,40 ±0,55	0,66 ±0,66	0,93 ±1,61
	b*	19,62 ±1,89	21,75 ±1,28	23,40 ±1,35	23,42 ±1,24	23,39 ±2,01	23,44 ±1,68	21,97 ±0,91
	ΔE	2,59 ±0,50	3,35 ±1,40	5,22 ±2,00	5,48 ±0,92	6,53 ±2,27	6,83 ±2,18	7,18 ±1,27
Ayva yaprak	L*	73,86 ±2,91	72,44 ±1,91	70,95 ±2,61	71,17 ±1,99	72,0 ±1,83	69,89 ±2,39	70,48 ±2,38
	a*	0,50 ±0,49	1,25 ±0,71	1,67 ±0,86	1,78 ±0,61	1,98 ±0,79	2,45 ±0,56	2,61 ±0,80
	b*	23,88 ±2,76	25,44 ±2,41	27,35 ±2,71	27,97 ±2,22	27,07 ±2,36	27,73 ±1,76	27,44 ±2,38
	ΔE	6,70 ±3,62	8,66 ±2,86	11,14 ±3,57	11,40 ±2,87	10,38 ±2,77	12,44 ±2,41	11,97 ±2,66
Ayva kabuk	L*	75,02 ±1,72	74,50 ±1,18	72,99 ±0,96	72,64 ±1,74	72,69 ±2,11	69,72 ±2,66	70,41 ±1,82
	a*	-1,72 ±0,31	-0,90 ±1,03	-0,60 ±0,28	-0,14 ±0,86	-0,17 ±0,73	-0,01 ±0,71	0,24 ±0,40
	b*	24,34 ±0,21	26,29 ±1,11	27,04 ±0,49	27,87 ±1,34	29,05 ±0,85	28,44 ±1,58	29,3 ±0,94
	ΔE	5,44 ±1,33	7,28 ±1,59	8,88 ±0,63	9,97 ±1,08	10,85 ±1,20	12,38 ±1,97	12,46 ±0,83
Ayva çekirdek	L*	71,69 ±1,59	70,59 ±1,12	66,33 ±2,61	66,87 ±1,65	65,92 ±2,93	64,96 ±0,97	65,65 ±1,42
	a*	2,36 ±0,32	3,87 ±1,59	4,87 ±0,80	5,51 ±1,00	5,69 ±1,04	5,80 ±1,54	6,88 ±1,45
	b*	28,29 ±2,30	20,07 ±1,17	32,81 ±3,44	33,20 ±2,03	34,63 ±1,46	34,86 ±1,11	35,11 ±0,41
	ΔE	11,55 ±2,44	13,27 ±1,77	18,99 ±3,16	19,12 ±2,03	20,76 ±2,68	21,52 ±1,08	21,70 ±1,19
Pirina	L*	74,88 ±1,88	73,83 ±2,55	73,65 ±1,90	71,83 ±1,36	72,03 ±0,89	70,07 ±2,96	70,09 ±1,59
	a*	-0,97 ±0,85	-0,93 ±0,74	-0,52 ±0,46	0,14 ±0,78	0,98 ±0,63	1,29 ±0,61	2,23 ±0,47
	b*	22,44 ±0,74	25,18 ±1,40	25,46 ±1,88	25,77 ±1,72	25,53 ±1,78	24,83 ±1,04	24,43 ±1,42
	ΔE	4,44 ±2,08	6,89 ±2,59	7,34 ±2,52	9,18 ±0,71	9,05 ±1,39	10,38 ±2,51	10,48 ±1,78

Tablo 4.4. (Devamı)

Materyal	Renk parametreleri	Süre (dk)						
		5	15	30	60	120	180	240
Nar posa	L*	75,11 ±1,70	73,38 ±2,21	72,33 ±3,12	69,55 ±2,91	70,43 ±2,83	67,58 ±3,09	68,98 ±2,29
	a*	-0,89 ±1,26	0,33 ±1,14	1,25 ±1,72	3,96 ±2,00	2,38 ±2,02	3,55 ±2,59	3,48 ±2,17
	b*	24,25 ±1,77	27,60 ±2,5	28,09 ±1,62	29,17 ±2,35	30,63 ±2,52	31,26 ±2,67	34,53 ±2,48
	ΔE	5,49 ±2,48	9,21 ±3,42	10,63 ±3,59	16,40 ±4,57	13,94 ±4,13	16,79 ±4,58	15,83 ±3,90
Siyah havuç posa	L*	73,53 ±2,90	72,2 ±1,72	70,32 ±2,25	70,24 ±2,92	70,50 ±2,01	69,31 ±1,51	70,37 ±2,16
	a*	0,91 ±0,96	2,32 ±1,47	3,54 ±1,54	3,58 ±1,15	4,01 ±0,88	4,51 ±0,50	4,86 ±1,48
	b*	27,50 ±4,55	29,05 ±3,00	31,62 ±3,37	32,66 ±3,07	32,33 ±1,73	32,97 ±1,74	32,72 ±2,08
	ΔE	9,42 ±5,21	11,66 ±3,60	15,12 ±4,26	15,98 ±4,18	15,81 ±2,34	17,04 ±2,13	16,51 ±3,13
Elma posa	L*	74,81 ±2,74	72,53 ±1,52	72,49 ±2,98	72,67 ±1,75	73,78 ±1,88	71,58 ±2,80	72,09 ±1,83
	a*	-1,24 ±0,35	-0,45 ±0,63	-0,02 ±0,31	0,28 ±0,30	0,44 ±0,41	0,68 ±0,41	1,51 ±1,29
	b*	21,57 ±1,64	24,61 ±1,36	24,90 ±1,63	25,46 ±1,22	25,02 ±1,21	25,02 ±1,42	26,01 ±2,29
	ΔE	4,23 ±2,93	7,52 ±1,73	8,09 ±2,78	8,25 ±1,85	7,29 ±1,95	9,00 ±2,78	9,47 ±2,87
Kuşburnu meyve	L*	72,59 ±2,04	70,92 ±1,27	69,54 ±2,84	69,52 ±2,26	68,87 ±3,35	67,51 ±3,39	67,80 ±2,40
	a*	0,49 ±1,72	1,42 ±1,90	2,28 ±1,51	3,13 ±1,43	2,86 ±1,68	3,36 ±1,59	4,37 ±0,58
	b*	23,45 ±2,13	25,77 ±2,90	26,53 ±2,26	28,74 ±2,68	27,37 ±1,68	27,37 ±1,94	28,29 ±1,28
	ΔE	7,47 ±2,82	10,10 ±2,28	11,92 ±3,59	13,60 ±3,29	13,16 ±3,48	14,34 ±3,81	14,98 ±2,43
Mürdüm eriği kabuğu	L*	72,11 ±3,38	69,44 ±2,49	68,71 ±4,45	67,77 ±3,26	68,66 ±2,23	67,44 ±3,37	68,02 ±3,15
	a*	1,61 ±1,72	3,23 ±1,67	4,15 ±2,06	4,90 ±1,34	5,38 ±1,60	5,53 ±1,98	5,10 ±1,80
	b*	26,80 ±3,50	29,82 ±2,95	31,98 ±3,27	33,68 ±1,47	33,38 ±2,35	34,44 ±2,23	32,68 ±2,65
	ΔE	10,00 ±4,97	14,15 ±4,14	16,61 ±5,63	18,66 ±3,39	18,08 ±3,55	19,66 ±3,98	17,93 ±3,89
Askorbik asit	L*	74,92 ±2,06	71,28 ±3,14	68,67 ±4,24	66,35 ±4,51	66,75 ±4,20	66,46 ±0,47	67,96 ±3,65
	a*	-3,21 ±0,42	-0,57 ±1,43	1,06 ±1,22	2,38 ±0,93	2,78 ±0,84	2,64 ±0,70	3,47 ±0,50
	b*	21,20 ±1,60	27,35 ±1,08	30,53 ±1,84	31,99 ±1,59	32,83 ±1,96	33,15 ±1,63	32,76 ±0,79
	ΔE	4,08 ±2,06	10,41 ±2,27	14,73 ±4,09	17,67 ±3,91	18,06 ±3,87	18,33 ±0,93	17,56 ±2,28
Starking elma	L*	75,41 ±1,58	70,75 ±3,99	69,50 ±2,76	67,48 ±2,86	66,63 ±3,81	65,97 ±3,07	65,40 ±4,01
	a*	0,57 ±0,99	-0,57 ±1,43	4,61 ±1,51	5,81 ±1,65	6,09 ±1,63	6,20 ±1,02	7,74 ±1,03
	b*	24,44 ±2,41	27,35 ±1,08	32,59 ±2,12	34,79 ±2,08	35,44 ±2,21	35,90 ±1,52	37,05 ±1,51
	ΔE	6,01 ±2,78	14,98 ±4,92	16,77 ±3,47	19,97 ±3,59	21,04 ±4,30	21,83 ±2,67	23,61 ±3,68

Starking elma L₀*: 78,53±1,14, a₀*: -2,33±0,72, b₀*: 20,35±1,34 olarak ölçülmüştür.

Veriler, ortalama sonuç ± standart sapma (SD) şeklinde verilmiştir (n = 5).



Şekil 4.19. Daldırma yöntemi ile ekstraktların (1: Kocayemiş yaprağı; 2: Ayva çekirdeği; 3: Elma posası; 4: Siyah havuç posası; 5: Mürdüm eriği kabuğu; 6: Kocayemiş meyvesi; 7: Nar posası; 8: Kuşburnu; 9: Ayva kabuğu; 10: Ayva yaprağı; 11: Pirina) uygulanması

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye'nin Akdeniz bölgesinden toplanan bazı meyve ağacı (avokado, ceviz, dut, incir, keçiboynuzu, limon, nar, üzüm, yenidünya) yapraklarının metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarlarının 22,24mg GAE/g ile 219,18mg GAE/g arasında değiştiği bilinmektedir. Bunlar arasında incir ve dut yaprakları en düşük toplam fenolik madde içeriğine (sırasıyla 22,24 mg GAE/g ve 27,81 mg GAE/g), nar ve keçiboynuzu yaprakları ise en yüksek toplam fenolik madde içeriğine (sırasıyla 219,18mg GAE/g ve 161,95mg GAE/g) sahiptir [157]. Ayrıca kekik, nane ve ravent yapraklarının toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 49,67mg GAE/g kuru ağırlık (dw), 37,87mg GAE/g dw ve 78,52mg GAE/g dw olduğu bilinmektedir [158]. Tüysüz ve ark. (2021) yapmış olduğu çalışmada *Pyrus elaeagnifolia* (ahlat), alıç, kızılıçık ve ateş dikeninin toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 493 mg GAE/100g, 847 mg GAE/100g, 823 mg GAE/100g ve 2555 mg GAE/100g olarak belirlenmiştir [159].

Bu çalışmada kullanılan ekstraktların (kocayemiş meyvesi ve yaprağı, ayva kabuğu, çekirdeği ve yaprağı, mürdüm eriği, kuşburnu meyvesi, siyah havuç ve elma posası, pirina, nar meyve suyu atığı) toplam fenolik madde içerikleri Tablo 4.1'de verildiği gibi 9,69 mg GAE/g ekstrakt ile 226,95 mg GAE/g ekstrakt arasında değişmektedir. Kocayemiş yaprağı bu ekstraktlar içinde en yüksek toplam fenolik madde içeriğine (226,95±6,35 mg GAE/g ekstrakt) sahip olmakla beraber ayva yaprağıda orta düzeyde (113,47±9,35 mg GAE/g ekstrakt) fenolik madde içeriğine sahiptir. Kocayemiş yaprağı yukarıda verilen örneklerin (avokado, ceviz, dut, incir, keçiboynuzu, limon, nar, üzüm, yenidünya, kekik, nane ve ravent yaprakları, ahlat, alıç, kızılıçık ve ateş dikenini) tümünden, ayva yaprağı ise nar yaprağı dışındakilerden daha fazla fenolik madde içermektedir. 11 ekstrakt içinde en düşük fenolik madde içeriğine sahip olan kuşburnu meyvesi (9,69±2,45 mg GAE/g ekstrakt) alıç, kızılıçık

ve ateş dikeninden daha fazla fenolik madde içeriğine sahipken, kocayemiş meyvesi de ($49,89 \pm 1,35$ mg GAE/g ekstrakt) ahlat, alıç, kıvılcık, ateş diken meyvesi, kekik, nane, incir ve dut yapraklarından fazla fenolik madde içeriğine sahiptir.

Türkiye'den toplanan bazı bitkilerin (*Juniperus oxycedrus* ssp. (Diken ardıç), *Rhus coriacea* (Sumak), *Humulus lupulus* (Şerbetçi otu), *Umbelliferae foeniculum*, *Nigella sativa* L. (Çörek otu), *Coriandrum sativum* (Kıvılcık), *Linum usitatissimum* (Keten tohumu)) çekirdek ekstraktlarındaki toplam fenolik madde içeriği 1,27 mg GAE/g ile 37,20 mg GAE/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Bunlar arasında *Linum usitatissimum* ve *Coriandrum sativum* çekirdekleri en düşük toplam fenolik madde içeriğine sahipken (sırasıyla 1,27mg GAE/g ve 1,51mg GAE/g), *Juniperus oxycedrus* ssp. ve *Rhus coriacea* çekirdekleri (sırasıyla 37,20mg GAE/g ve 24,60mg GAE/g) en yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahiptir [160]. Bu çalışmada kullanılan ayva çekirdeğinin toplam fenolik madde içeriği $9,80 \pm 1,41$ mg GAE/g ekstrakttır. Bununla birlikte, yukarıda belirtilen dört bitkinin (*Umbelliferae foeniculum*, *Nigella sativa* L., *Coriandrum sativum*, *Linum usitatissimum*) çekirdeklerinden daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahiptir.

Türkiye'den toplanan nar ve üzüm kabuklarının toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 3,55mg GAE/g meyve ağırlığı ve 149 mg GAE/100g olduğu bildirilmiştir [161, 162]. Bu çalışmada kullanılan ayva ve mürdüm eriği kabuğu (sırasıyla $18,91 \pm 1,87$ mg GAE/g ekstrakt ve $25,58 \pm 2,52$ mg GAE/g ekstrakt) üzüm ve nar kabuğundan daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahiptir.

Ayrıca bu çalışmada kullanılan nar posası, siyah havuç posası ve pirinanın toplam fenolik madde içeriğinin (sırasıyla $45,58 \pm 0,72$ mg GAE/g ekstrakt, $40,08 \pm 3,58$ mg GAE/g ekstrakt, $39,46 \pm 5,08$ mg GAE/g ekstrakt) incir, dut, nane yaprağı, ahlat, alıç, kıvılcık, ateş diken meyvesi, *Linum usitatissimum*, *Coriandrum sativum*, *Juniperus oxycedrus* ssp. ve *Rhus coriacea* çekirdekleri, nar ve üzüm kabuklarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Elma posasının fenolik madde içeriği ise ($17,38 \pm 3,67$ mg GAE/g ekstrakt) alıç, kıvılcık, ateş diken meyvesi, *Linum usitatissimum* ve

Coriandrum sativum çekirdekleri, nar ve üzüm kabuklarından daha yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu bulunmuştur.

Bu ekstraktlar içinde kocayemiş yaprağı $25,38 \pm 0,35$ $\mu\text{g/ml}$ IC_{50} değeri ile en yüksek DPPH aktiviteye sahiptir. Ayva çekirdeğinin IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. 'Stella', '0-900 Ziraat', 'Regina', 'Noble', 'Berryessa', 'Mazzard' gibi çeşitli tatlı kiraz çeşitlerinde toplam antosiyaninlerin DPPH aktivite gösterdiği F. Sönmez ve ark. (2022) tarafından belirlendi. DPPH aktivitesi için inhibisyon yüzdeleri sırasıyla %7,859, %50,674, %19,611, %28,368, %19,611 ve %35,778 olarak verilmiştir [163]. Ayva yaprağı, kocayemiş meyve ve yaprağının DPPH inhibisyon değerleri bu 6 tatlı kiraz çeşidinden yüksek olup, ayva kabuğu, çekirdeği, pirina, nar, elma, siyah havuç posası, kuşburnu meyvesi ve mürdüm eriği kabuğu inhibisyon değerleri ise bu kiraz çeşitlerinden düşüktür.

Turan S. ve ark. (2021) tarafından çilek, ahududu, vişne ve kıvılcık meyvelerinin metanol ekstraktlarının DPPH radikali yakalama gücü sıra ile IC_{50} değeri 5,35 mg/ml, 8,43 mg/ml, 11,78 mg/ml ve 12,21 mg/ml olduğu belirlenmiştir [164]. Bu çalışmada kullanılan tüm ekstraktların DPPH radikali yakalama gücü çilek, ahududu, vişne ve kıvılcık meyvelerinden daha yüksektir.

'*Arum maculatum* (nivik),' '*Rumex acetosella* (kuzukulağı),' '*Capsella bursa-pastoris* (gazayağı),' '*Hypericum orientale* (yayla kekiği),' '*Achillea millefolium* (bereketotu),' '*Silene vulgaris* (gıcırık),' ve '*Rumex crispus* (katırtırnağı)' gibi çeşitli bitkilerden ekstrakte edilen toplam fenolik içeriklerin ABTS aktivitesi gösterdiği bildirildi. Bunların IC_{50} değerleri sırasıyla 106,01 $\mu\text{g/ml}$, 47,45 $\mu\text{g/ml}$, 66,14 $\mu\text{g/ml}$, 42,39 $\mu\text{g/ml}$, 83,31 $\mu\text{g/ml}$, 91,59 $\mu\text{g/ml}$ ve 40,22 $\mu\text{g/ml}$ 'dir [165]. Bu çalışmada ayva ve mürdüm eriği kabuğu (IC_{50} değerleri sırasıyla $110,84 \pm 10,33$ $\mu\text{g/ml}$ ve $125,19 \pm 14,54$ $\mu\text{g/ml}$ 'dir) belirtilen bitki türlerinden daha düşük ABTS aktivitesi göstermiştir ancak diğer tüm ekstraktlar daha yüksek aktiviteye sahiptir. Bununla beraber en yüksek ABTS aktive gösteren kocayemiş yaprağıdır ($2,33 \pm 0,22$ $\mu\text{g/ml}$).

İnhibisyon özelliği gösteren toplam fenolik maddelerin PPO enziminin aktif bölgesinde bulunan bakır iyonlarına bağlanıp oks-PPO oluşumunu engelleyerek enzimi inhibe ettiği düşünülmektedir. Ayrıca bir diğer inhibisyon mekanizmasında ekstraksiyonda elde edilen büyük moleküllerin PPO enziminin aktif bölgesini sterik olarak kapatıp enzim inhibisyonunu azalttığıdır.

Tüm materyallerden elde edilen tüm ekstraktlar PPO enzimini inhibe etmiştir. Bu ekstraktlar içinde kocayemiş yaprağı (IC_{50} değeri $16,90 \pm 3,21 \mu\text{g/mL}$) en yüksek inhibitör etkiye sahip iken ayva çekirdeği (IC_{50} değeri $386,75 \pm 9,27 \mu\text{g/mL}$) de en düşük aktiviteyi göstermiştir. 'Hasan Kazak', 'Napoleon', '0-900 Ziraat', 'Lambert', 'Churcill' ve 'Karakiraz' gibi bazı kiraz çeşitlerinin polifenol oksidaz enzimini inhibe ettiği bildirilmiştir. IC_{50} değerleri sırasıyla $495,40 \mu\text{g/mL}$, $386,80 \mu\text{g/mL}$, $441,14 \mu\text{g/mL}$, $195,06 \mu\text{g/mL}$, $1239,44 \mu\text{g/mL}$ ve $324,19 \mu\text{g/mL}$ olarak verilmiştir [166]. Ayva çekirdeği (IC_{50} değeri $386,75 \pm 9,27 \mu\text{g/mL}$) ekstraktı 'Napoleon' enzim inhibisyon değeri ile benzer etki gösterirken, 'Hasan Kazak', '0-900 Ziraat' ve 'Churcill' den daha yüksek ve 'Lambert' ile 'Karakiraz'dan daha düşük inhibitör etki göstermiştir. Mürdüm eriği kabuk ekstraktı da (IC_{50} değeri $217,71 \pm 18,79 \mu\text{g/mL}$) 'Lambert' den daha düşük inhibitör etki gösterirken diğer kiraz çeşitlerinden yüksek inhibitör etkiye sahiptir. Ayrıca diğer 9 ekstrakt tüm kiraz çeşitlerinden yüksek inhibitör etki göstermektedir.

Renk ölçümü, gıdaların hasat edilmesi, işlenmesi ve muhafaza edilmesi sırasında yapılan ve gıda endüstrisi için önemli bir testtir [167]. Ölçümler XYZ, RGB ve L^* , a^* , b^* şeklinde belirlenir. L^* , 0 ile 100 arasında değişirken parlaklık veya açıklık bileşenidir. İki kromatik bileşen olan a^* (yeşilden kırmızıya) ve b^* (maviden sarıya) parametreleri -120 ile 120 arasında değişir [168].

Ekstraktların sudaki çözeltilerinin starking elma dilimlerine daldırma yöntemi ile uygulanmasında en iyi L^* değerine (Tablo 4.2.) kocayemiş meyvesi ($68,32 \pm 1,75$) sahipken en düşük değere de mürdüm eriği kabuğu ve ayva çekirdeği ekstraktı (sırasıyla, $61,85 \pm 2,11$ ve $62,42 \pm 2,91$) sahiptir. Kocayemiş meyvesini takiben en iyi sonucu kocayemiş yaprağı ekstraktı da ($67,60 \pm 1,22$) iyi sonuç vermiştir. Kocayemiş

meyvesi, kocayemiş yaprağı, mürdüm eriği kabuğu ve ayva çekirdeği ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $2,29 \pm 1,58$, $2,30 \pm 1,46$, $9,55 \pm 2,23$ ve $8,37 \pm 3,20$ olarak belirlenmiştir.

Ekstraktların sulu çözeltileri püskürtme yöntemi ile uygulandığında ise en iyi L^* değerine (Tablo 4.3.) kocayemiş yaprağı ($67,37 \pm 4,95$) takiben kocayemiş meyvesi ($65,74 \pm 2,33$) ekstraktı sahipken en düşük değere de mürdüm eriği kabuğu ($57,04 \pm 4,91$) ve kuşburnu meyvesi ($57,72 \pm 3,88$) ekstraktları sahiptir. Kocayemiş yaprağı, kocayemiş meyvesi, mürdüm eriği kabuğu ve kuşburnu meyvesinin ΔE değerleri sırayla $7,56 \pm 4,87$, $9,69 \pm 2,77$, $17,54 \pm 5,04$ ve $17,17 \pm 3,51$ olarak belirlenmiştir.

Ekstraktların sudaki çözeltilerinin starking elma dilimlerine daldırma ve püskürtme yöntemi ile uygulanması sonucu elde edilen değerler karşılaştırıldığı zaman daldırma yönteminin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Bu yöntemin uygulanabilirliğini belirleyebilmek için farklı zaman dilimleri çalışılarak genişletilmiştir.

Ekstraktların sudaki çözeltilerinin starking elma dilimlerine daldırma yöntemi ile farklı zaman dilimlerinde belirlenen renk ölçüm verilerine göre (Tablo 4.4.) 5 dakika sonunda en iyi L^* değerine kocayemiş yaprağı ($77,53 \pm 0,99$) sahipken en düşük değere de ayva çekirdeği ekstraktı ($71,69 \pm 1,59$) sahiptir. Kocayemiş yaprağı ve ayva çekirdeği ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $2,59 \pm 0,50$ ve $11,55 \pm 2,44$ olarak belirlenmiştir. 15 dakika sonunda en iyi L^* değerine kocayemiş yaprağı ($76,45 \pm 1,75$) sahipken en düşük değere de mürdüm eriği kabuğu ekstraktı ($69,44 \pm 2,49$) sahiptir. Kocayemiş yaprağı ve mürdüm eriği kabuğu ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $3,35 \pm 1,40$ ve $14,15 \pm 4,14$ olarak belirlenmiştir. 30 dakika sonunda en iyi L^* değerine kocayemiş yaprağı ($75,27 \pm 1,82$) sahipken en düşük değere de ayva çekirdeği ekstraktı ($66,33 \pm 2,61$) sahiptir. Kocayemiş yaprağı ve ayva çekirdeği ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $5,22 \pm 2,00$ ve $18,99 \pm 3,16$ olarak belirlenmiştir. 60 dakika sonunda en iyi L^* değerine kocayemiş yaprağı ($75,21 \pm 0,79$) sahipken en düşük değere de ayva çekirdeği ekstraktı ($66,87 \pm 1,65$) sahiptir. Kocayemiş yaprağı ve ayva çekirdeği ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $5,48 \pm 0,92$ ve $19,12 \pm 2,03$ olarak

belirlenmiştir. 120 dakika sonunda en iyi L^* değerine kocayemiş meyvesi ($76,36 \pm 1,09$) sahipken en düşük değere de ayva çekirdeği ekstraktı ($65,92 \pm 2,93$) sahiptir. Kocayemiş meyvesi ve ayva çekirdeği ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $4,64 \pm 0,64$ ve $20,76 \pm 2,68$ olarak belirlenmiştir. 180 dakika sonunda en iyi L^* değerine kocayemiş meyvesi ($73,78 \pm 3,36$) sahipken en düşük değere de ayva çekirdeği ekstraktı ($64,96 \pm 0,97$) sahiptir. Kocayemiş meyvesi ve ayva çekirdeği ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $7,36 \pm 3,57$ ve $21,52 \pm 1,08$ olarak belirlenmiştir. 240 dakika sonunda en iyi L^* değerine kocayemiş yaprağı ($72,80 \pm 2,24$) ve kocayemiş meyvesi ($72,86 \pm 2,13$) ve elma posası ($72,09 \pm 1,83$) sahipken en düşük değere de ayva çekirdeği ekstraktı ($65,65 \pm 1,42$) sahiptir. Kocayemiş meyvesi, kocayemiş yaprağı, elma posası ve ayva çekirdeği ekstratlarının ΔE değerleri sırayla $8,00 \pm 1,37$, $7,18 \pm 1,27$, $9,47 \pm 2,87$ ve $21,70 \pm 1,19$ olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmaların sonunda elde edilen tüm ekstraktların polifenol oksidaz enzimini inhibe ederek elma dilimlerinde enzimatik esmerleşmeye engel olduğu görülmüştür. En iyi etkiyi gösteren ekstraktlar kocayemiş yaprağı, kocayemiş meyvesi ve elma posasıdır. Ayva yaprağı, ayva kabuğu, pirina ve siyah havuç posası ekstraktları askorbik asitten daha iyi etki gösterir iken kuşburnu, nar atığı ve mürdüm eriği kabuğu askorbik asit ile benzer etki göstermektedir.

Bu tez çalışmasında kullanılan materyaller arasında en yüksek toplam fenolik madde içeriği kocayemiş yaprağında tespit edilmiştir. Ayrıca DPPH ve ABTS gibi antioksidan özelliği en yüksek materyak kocayemiş yaprağı olarak belirlenmiştir.

Bu sonuçlar çerçevesinde kocayemiş yaprağından elde edilen ekstraktın sitotoksikite, *in vivo* hücre çalışmaları ve canlı hücreler üzerindeki etkileri incelenerek, tüketilmesi durumunda insan sağlığına herhangi bir olumsuz etkisi olup olmadığı araştırılabilir. Ayrıca bu ekstrakt yüksek antioksidan özelliğinden dolayı antikanser etkiye sahip olabileceği düşünülebilir ve bu doğrultuda da çeşitli kanserli hücre üzerine etkilerinin inceleneceği çalışmalar yapılabilir.

Kocayemiş yaprağı aynı zamanda yüksek polifenoloksidaz enzim inhibitör özelliği gösterirken buna paralel olarak enzimatik esmerleşmeye karşı en iyi etkiye sahip

olduğu görölmüştür. Kocayemiş yaprak ekstraktlarının enzimatik esmerleşmeye karşı gösterdiği bu etkiden dolayı koruyucu gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliğide ileri çalışmalar ile tespit edilebilir.



KAYNAKÇA

- [1] Pisoschi, A.M., Pop A., The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *Eur J Med Chem.*, 97: 55–74, 2015.
- [2] Lozynskyi, A. Zsidko, V., Synthesis, antioxidant and antimicrobial activities of novel thiopyrano[2,3-d]thiazoles based on aroylacrylic acids. *Mol Divers.*, 21: 427–436, 2017.
- [3] Mason, R.P., Imaging free radicals in organelles, cells, tissue, and in vivo with immuno-spin trapping. *Redox Biol.*, 8: 422–429, 2016
- [4] Trinity, J.D., Broxterman, R.M., Richardson, R.S., Regulation of exercise blood flow: role of free radicals. *Free Radic Biol Med.*, 98: 90–102, 2016.
- [5] Razzaq, H., Saira, F., Interaction of gold nanoparticles with free radicals and their role in enhancing the scavenging activity of ascorbic acid. *J Photochem Photobiol., B* 161: 266–272, 2016.
- [6] Si, W., Chen, Y.P., Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. *Food Chem.*, 239: 1117–1125, 2018.
- [7] Bentz, E.N., Pomilio, A.B., Lobayan, R.M., Donor-acceptor interactions as descriptors of the free radical scavenging ability of flavans and catechin. *Comput Theor Chem.*, 1110: 14–24, 2017.
- [8] Komeri, R., Thankam, F.G., Muthu, J., Free radical scavenging injectable hydrogels for regenerative therapy. *Mater Sci Eng C-Mater.*, 71: 100–110, 2017.
- [9] Sridharan, M., Prasad, K.J.R., Application of UV-Vis spectrophotometric process for the assessment of indoloacridines as free radical scavenger. *J Photochem Photobiol.*, 162: 641–645, 2016.
- [10] Sivaguru, P., Parameswaran, K., Lalitha, A., Antioxidant, anticancer and electrochemical redox properties of new bis(2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one) derivatives. *Mol Divers.*, 21: 611–620, 2017.

- [11] Sezgin, C.A., Meyve, Sebze ve Sağlığımız (Fruit, Vegetable and our Health), J Tour Gastronomy Stud., 2(2): 46–51, 2014.
- [12] Seraglio, T.K.S., Schulz, M., Nehring, P., Betta, D.F., Valese, C.A., Daguer, H., Gonzaga, V.L., Fett, R., Costa, O.C.A., Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. Food Chem., 239: 649–656, 2018.
- [13] Kiralp, S., Synthesis of conducting block copolymers and their use in the immobilization of invertase and polyphenol oxidase enzyme. Dissertation, Middle East Technical University, Turkey, 2004.
- [14] Bao, H., Biocatalysis of tyrosinase in organic solvent media using phenolic substrate models. A Thesis submitted to the Faculty of Graduate Studies and Research in partial fulfillment of the requirements of the degree of Master of Science. Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University Montreal, Quebec, Canada, 1999.
- [15] Madand, W., Characterization of a polyphenol esterase from aspergillus niher and its role in the Inhibition of tyrosinase. Dissertation, McGill University, Canada, 2000.
- [16] Kılınç, K., Kılınç, A., Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi, 33(2): 110-118, 2002.
- [17] Halliwell, B., Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). Free Radic Res., 31(4): 261-272, 1999.
- [18] Valko, M. Leibfritz, D. Moncola, J., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol., 39: 44-84, 2007.
- [19] Şen, M., Üvez meyvelerinin antioksidan aktivitesi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2011.
- [20] Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition. 18(10): 872-879, 2002.
- [21] Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huyc, C., Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. Int J Biomed Sci., 4(2), 89-96, 2008.
- [22] Berlett, B.S., Stadtman, E.R., Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. J. Biol. Chem., 272: 20313-20316, 1997.

- [23] Konukoğlu, D., Free Radicals and Their Roles. Aile Hekimliği Dergisi, 1(4): 197-200, 1997.
- [24] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford Science Publications, 978-0198500452, 2001.
- [25] Floyd, R.A., Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. Faseb J., 4: 2587-97, 1990.
- [26] İşlekel, S., İşlekel, H., Güner, G., Özdamar, N., Evaluation of lipid peroxidation, cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia-reperfusion. Brain Res., 843, 18-24, 1999.
- [27] Slater, T.F., Free radical mechanism in tissue injury. Biochem J., 222: 1-15, 1984.
- [28] Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. J Assoc Physicians India., 52: 794-804, 2004.
- [29] Solomons, T.W.G. ve Fryhle, C., Organic chemistry. 7. Basımdan çeviri, Litaratür yayınları, 429-460.
- [30] Balcı, M., Reaksiyon mekanizmaları. 2. Baskı, Tüba yayınevi, 352-369.
- [31] Huang, D., Ou, B., ve Prior, R.L., The chemistry behind antioxidant capacity assays. J. Agric. Food Chem., 53, 1841-1856, 2005.
- [32] Kaur, C., Kapoor, H.C., Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. Int. J. Food Sci. Technol., 36(7): 703–725, 2001.
- [33] Nacak, F. M., Elektrokimyasal Yöntemlerle Antioksidan Kapasite Tayini ve Klasik Yöntemlerle Karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2014.
- [34] Rice-evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Sci., 2: 152-159, 1997.
- [35] Karademir, S.E., Bazı Polifenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2005.

- [36] Temür, N., Çam, kavak, söğüt ve armut ağaçları üzerinde yetişen ökse otu (*viscumalbum* I.) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tokat, 2006.
- [37] Yeşilkaya, A., Yeğin, A., Ozdem, S., Aksu, T., The effect of bilirubin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cumene hydroperoxidetreated erythrocytes. *Int J Clin Lab Res.*, 28: 230- 234, 1998.
- [38] Janovska, D., Kubikova, K., Kokoska, L., Screening for Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants Species of Traditional Chinese Medicine. *Czech J Food Sci.*, 21: 107-110, 2003.
- [39] Lerlercq, C., Arcella, D., Turrini, A., Estimates of the theoretical maximum daily intake of erythorbic acid, gallates, buthylated hydroxyanisole (BHA) and buthylated hydroxytoluene (BHT) in italy: a stepwise approach. *Food Chem Toxicol.*, 38 (12): 1075-1084, 2000.
- [40] Lanigan, R.S., Yamarik, T.A., Final report on the safety assessment of BHT. *Int J Toxicol.*, 21(2): 19-94, 2002.
- [41] Budavari, S., O'Neill, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E., The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 11. Baskı, USA, 1989.
- [42] Çakmakçı, S., Gökalp, H.Y., Gıdalarda kısaca oksidasyon; antioksidantlar ve gıda sanayiinde kullanımları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2): 174-192, 1992.
- [43] Smolinske, S.C., Parke, D.V., Lewis, D.F, Safety aspects of food preservatives. *Food Addit Contam.*, 9(5): 561-577. 1992.
- [44] Çakmakçı, S., Gökalp, H.Y., Gıdalarda Kısaca Oksidasyon; Antioksidantlar ve Gıda Sanayiinde Kullanımları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23 (2), 174-192, 1992.
- [45] Eken, S., Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2007.
- [46] Ögüt, S., Doğal Antioksidanların Önemi. *Journal of Adnan Menderes University Agricultural Faculty*, 11(1) : 25 – 30, 2014.
- [47] Yazıcı, C., Köse, K., Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13: 56-65, 2004.

- [48] Belgemen, T., Akar, N., Çinkonun Yaşamsal Fonksiyonları ve Çinko Metabolizması ile İlişkili Genler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 57: 161-166, 2004.
- [49] Sengupta, A., Ghosh, S., Das, R.K., Bhattacharjee, S., Bhattacharya, S., Chemopreventive potential of diallylsulfide, lycopene and theaflavin during chemically induced colon carcinogenesis in rat colon through modulation of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase pathways. Eur Jof Cancer Prev., 15:301-305, 2006.
- [50] Carr, A.C., Frei, B., Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. Am J Clin Nutr., 69(6): 1086- 1107, 1999.
- [51] Steinberg, F.M., Chait, A., Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. Am J Clin Nutr., 68: 319-327, 1998.
- [52] Van Haften, R.I., Evelo, C.T., Penders, J., Eijnwachter, M. P., Haenen, GR., Bast, A., Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. Biochim Biophys Acta., 1548: 23-28, 2001.
- [53] Dündar, Y., Aslan, R., Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü. Hayvancılık Araştırma Dergisi, 9(1- 2): 32-39, 1999.
- [54] Erge, H.S., Domateste (*Lycopersicum Esculentum*) Karotenoid Madde Dağılımı ve Antioksidan Aktivite. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 2007.
- [55] Çimen, F., Polat, H., Ekici, L., Polifenollerin Bağırsak Mikrobiyota Kompozisyonunu Düzenleyici ve Nöroprotektif Etkileri. Akademik Gıda 18(2): 190-208, 2020.
- [56] Acar, J., Gökmen, V., Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri, İçinde Gıda Kimyası. Editör Saldamlı, İ. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 557-587, 2014.
- [57] Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M.L., Vigna-Pérez, M., Hernández-Pérez, T., Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life – A review. Plant Foods Hum Nutr., 65: 299–308, 2010.
- [58] Kolaç, T., Gürbüz, P., Yetiş, G., Phenolic content and antioxidant characteristics of natural products. İ.Ü. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, Cilt 5, Sayı 1, 2017.

- [59] Cheng , J.C., Dai, F., Zhou, B., Yang, L., Liu, Z.L., Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure-activity relationship. *Food Chem.*, 104-132, 2007.
- [60] Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.*, 99: 191–203, 2006.
- [61] Norn, S., Permin, H., Kruse, P.R., Kruse, E., From willow bark to acetylsalicylic acid. *Dan Medicinhist Arbog.*, 37:79-98, 2009.
- [62] Espin, J.C., Garcia-Conesa, M.T., Tomas-Barberan, F.A., Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochem.*, 68:22-24, 2986-3008, 2007.
- [63] Silvina-Lotito, B., Frei, B., Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomen?. *Free Radic Biol Med.*, 41: 1727-1746, 2006.
- [64] Coran, S.A., Giannellini, V. ve Bambagiotti-Alberti, M., A novel monitoring approach for mammalian lignan precursors in flaxseed. *Pharm Pharmacol Commun.*, 2 (11): 529-532, 1996.
- [65] Milder, I.E.U., Arts, I.C.W, Venema, D.P., Lasaroms, J.J.P., Wahala, K., Hollman, P.C.H., Optimization of a Liquid Chromatography-Tandem Mass 194 Spectrometry Method for Quantification of the Plant Lignans Secoisolariciresinol, Matariresinol, Lariciresinol and Pinoresinol. *J Agric Food Chem.*, 52; 4643-4651, 2004.
- [66] Heinonen, S., Nurmi, T., Luikkonen, K., Poutanen, K., Wahala, K., Deyama, T., Nishibe, S., Adlercreutz, H., In vitro metabolism of plant lignans: a new precursors of mammalian lignans enterolactone and enterodiol. *J Agric Food Chem.*, 49: 3178-3186, 2001.
- [67] Haslam, E., *Plant Polyphenols, Vegetable Tannins Revisited*. Cambridge University Press, Cambridge, 1989.
- [68] Naczsk, M., Shahidi, F., Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr.*, 1054: 95–111, 2004.
- [69] Xie, D.Y., Dixon, R.A., Proanthocyanidin biosynthesis still more questions than answers. *Phytochem.*, 66 (18): 2127-2144, 2005.
- [70] Khanbabaei, K., Van Ree, T., Tannins: classification and definition. *Nat. Prod. Rep.*, 18: 641-649, 2001.

- [71] Joshi, S.S., Kuszynski, C.A., Bagchi, M., Bagchi, D., Chemopreventive effects of grape seed proanthocyanidins extract on Chang liver cells. *Toxicology.*, 155; 83-90, 2000.
- [72] Altıok, E., Production of proanthocyanidins from grape seeds. Ege Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2003.
- [73] Puech, J., Feuillat, F., Mosedale, J.R., The tannins of Oak Heartwood: Structure, Properties, and Their Influence on Wine Flavor. *Am J Enol Vitic.*, 50(4): 469-478, 1999.
- [74] Lakhanpal, P., Rai, D.K., Quercetin: A versatile flavonoid, *Internet J Medical Up.*, 2(2), 2007.
- [75] Kahraman, A., Serteser, M., Koken, T., Flavonoids. *Medical J Kocatepe, Afyon Kocatepe Üniversitesi*, 3: 01-08, 2002.
- [76] Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med.*, 22: 749-760, 1997.
- [77] Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B., Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Trop J Pharm Res.*, 7(3): 1089-1099, 2008.
- [78] Cemeroğlu, B., Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. 1. Cilt, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları. Ankara, 77-88, 2004.
- [79] Iwashina, T., The structure and distribution of the flavonoids in plants. *J Plant Res.*, 113: 287-299, 2000.
- [80] Rice-evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med.*, 20: 933-956, 1996.
- [81] Çabaş, B., Bazı Flavon Türevlerinin Enzim Katalizli Sentezi ve Aktivitelerinin Araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, 2017.
- [82] Büyüktuncer, Z., Başaran, A.A., Fitoöstrojenler ve sağlıklı yaşamdaki önemleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 25: 79-94, 2005.
- [83] Keleş, Y., Antosiyanin pigmentlerin biyokimyası ve analizi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 8 (1): 19-25, 2015.

- [84] Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., Zizovic, I., Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Cacanska Bestrna". *Ind Crops Prod.*, 53: 274- 281, 2014.
- [85] Ghosh, D., Konishi, T., Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pac J Clin Nut.*, 16(2): 200, 2007.
- [86] Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill. M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J Agric Food Chem.*, 50(11): 3122-3128, 2002.
- [87] Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Ozyürek M., Celik S.E., Bektaşoğlu B., Berker K.I., Ozyurt, D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7): 1496-1547, 2007.
- [88] Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 4290- 4302, 2005.
- [89] Lemanska, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Zielinski, R., Soffers, A.E.M.F., Rietjens, I.M.C.M., The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radic Bio Med.*, 31:869-81, 2001.
- [90] Van den Berg, R., Haenen, G.R.M.M., Van den Berg, H., Bast, A., Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.*, 66: 511-517, 1999.
- [91] Albayrak S., Sağdıç O., Aksoy A., Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 26(4):401-409, 2010.
- [92] Özçelik, B., Lee, J.H., Min, D.B., Effects of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *J Food Sci.*, 68(2): 487-490, 2003.
- [93] Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol.*, 26(2), 211- 219, 2004.

- [94] MacDonald-Wicks L.K., Wood L.G., Garg M.L., Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. J Sci Food Agric., 86: 2046–2056, 2006.
- [95] Önez, Z., Üzümden (*vitis vinifera* l.) izole edilen polifenol oksidaz enziminin özelliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2006.
- [96] Zıyan, E., Polifenol oksidaz enziminin Ankara armudu (*pyruscommunis*)’ndan izole edilmesi, saflastırılması ve kinetik özelliklerinin incelenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 1998.
- [97] Iqbal, A., Murtaza, A., Muhammad, Z., Elkhedir, E.A., Tao M., Xu, X., Inactivation, Aggregation and Conformational Changes of Polyphenol Oxidase from Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Juice Subjected to Thermal and High-Pressure Carbon Dioxide Treatment. Molecules, 23: 1743, 2018.
- [98] Köse, H., Polifenol oksidaz enziminin farklı maddelerle immobilizasyonu ve bazı özelliklerinin incelenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, 2010.
- [99] Partington, J., Bolwel, P., Purification of polyphenol oxidase free of the storage protein patatin from potato tuber. Phytochem., 6: 1499-1502, 1996.
- [100] Epsın, JC., Morales, M., Varon, R., Tudela, J., Canovas, F.G., Monophenolase activity of polyphenol oxidase from verdedoncella apple. J. Agric. Food Chem., 43: 2807-2812, 1995.
- [101] Nawaz, A., Shafi, T., Khaliq, A., Mukhtar, H., Haq, I., Tyrosinase: Sources, Structure and Applications, Inter J Biotechnol Bioeng., 135-41, 2017.
- [102] Khan, M.T.H., Molecular design of tyrosinase inhibitors: A critical review of promising novel inhibitors from synthetic origins. Pure Appl Chem., 79(12): 2277-95, 2007.
- [103] Queiroz, C., Lopes, M.L.M., Fialho, E., Valente-Mesquita, L.V., Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. Food Rev. Int., 1525-6103 (Online), 2008.
- [104] Özel, A., Boletus erythropus mantarından polifenol oksidaz enziminin saflastırılması, karakterizasyonu ve sentetik kimyada katalitik etkinliğinin incelenmesi. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 2008.

- [105] Burdurlu, H.S., Karadeniz, F. Gıdalarda maillard reaksiyonu J Food., 27 (2): 77-83, 2002.
- [106] Bolin, H.R., Steele, R.J., Nonenzymatic Browning in Dried Apples During Storage. J Food Sci., 52(69): 1654-1657, 1987.
- [107] Karadeniz, T., Şişman, T., Giresun’da yetiştirilen bir kocayemiş (*Arbutus unedo L.*) tipinin bitkisel özellikleri. Alatarım, 3 (1): 43-45. 2004.
- [108] Orak, H.H., Aktas T., Yagar H., Isbilir S.S., Ekinci N., Sahin H.F. Antioxidant activity, some nutritional and colour properties of vacuum dried strawberry tree (*Arbutus Unedo L.*) fruit. Acta Scientiarum Polonorum, Technol Aliment., 10(3), 327-338, 2021.
- [109] Oliveira, I., Baptista P., Bento A., Pereira A.J., *Arbutus unedo L.* and its benefits on human health. J Food Nutr. Res., Vol. 50,73–85, 2011.
- [110] Miguel, G. M., Faleiro M.L. , Guerreiro A.C., Antunes M. D., *Arbutus unedo L.*: chemical and biological properties. Molecules, 19: 15799-15823, 2014.
- [111] Leonti, M., Casu, L., Sanna, F., Bonsignore, L., A comparison of medicinal plant use in Sardinia and Sicily, De Materia Medica revisited. J Ethnopharmacol., 121: 255–267, 2009.
- [112] Salema Ben I., Ouesletib S., Mabrouka Y., Landolsic A., Saidia M., Exploring the nutraceutical potential and biological activities of *Arbutus unedo L.* (Ericaceae) fruits. Indust Crop Prod., 2018.
- [113] Gaspar, E., Chaves das Neves, J.H., Noronha, P.J., Application of HPLC-PBMS to the Identification of Unknown Components in a Triterpenoid Fraction of *Arbutus unedo* Fruits. J High Resolut Chromatogr., 20: 417-420, 1997.
- [114] Fortalezas, S., Tavares, L., Pimpao, R., Tyagi, M., Pontes, V., Alves, P.M., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, R.B., Santos, C.N., Antioxidant properties and neuroprotective capacity of strawberry tree fruit (*Arbutus unedo*). Nutrients, 2: 214–229, 2010.
- [115] Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J.C., del Castillo, M.D., Cano, M.P., de Pascual-Teresa, S., Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo L.*) fruits. J Food Compos Anal., 21: 273–281, 2008.
- [116] Males, Z., Plazibat, M., Vundac, V.B., Zunta, I., Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree, *Arbutus unedo L.* (Ericaceae). Acta Pharm., 56: 245–250, 2006.

- [117] Carcache-Blanco, E.J., Cuendet, M., Park, E.J., Su, B.N., Rivero-Cruz, J.F., Farnsworth, N.R., Pezzuto, J.M., Kinghorn, D.A., Potential cancer chemopreventive agents from *Arbutus unedo*. Nat Prod Res., 20: 327–334, 2006.
- [118] Fiorentino, A., Castaldi, S., D'Abrosca, B., Natale, A., Carfora, A., Messere, A., Monaco, P., Polyphenols from the hydroalcoholic extract of *Arbutus unedo* living in a monospecific Mediterranean woodland. Biochem Syst Ecol., 35: 809–811, 2007.
- [119] Ercişli, S., Güleriyuz M., Esitken, A., Oltu ilçesinde yetiştirilen ayva çeşitlerinin meyve özellikleri üzerinde bir araştırma. Anadolu Dergisi, 9: 32, 1999.
- [120] Oliveira A.P., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Seabra R.M., Silva B.M., Organic acids composition of *Cydonia oblonga* Miller leaf. Food Chem., 111:393–399, 2008.
- [121] Oliveria, A.P., Pereira, J.A., Andrade, P.B., Valentao, P., Seabra, R.M., Silva, B.M., Phenolic Profile of *Cydonia oblonga* Miller Leaves. J Agric Food Chem., 55: 7926, 2007.
- [122] Silva, B.M., Andrade, P.B., Valentão, P., Ferreres, F., Seabra, R.M., Ferreira, M.A., Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. J Agric Food Chem., 52(15): 4705-4712, 2004.
- [123] Silva, B.M., Andrade, P.B., Ferreres, F., Seabra, R.M., Beatriz, M., Oliveira, P.P., Ferreira, M.A., Composition Of Quince (*Cydonia Oblonga* Miller) Seeds: Phenolics, Organic Acids And Free Amino Acids. Nat. Prod Res., 19;3, 275–281, 2005.
- [124] Costa, R.M., Magalhães, A.S., Pereira, J.A., Andrade, P.B., Valentão, P., Carvalho, M., Silva, B.M., Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: a comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). Food Chem Toxicol., 47: 860, 2009.
- [125] Fawole, O.A., Opara, U.L., Effects of maturity status on biochemical concentration, polyphenol composition and antioxidant capacity of pomegranate fruit arils (cv. Bhagwa). S Afr J Bot., 85: 23–31, 2013.
- [126] Arun, N., Singh, D.P. Punica granatum: a review on pharmacological and therapeutic properties. Inte J Pharm Sci Res., 3(5): 1240, 2012.

- [127] Puglia, D., Garrigós, C.M., Anthocyanin Hybrid Nanopigments from Pomegranate Waste: Colour, Thermomechanical Stability and Environmental Impact of Polyester-Based Bionanocomposites. *Polymers*, 13: 1966, 2021.
- [128] Mphahlele, R.R., Fawole, O.A., Mokwena L.M., Opara Linus U., Effect of extraction method on chemical, volatile composition and antioxidant properties of pomegranate juice. *S Afr J Bot.*, 103: 135–144, 2016.
- [129] Yoshimura, M., Watanabe, Y., Kasai, K., Yamakoshi, J., Koga T., Inhibitory Effect of an Ellagic Acid-Rich Pomegranate Extract on Tyrosinase Activity and Ultraviolet-Induced Pigmentation. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 69 (12): 2368–2373, 2005.
- [130] Charalampia, D. Koutelidakis, A., From Pomegranate Processing By-Products to Innovative value added Functional Ingredients and Bio-Based Products with Several Applications in Food Sector, *BAOJ Biotech.*, 3: 210, 2017.
- [131] Dikmen, M., Ozturk N., Ozturk, Y., The antioxidant potency of *Punica granatum L.* fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer. *J Med Food.*, 14 (12): 1638-1646, 2011.
- [132] Ismail, T. Sestili P., Akhtar S., Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *J Ethnopharmacol.*, 143: 397-405, 2012.
- [133] Fourati, M., Smaoui, S., Hlima, B. H., Elhadeif, K., Braïek, B.O., Ennouri, K., Mtibaa, C.A., Mellouli L., Bioactive Compounds and Pharmacological Potential of Pomegranate (*Punica granatum*) Seeds - A Review. *Plant Foods Hum Nutr.*, 75:477–486, 2020.
- [134] Capasso, R., Cristinzio, G., Evidente, A., Scognamiglio, F., Isolation, Spectroscopy and Selective Phytotoxic Effects of Polyphenols from Vegetable Waste-Waters. *Phytochem.*, 31(12): 4125-4128, 1992.
- [135] Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., Michaud P., Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies, *Process Biochem.*, 48: 1532–1552, 2013.
- [136] Moral, P.S., Méndez, V.R., Production of pomace olive oil. *Grasas Y Aceites*, 57 (1): 47-55, 2006.
- [137] Kurtuluş, E., Prinanın Bir Yakıt Olarak Kullanımı ve Eldesi. *Yeni ve Yenilenebilir Enerji Kaynakları Sempozyumu*, Kayseri, 105-108, 2003.

- [138] Goldsmith, C.D., Vuong, Q.V., Stathopoulos, C.E., Roach, P.D., Scarlett, C.J., The fate of phenolic compounds during olive oil production with the traditional press method. *Int Food Res J.*, 21(1): 101-109, 2014.
- [139] Aliakbariana, B., Palmierib, D., Casazzaa Alberto, A, Palombob, D. ve Perego P., Antioxidant activity and biological evaluation of olive pomace extract. *Nat Prod Res. Formerly, Natural Product Letters*, 1478-6419, 2012.
- [140] Lafka, T.I., Lazou, A.E., Sinanoglou V.J., Lazos E.S., Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. *Food Chem.*, 125(1): 92-98, 2011.
- [141] Obied, H.K., Bedgood, D.R., Prenzler, P.D., Robards K., Chemical screening of olive biophenol extracts by hyphenated liquid chromatography. *Anal Chim Acta.*, 603: 176–189, 2007.
- [142] Ahmad, T., Cawood, M., Iqbal, Q., Ariño, A., Batool, A., Sabir Tariq, R.M., Azam, M., Akhtar, S., Phytochemicals in daucus carota and their health benefits-Review article. *Foods*, 8: 424, 2019.
- [143] Espinosa-Acosta, G., Ramos-Jacques, A.L., Molina, G.A., Maya-Cornejo, J., Esparza, R., Hernandez-Martinez, A.R., Sánchez- González, I., Estevez, M., Stability analysis of anthocyanins using alcoholic extracts from black carrot (*Daucus carota* ssp. *Sativus* var. *Atrorubens* alef.). *Molecules*, 23: 2744, 2018.
- [144] Pereira-Caro, G., Ordóñez-Díaz, J.L., de Santiago, E., Moreno-Ortega, A., Cáceres-Jiménez, S., Sánchez-Parra, M., Roldán-Guerra, F.J., Ortiz-Somovilla, V., Moreno-Rojas, J.M., Antioxidant Activity and Bio-Accessibility of Polyphenols in Black Carrot (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *Atrorubens* Alef.) and Two Derived Products during Simulated Gastrointestinal Digestion and Colonic Fermentation. *Foods*, 10: 457, 2021.
- [145] Yıldız, D., Çağındı, Ö., Güneş ve Mikrodalga ile Kurutmanın Mürdüm Eriğinin (*Prunus domestica* subsp. *Insititia*) Fiziksel Kalitesi Üzerine Etkisi, *Akademik Gıda* 20(1): 40-53, 2022.
- [146] Mousavi , M., Zaiter , A., Modarressi , A., Baudelaire , E., Dicko, A., The positive impact of a new parting process on antioxidant activity, malic acid and phenolic content of *Prunus avium* L., *Prunus persica* L. and *Prunus domestica* subsp. *Insititia* L. powders. *Microchem J.*, 149: 103962, 2019.

- [147] Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Traditional medicine in Turkey VI. folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kutahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. J Ethnopharmacol., 53:75-87, 1996.
- [148] Fujita, T., Sezik, E., Tabata, M., Yeşilada, E., Honda G, Takeda, Y., Traditional medicine in Turkey VII. folk medicine in middle and west black sea regions. Soci Econ Bot., 49: 406-22, 1995.
- [149] Bruun, H.H., *Rosa rugosa* Thunb. Ex Murray. J Ecol., 93: 441-470, 2005.
- [150] Karakaya, S., El, S.N., Quercetin, luteolin, apigenin and kaempferol contents of some foods. Food Chem., 66: 289- 92, 1999.
- [151] Özbek, S., Özel meyvecilik kitabı, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 128, Ders Kitabı. 11. A.Ü. Basımevi. Ankara, 486, 1978.
- [152] Boyer, J., Liu, R.H., Apple phytochemicals and their health benefits. Nutr J., 3: 1-15, 2004.
- [153] Drogoudi, D.P., Michailidis, Z., Pantelidis, G., Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. Sci Hortic., 115: 149 – 153, 2008.
- [154] Candrawinata, V.I, Golding, J.B, Roach, P.D, Stathopoulou, C.E., Optimisation of the phenolic content and antioxidant activity of apple pomace aqueous extracts. CyTA - J Food, 13 (2): 293-299, 2015.
- [155] Yan, H, Kerr, W.L., Total Phenolics Content, Anthocyanins, and Dietary Fiber Content of Apple Pomace Powders Produced by Vacuum-Belt Drying. J Sci Food Agric., 93: 1499-1504, 2013.
- [156] Yu, X., Van de voort, F.R., Li, Z., Yue ,T., Proximate Composition of the Apple Seed and Characterization of Its Oil. Int J Food Eng., 3 (5): 1-8, 2007.
- [157] Uysal, S., Zengin, G., Aktumsek, A., Chemical and biological approaches on nine fruit tree leaves collected from the Mediterranean region of Turkey. J Funct Foods., 22:518–532, 2016.
- [158] Bulut, M., Akpolat, H., Tuncturk, Y., Determination of optimum ethanolic extraction conditions and phenolic profiles of thyme, mint, uckun, grape seeds and green tea waste fiber. Int J Agric Wildlife Sci., 6:605–614, 2020.

- [159] Tüysüz, B., Çakır, Ö., Dertli, E., Determination of Antioxidant Capacity, Total Phenolic Content and Phenolic Acid Profiles of Some Wild Fruit. *Eur J Sci Technol.*, 21: 191-197, 2021.
- [160] Kirca, A., Arslan, E., Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *Int J Food Sci Technol.*, 43: 2038–2046, 2008.
- [161] Gozlekci, S., Saracoglu, O., Onursal, E., Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars. *Pharmacogn Mag.*, 7(26):161–164, 2011.
- [162] Kupe, M., Karatas, N., Unal, M.S., Phenolic composition and antioxidant activity of peel, pulp and seed extracts of different clones of the Turkish grape cultivar ‘Karaerik. *Plants*, 10(2154):1–15, 2021.
- [163] Sönmez, F., Güneşli, Z., Demir, T., The effect of total anthocyanins extracted from sweet cherry cultivars on carbonic anhydrases and antioxidant activity. *Erwerbs-Obstbau* 64:145–153, 2022.
- [164] Turan, S., Yıldırım, R., Süyünç, G., Köroğlu, G. D., Antioxidant Potential of Some Fruit Extracts Prepared with Different Solvents. *J Inst Sci Technol.*, 11(2): 1127-1139, 2021.
- [165] Gazioğlu, I., Kurt, B.Z., Sevgi, E., Sonmez, F., Anticholinesterase, antioxidant, antiaflatoxigenic activities of ten edible wild plants from Ordu area, Türkiye. *Iran J Pharm Res.*, 17:1047–1056, 2018.
- [166] Demir, T., Sonmez, F., Bilen, C., Gencer, N., Extraction and biological activity of total anthocyanins from sweet cherry cultivars as polyphenol oxidase inhibitors. *J Food Agric Environ.*, 11:572–575, 2013.
- [167] Wu, D., Sun, D.W., Colour measurements by computer vision for food quality control—A review. *Trends Food Sci Technol.*, 29:5–20, 2013.
- [168] Yam, K.L., Papadakis, S., A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *J Food Eng.*, 61:137–142, 2004.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zuhall ŞAHİN

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Doktora	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya / Organik kimya	2018-Devam ediyor
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya / Organik kimya	2012-2015
Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen-Edebiyat Fakültesi / Kimya	2009-2012
Önlisans	Sakarya Üniversitesi / Pamukova Meslek Yüksekokulu / Gıda Teknolojisi	2007-2009
Lise	Süleyman Nazif Anadolu Lisesi	2006

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2020-Halen	Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi	Öğretim Görevlisi
2017-2020	Sakarya Üniversitesi	Uzman

YABANCI DİL

İngilizce

PROJE

- Güneşli Z.**, Sönmez, F., 2014. İmin Grubu İçeren Yeni Isatin Türevlerinin Sentezi. Sakarya Üniversitesi FBYTEZ Projesi, Proje No: 2014-50-01-036, Araştırmacı.
- Güneşli Z.**, Demir T., Beyhan Ö., 2017. Sakarya Bölgesinde Antioksidan İçeriği Yüksek Sofralık Feijoa (*Acca Sellowiana Berg*) Genotiplerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. Sakarya Üniversitesi Araştırma Projesi, Araştırmacı.

MAKALE

- Şahin Z.**, Sönmez F., 2022. Comparative Study of Total Phenolic Content, Antioxidant Activities, and Polyphenol Oxidase Enzyme Inhibition of Quince

- Leaf, Peel, and Seed Extracts. Erwerbs-Obstbau, <https://doi.org/10.1007/s10341-022-00696-5>
2. **Güneşli Z.**, Sönmez F., Demir T., Çıkrıkçı K., Ergun A., Gencer N., Arslan O., 2022. The Effect of Total Anthocyanins Extracted From Sweet Cherry Cultivars on Carbonic Anhydrases and Antioxidant Activity. Erwerbs-Obstbau, <https://doi.org/10.1007/s10341-021-00624-z>
 3. **Güneşli Z.**, Demir T., Beyhan Ö., 2020. Sakarya Yöresinde Antioksidan İçeriği Yüksek Sofralık Feijoa (*Accasellowiana* Berg.) Genotiplerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. Bahçe 49 (Özel Sayı 1: II. Uluslararası Tarım Kongresi (UTAK 2019)): 215–222
 4. **Güneşli Z.**, Sönmez F., Zengin Kurt B., Gazioğlu I., Avcı D., Kucukislamoglu M., 2019. Synthesis, antioxidant activity and SAR study of novel spiro-isatin-based Schiff bases. Molecular Diversity, 23:829–844
 5. **Güneşli Z.**, Sönmez F., Demir T., Gencer N., Bilen Ç., Yavuz E., 2015. Inhibition of Carbonic Anhydrase I and II with Total Anthocyanins Extracted from Sweet Cherry Cultivars. Environmental Engineering and Management Journal, 14:4, 935-941

BİLDİRİ

1. **Şahin Z.**, Sönmez F., 2022. Total Phenolic Compounds Extraction From Olive Pomace, Their Antioxidant Activities And Polyphenol Oxidase (PPO) Enzyme Inhibition. II. International Antalya Scientific Research And Innovative Studies Congress, Antalya, 503-507
2. **Şahin Z.**, Sönmez F., 2022. Total Phenolic Content, Antioxidant Activities and Polyphenol Oxidase (PPO) Enzyme Inhibition of Extracts from Pomegranate (*Punica granatum*) Waste. II. International Antalya Scientific Research And Innovative Studies Congress, Antalya, 497-502.
3. **Şahin Z.**, Sönmez F., 2021. Total Phenolic Content, Antioxidant Activities, And Polyphenol Oxidase (Ppo) Enzyme Inhibition Of Total Extracts Of Wild Strawberry (*Arbutus Unedo*) Fruit And Leaf. III. International Agricultural, Biological & Life Science Conference, Edirne, 820-824
4. **Şahin Z.**, Demir T., Beyhan Ö., 2019. Sakarya Yöresinde Antioksidan İçeriği Yüksek Sofralık Feijoa (*Acca sellowiana* Berg.) Genotiplerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. II. Uluslararası Tarım Kongresi
5. **Güneşli Z.**, Sönmez F., Demir T., Ergun A., Gencer N., Arslan O., 2018. The Effect of Karayemis Extracts on Carbonic Anhydrase Enzyme. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences.
6. **Gunesli, Z.**, Sönmez, F., Kurt, B.Z., Gazioğlu, I., Küçükislamoglu, M., 2018. Synthesis of novel Schiff bases as potential antioxidant agents. 2nd International Congress on Advances in BioScience and Biotechnology (ICABB)
7. **Güneşli Z.**, Sönmez F., Demir T., 2017. Antioxidant Activities Of Total Anthocyanins Extracted From SweetCherry Cultivars. III International Conference On Engineering And Natural Sciences (Icens)
8. **Şahin Z.**, Demir T., Beyhan Ö., 2015. Sakarya İli Eşme Ayva Çeşidi Klon Seleksiyonu Ön Çalışmaları. Ulusal Tarım Kongresi
9. **Gunesli, Z.**, Sönmez, F., Kurt, B.Z., Gazioğlu, I., Küçükislamoglu, M., 2015. Yeni İmin Grubu İçeren İsatın Türevlerinin Sentezi ve Antioksidan

Özelliklerinin İncelenmesi. 3. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya.

10. **Gunesli, Z.**, Sönmez, F., Kurt, B.Z., Gazioğlu, I., 2015. Synthesis and Aflatoxin B1 inhibitory activities of novel eugenol derivatives substituted carbamate. 3rd International BAU-Drug Design Congress
11. **Gunesli, Z.**, Sönmez, F., Kurt, B.Z., Gazioğlu, I., Küçükislamoglu, M., 2015. Yeni Kumariltiyazol Türevlerinin Sentezi ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi. 3. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya.
12. **Güneşli Z.**, Sönmez F., Demir T., Gencer N., Bilen Ç., Yavuz E., 2014. Inhibition of carbonic anhydrase I and II with total anthocyanins extracted from sweet cherry cultivars.

